

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CAROLINE MORAES DA CRUZ

**Estudo da biomineralização aplicada a argamassas de construção civil e sua viabilidade  
tecnológica**

---

Pirassununga

2023

CAROLINE MORAES DA CRUZ

**Estudo da biomineralização aplicada a argamassas de construção civil e sua viabilidade  
tecnológica**  
**Versão corrigida**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Materiais.

Área de concentração: Desenvolvimento, caracterização e aplicação de materiais voltados à agroindústria.

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Cristina da Silva Rigo  
Co-orientadora: Profa. Dra. Sylma Carvalho Maestrelli

---

Pirassununga

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo  
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C957e Cruz, Caroline Moraes da  
Estudo da biomineralização aplicada a argamassas de construção civil e sua viabilidade tecnológica / Caroline Moraes da Cruz ; orientadora Eliana Cristina da Silva Rigo ; coorientadora Sylma Carvalho Maestrelli. -- Pirassununga, 2023.  
102 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Concreto. 2. bactérias. 3. biomineralização. 4. quitosana. 5. alginatos. I. Rigo, Eliana Cristina da Silva, orient. II. Maestrelli, Sylma Carvalho, coorient. III. Título.

## RESUMO

CRUZ, C. M. **Estudo da biomineralização aplicada a argamassas de construção civil e sua viabilidade tecnológica**, 2023. 103f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

A vedação de fissuras de argamassa civil por meio de biomineralização é possível a partir da adição de bactérias à formulação, gerando carbonato de cálcio como subproduto de sua atividade metabólica. No entanto, deve-se proteger os esporos adicionados do calor proveniente da reação de hidratação do cimento, bem como da retração durante seu endurecimento, para mantê-los viáveis ao longo do tempo. Tal proteção é realizada por meio do seu encapsulamento e distribuição na matriz. Polímeros superabsorventes (hidrogéis), como o alginato de sódio, são potenciais portadores de bactérias devido à sua resistência durante o processo de mistura e também sua capacidade de armazenar água, servindo como reservatório para as reações ocorridas durante o processo metabólico das bactérias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de encapsulamento de bactérias do tipo *Lysinibacillus sphaericus* em esferas de quitosana e de alginato de sódio, a influência da adição das cápsulas nas propriedades físicas e mecânicas de uma argamassa e a atividade metabólica da bactéria na ocasião de geração de fissuras, de modo a curá-las. Para tal, formulações de argamassa com adição de cápsulas foram calculadas sob medida para manter a distribuição granulométrica da formulação original, sendo obtidos produtos com excelentes propriedades físicas, mecânicas e reológicas, e permitindo a adição de 0,5, 1,0 e 1,5% de cápsulas em relação ao peso total de cimento. Análise de variância multivariada foi aplicada, em cada idade, mostrando efeito significativo da formulação nas propriedades físicas e mecânicas. As formulações com 0,5% e 1,0% de adição de cápsulas e compensação granulométrica mantiveram os níveis de fluidez estatisticamente iguais ao observado para a formulação normal, mostrando que a reologia não é afetada quando a compensação granulométrica é realizada. Ainda, foram obtidas formulações com valores de resistência mecânica até 10% superiores aos observados para a formulação normal. Após a ruptura, foi possível observar a atuação das bactérias liberadas, por meio da formação de estruturas cristalinas na região da fissura. As cápsulas de hidrogéis foram preparadas por meio de métodos simples e baratos, não afetam as propriedades do concreto e se provaram eficazes na preservação das bactérias durante a mistura e endurecimento do concreto, liberando-as para vedação das fissuras conforme necessário.

**Palavras-chave:** Concreto, fissuras, bactérias, biomineralização, hidrogéis.

## ABSTRACT

CRUZ, C. M. **Biom mineralization study applied to construction mortars and its technological viability**, 2023. 103f. PhD Thesis – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2023.

The sealing of cracks in construction mortar through biomineralization is possible by adding bacteria to the formulation, which generate calcium carbonate as a by-product of its metabolic activity. However, spores must be protected from the heat generated by the hydration reactions of cement, as well as the retraction during hardening, in order to keep them viable through time. Such protection is performed by using capsules distributed in the matrix. Superabsorbent polymers (hydrogels), such as chitosan, are potential carriers of bacteria due to their resistance during mixing, as well as their capacity of storing water, serving as a reservoir for the reactions occurring during the bacteria metabolic process. Thus, this work aims to evaluate the potential of encapsulated bacteria *Lysinibacillus sphaericus* in chitosan and in sodium alginate spheres, the influence of capsule addition in physical and mechanical properties of mortars and the metabolic activity of the bacteria in sealing cracks. For such, formulations of mortar with addition of capsules were calculated to keep the granulometric distribution of the original formula, thus obtaining products with excellent physical, mechanical and rheological properties, and allowing the addition of 0.5, 1.0 and 1.5% of capsules in relation to the total weight of cement. Multivariate analysis of variance was applied, in each age, showing significant effect of formulation in both physical and mechanical properties. Formulations with 0.5% and 1.0% capsule addition kept flow levels statistically equal to the observed for original formula, thus showing that rheology is not affected when granulometric compensation is performed. Still, formulations were obtained with mechanical resistance values up to 10% greater than the ones observed for the original formula with no capsules. After cracking, it was possible to observe the action of the released bacteria, through the formation of crystalline structures at the cracks. The capsules were prepared through simple and cheap processes, and it was proved that not only they do not affect concrete properties, but also are effective in both protecting the bacteria during mixing and hardening, and releasing it after cracking.

**Keywords:** Concrete, cracks, bacteria, biomineralization, hydrogels.

Aos meus queridos pais, Cláudio e Célia, meu parceiro e marido Eduardo e minha amada filha Cecília, sem cujo apoio, paciência e incentivo, esta tese não seria concluída.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a meus pais, Cláudio e Célia, por todo o apoio durante toda minha vida, sempre me incentivando a correr atrás dos meus sonhos. Agradeço ao meu irmão Bruno, que me ensinou a importância de ser firme nos objetivos que traçamos a nós mesmos.

Grande parte do meu agradecimento é destinado ao meu marido, parceiro e companheiro de vida, Eduardo, sem cuja paciência, apoio, encorajamento e ajuda, todo o caminho até aqui seria extremamente difícil, se não impossível. Obrigada por todas as vezes que você conversou comigo, me acalmou, me ajudou a entender como prosseguir. Em você, tenho um pilar no qual sempre tenho a segurança para explorar novos horizontes. Tenho cada vez mais a certeza de que escolhi o melhor homem para pai da nossa filha, Cecília.

Meu muito obrigado às minhas orientadoras, Lica e Sylma, que sempre foram genuinamente interessadas no meu desenvolvimento e aprendizado, e entregaram com desprendimento todo o conhecimento para que eu pudesse atingir meu potencial.

Agradeço à minha amiga Gabi, por toda a parceria e ajuda durante todo esse processo. Não posso deixar de mencionar minha parceira de trabalho e na vida, Laura, que me ajudou tanto no trabalho quando nos momentos de dificuldade, em que eu precisava de alguém com quem desabafar. Agradeço também ao meu amigo Reginaldo, que mais uma vez me ajudou enormemente na elaboração e execução dos testes, e à Togni S/A, que disponibilizou a estrutura para que os testes fossem realizados. O que eu sou hoje, devo a vocês.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*“Pagamos um preço por tudo aquilo que conseguimos ou tomamos neste mundo; e, embora valha muito a pena ter ambições, elas não são conquistadas a pouco custo: demandam seu quinhão de trabalho e abnegação, ansiedade e desânimo.”*

*L. M. Montgomery, Anne de Green Gables, 1908.*



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Empacotamento de partículas .....	22
Figura 2 - Tipos de Fissuras .....	23
Figura 3 - Possíveis causas para a cura autógena .....	25
Figura 4 - Processo de biomineralização .....	27
Figura 5 - Precipitação de minerais após ação bacteriana .....	28
Figura 6 - Sistema vascular de distribuição de agente de cura .....	32
Figura 7 - Sistema de cápsulas para distribuição do agente de cura.....	32
Figura 8 - Estrutura química do alginato de sódio .....	35
Figura 9 - Estrutura da quitosana.....	36
Figura 10 - Detalhamento da metodologia .....	38
Figura 11 - Cápsulas de quitosana após secagem.....	39
Figura 12 - Medida da fluidez da argamassa .....	41
Figura 13 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias .....	43
Figura 14 - Resistência à flexão (RFTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	44
Figura 15 - Resistência à compressão (RCTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	45
Figura 16 - Gráfico de radar da relação das propriedades de cada formulação.....	47
Figura 17 - Detalhamento da metodologia .....	50
Figura 18 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias .....	52
Figura 19 - Resistência à flexão (RFTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	53
Figura 20 - Resistência à compressão (RCTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	53
Figura 21 - Gráfico de radar da relação das propriedades de cada formulação.....	55
Figura 21 - Detalhamento da metodologia .....	57
Figura 22 - Corpo de prova com ruptura total .....	60
Figura 23 - Corpo de prova com ruptura parcial .....	60
Figura 24 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias .....	61
Figura 25 - Resistência à flexão (RFTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	62
Figura 26 - Resistência à compressão (RCTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias.....	63
Figura 27 - Formação do tipo “pó” observada na trinca após 20 dias.....	64
Figura 28 - Formação do tipo “fibra” observada na fissura após 20 dias.....	64
Figura 29 - Corpo de prova de referência.....	64
Figura 30 - Aumento de 65x na região da trinca dos corpos de prova .....	65
Figura 31 - Aumento de 160x na região da trinca dos corpos de prova .....	65

Figura 32 - Aumento de 250x na região da trinca dos corpos de prova .....	66
Figura 33 - Aumento de 500x na região da trinca dos corpos de prova .....	66
Figura 34 - Formação cristalina do tipo “fibra” na região da fissura .....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes do cimento .....	19
Tabela 2 - Tipos de cimentos Portland produzidos no Brasil.....	20
Tabela 3 - Formulações de argamassa (em %) com cápsulas de quitosana .....	40
Tabela 4 - Análise granulométrica acumulada das faixas de areia normal e das cápsulas .....	42
Tabela 5 - Fluidez encontrada para as formulações testadas.....	43
Tabela 6 - Formulações de argamassa com cápsulas de alginato de sódio <i>sem</i> bactérias .....	51
Tabela 7 - Fluidez encontrada para as formulações com alginato.....	51
Tabela 8 - Formulações de argamassa com cápsulas de alginato de sódio <i>contendo</i> bactérias	59
Tabela 9 - Fluidez encontrada para as formulações com cápsulas com bactérias .....	61

## SUMÁRIO

<b>Introdução</b> .....	<b>14</b>
<b>Objetivo</b> .....	<b>17</b>
<b>Capítulo 1 Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1 Argamassas</b> .....	<b>18</b>
1.1.1 Cimento Portland .....	18
1.1.2 Agregados Miúdos.....	20
1.1.3 Água.....	21
1.1.4 Formulação de Argamassas.....	21
<b>1.2 Formação e Tipo de Fissuras</b> .....	<b>22</b>
<b>1.3 Mecanismos de Tratamento de Fissuras</b> .....	<b>23</b>
1.3.1 Tratamentos Passivos.....	24
1.3.2 Tratamentos Ativos.....	24
1.3.2.1 Cura Autógena.....	24
1.3.2.2 Cura Autônoma .....	25
<b>1.4 Biomineralização</b> .....	<b>27</b>
1.4.1 Mecanismos de Biomineralização.....	28
1.4.2 Tipos de Bactérias .....	30
<b>1.5 Incorporação de Bactérias</b> .....	<b>31</b>
1.5.1 Incorporação Direta.....	31
1.5.2 Sistema Vascular .....	31
1.5.3 Cápsulas .....	32
<b>1.6 Polímeros Superabsorventes</b> .....	<b>34</b>
1.6.1 Alginato de Sódio .....	35
1.6.2 Quitosana .....	36
<b>Capítulo 2 Adição de Cápsulas de Quitosana em Argamassa</b> .....	<b>37</b>
<b>2.1 Introdução</b> .....	<b>37</b>
<b>2.2 Materiais e Métodos</b> .....	<b>38</b>
2.2.1 Avaliação das Matérias-Primas .....	38
2.2.2 Síntese das Cápsulas de Quitosana.....	39
2.2.3 Formulações com Cápsulas de Quitosana.....	39
2.2.4 Avaliação das Propriedades da Argamassa .....	40
2.2.5 Análise Estatística .....	41

<b>2.3</b>	<b><i>Resultados e Discussão</i></b> .....	<b>42</b>
2.3.1	<i>Caracterização das Matérias-Primas</i> .....	42
2.3.2	<i>Avaliação das Argamassas Contendo Esferas de Quitosana</i> .....	42
<u>2.3.2.1</u>	<u><i>Propriedades Reológicas</i></u> .....	<u>42</u>
<u>2.3.2.2</u>	<u><i>Densidade Absoluta</i></u> .....	<u>43</u>
<u>2.3.2.3</u>	<u><i>Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente</i></u> .....	<u>44</u>
<u>2.3.2.4</u>	<u><i>Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente</i></u> .....	<u>45</u>
<u>2.3.2.5</u>	<u><i>Análise Estatística</i></u> .....	<u>46</u>
<b>2.3</b>	<b><i>Conclusão</i></b> .....	<b>48</b>
<b>Capítulo 3 Adição de Cápsulas de Alginato de Sódio em Argamassa</b> .....		<b>49</b>
<b>3.1</b>	<b><i>Introdução</i></b> .....	<b>49</b>
<b>3.2</b>	<b><i>Materiais e Métodos</i></b> .....	<b>49</b>
3.2.1	<i>Síntese das Cápsulas de Alginato de Sódio</i> .....	50
3.2.2	<i>Formulações com Cápsulas de Alginato de Sódio</i> .....	50
3.2.3	<i>Avaliação das Propriedades da Argamassa e Análise Estatística</i> .....	51
<b>3.3</b>	<b><i>Resultados e Discussão</i></b> .....	<b>51</b>
3.3.1	<i>Propriedades Reológicas</i> .....	51
3.3.2	<i>Densidade Absoluta</i> .....	52
3.3.3	<i>Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente</i> .....	52
3.3.4	<i>Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente</i> .....	53
3.3.5	<i>Análise Estatística</i> .....	54
<b>3.4</b>	<b><i>Conclusão</i></b> .....	<b>55</b>
<b>Capítulo 4 Adição de Bactérias Encapsuladas em Argamassa</b> .....		<b>57</b>
<b>4.1</b>	<b><i>Introdução</i></b> .....	<b>57</b>
<b>4.2</b>	<b><i>Materiais e Métodos</i></b> .....	<b>57</b>
4.2.1	<i>Cultivo e Esporulação das Bactérias</i> .....	58
4.2.2	<i>Síntese das Cápsulas de Alginato de Sódio Contendo Bactérias</i> .....	58
4.2.3	<i>Formulações com Cápsulas de Alginato de Sódio Contendo Bactérias</i> .....	58
4.2.4	<i>Avaliação das Propriedades da Argamassa</i> .....	59
4.2.5	<i>Avaliação da Atividade Bacteriana</i> .....	60
<b>4.3</b>	<b><i>Resultados e Discussão</i></b> .....	<b>61</b>
4.3.1	<i>Propriedades Reológicas</i> .....	61
4.3.2	<i>Densidade Absoluta</i> .....	61
4.3.3	<i>Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente</i> .....	62

4.3.4	<i>Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente</i> .....	62
4.3.5	<i>Avaliação da Vedação das Fissuras</i> .....	63
4.3.6	<i>Análise Estatística</i> .....	67
4.4	<b>Conclusão</b> .....	68
<b>Capítulo 6</b>	<b>Considerações Finais</b> .....	70
<b>Capítulo 7</b>	<b>Conclusões</b> .....	71
<b>Capítulo 8</b>	<b>Sugestões para Trabalhos Futuros</b> .....	72
<b>Referências</b>	.....	73
<b>Apêndice A</b>	<b>– Análise Estatística – Capítulo 2</b> .....	79
<b>Apêndice B</b>	<b>– Análise Estatística – Capítulo 3</b> .....	91
<b>Apêndice C</b>	<b>– Análise Estatística – Capítulo 4</b> .....	96

## Introdução

A crescente preocupação mundial acerca da sustentabilidade estimula os cientistas a buscar diversas alternativas para reduzir a utilização de recursos naturais. Contabilizando-se o consumo de matérias-primas, água, energéticos e mão-de-obra, além dos resíduos e poluição gerados, estima-se que a construção civil consuma de 40 a 75% dos recursos naturais do planeta (BAUER, 2019).

A extensão do tempo de serviço de uma estrutura reduz o impacto ambiental de forma indireta, e pode ser realizada por meio do reparo de fissuras, visando corrigir problemas de perda de resistência ou estética (TRENSEN, 2017). Os métodos convencionais de reparo de estruturas, incluindo-se injeção de epóxi e spray de metacrilato de alto peso molecular, são trabalhosos, lentos e custosos, além de inconvenientes, no caso de estruturas que estejam em uso (FOWLER, 1999; WANG et al., 2018).

O tratamento ativo de fissuras é capaz de preencher fissuras internas e externas (WANG; DE BELIE; VERSTRAETE, 2012a). O desenvolvimento das propriedades de vedação de fissuras contribui para diminuir a deterioração, estender o tempo de serviço, reduzir o custo e a frequência de manutenção, resultando em estruturas mais sustentáveis (LI; HERBERT, 2012).

A utilização de bactérias para o tratamento ativo envolve a produção de carbonato de cálcio por meio do mecanismo de biomineralização, ou seja, a formação de minerais por organismos vivos, geralmente devido à atividade microbiana, de forma a vedar<sup>1</sup> as fissuras formadas ao longo do tempo (SEIFAN, SAMANI e BERENJIAN, 2016). O carbonato de cálcio é um dos melhores *fillers*<sup>2</sup> devido à sua melhor compatibilidade com a matriz cerâmica. Vários mecanismos metabólicos podem ser utilizados para induzir a precipitação de carbonato de cálcio, como ureólise, fotossíntese, desnitrificação, redução de sulfato e deaminação de aminoácidos (LEE; PARK, 2018; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).

O *Lysinibacillus sphaericus*, anteriormente conhecido como *Bacillus sphaericus* (AHMED et al., 2007), é uma das bactérias mais frequentemente utilizadas em tratamentos ativos de autocura recentes. Testes realizados por Wang et al. (2014b) mostraram que a adição de esporos de *L. sphaericus* encapsulados em formulações de argamassa resulta em taxas de

---

<sup>1</sup> Na literatura, em sua maioria na língua inglesa, o processo de vedação de fissuras é denominado “self-healing”. Ao longo deste trabalho, será adotada a nomenclatura “autocura”.

<sup>2</sup> O termo “filler” se refere a um material de preenchimento. Visto que é um termo bastante disseminado na área de Engenharia Civil, optou-se por manter este termo ao longo do trabalho.

cura significativamente mais elevadas em comparação com formulações padrão (variação de 48 a 80%).

As bactérias podem ser diretamente incorporadas na argamassa; porém, a taxa de sobrevivência é baixa devido ao ambiente fortemente alcalino da mistura e à retração durante a hidratação do cimento (JONKERS, 2007). Dessa forma, é necessária proteção para assegurar a sobrevivência destas bactérias. Tal proteção pode ser feita por meio de um sistema vascular de distribuição de agente de cura, que consiste em uma rede de tubos por meio da qual é distribuído o agente de cura mediante o surgimento de fissuras. Ainda, pode-se proteger o agente de cura pelo seu encapsulamento e distribuição na matriz.

O estudo da adição de bactérias em argamassas é um passo anterior à adição direta destas bactérias nos concretos. Uma vez que a produção de argamassas é mais rápida e envolve menor custo e tempo de endurecimento, é interessante, sob o ponto de vista investigativo, buscar compreender os fenômenos que regem a autocura das fissuras (por meio do estudo do mecanismo de atuação das bactérias), utilizando-se de estudos preliminares em argamassas ao invés de concretos.

Vários trabalhos avaliaram a adição de bactérias em argamassa, visando determinar sua influência nas propriedades do produto, utilizando diferentes tipos de cápsulas a fim de proteger os esporos (KHALIC; EHSAN, 2016; MAHMOD et al., 2021; REHMAN et al., 2022; ROY et al., 2020; SU et al., 2021; VAN TITTELBOOM et al., 2011; WANG; DE BELIE; VERSTRAETE, 2012; WANG J. et al., 2012, 2014a, 2014b, 2015; WANG X. et al., 2022; ZHANG et al., 2021). No entanto, nestes trabalhos, a adição das cápsulas é feita apenas sobre a formulação padrão, sem considerar seu efeito nas propriedades reológicas e mecânicas da argamassa. A adição simples pode causar segregação, dependendo da distribuição granulométrica das cápsulas adicionadas, podendo resultar em diminuição da fluidez, aumento da porosidade, diminuição da densidade e resistência mecânica.

A fim de contornar este problema, é possível realizar a compensação granulométrica, isto é, ao adicionar as cápsulas de quitosana ou alginato de sódio, retira-se uma quantidade equivalente do agregado miúdo com distribuição granulométrica mais próxima à da esfera. Ao realizar a compensação, garante-se a manutenção da distribuição granulométrica da formulação original e, desta forma, minimiza-se os efeitos da adição das cápsulas nas propriedades da argamassa.

É possível medir efetivamente tais efeitos por meio da realização de análise de variância multivariada (MANOVA), onde serão analisados os resultados individuais de cada formulação nas propriedades físicas e mecânicas avaliadas, e como resultado, tem-se a indicação de uma



ou mais formulações que tenham resultados estatisticamente diferentes das demais. O tipo de influência, positiva ou negativa, pode então ser avaliado por testes estatísticos complementares, como análises de variância (ANOVA) individuais para cada propriedade, e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey (FIELD; MILES; FIELD, 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da adição de cápsulas de quitosana e de alginato de sódio contendo bactérias do tipo *Lysinibacillus sphaericus*, preparadas por meio dos métodos de gelificação ionotrópica e esferificação, respectivamente, em formulações de argamassa. No entanto, não foi realizada apenas a adição simples, mas também foi realizada a compensação granulométrica. Por meio de análise de variância multivariada e demais testes estatísticos complementares, foi avaliada a influência nas propriedades do material fresco e endurecido, visando a manutenção das propriedades durante a aplicação e liberação de bactérias na ocasião de fissuras. Por fim, foi verificada a atuação das bactérias após saída das cápsulas, e o resultado de sua atividade metabólica quando em contato com a matriz cimentícia.

## Objetivo

Este projeto teve como objetivo principal avaliar o encapsulamento de bactérias do tipo *Lysinibacillus sphaericus*, a influência da adição das cápsulas nas propriedades da argamassa e a atividade metabólica da bactéria na ocasião de geração de fissuras.

Desta forma, foram objetivos específicos deste trabalho:

- ✓ Realizar um levantamento bibliográfico detalhado relacionado à temática, principalmente no que tange às atividades de biomineralização e a capacidade deste tipo de bactérias em preencher fissuras em argamassa e concreto civil;
- ✓ Avaliar as condições de produção e qualidade das cápsulas de quitosana e de alginato de sódio produzidas para serem usadas no armazenamento das bactérias;
- ✓ Avaliar a influência do percentual de adição de cápsulas de quitosana e alginato de sódio nas propriedades mecânicas da argamassa;
- ✓ Viabilizar o encapsulamento dos esporos em esferas de alginato de sódio;
- ✓ Avaliar a eficiência do encapsulamento para proteção dos esporos e retomada da atividade metabólica das bactérias para vedação de fissuras em argamassa.

## Capítulo 1 Revisão Bibliográfica

### 1.1 Argamassas

Argamassas são materiais de construção compósitos, formados pela combinação de agregados miúdos, cimento Portland e água. Elas podem ser classificadas de acordo com vários critérios. Com relação aos componentes, as argamassas podem ser classificadas de acordo com a natureza, o tipo ou número de aglomerantes presentes. No que concerne às propriedades da argamassa, elas podem ser subdivididas quanto à sua consistência, plasticidade, densidade de massa ou forma de preparo. Finalmente, com relação à sua aplicação, as argamassas podem ser para construção de alvenarias, revestimento de paredes e tetos, revestimento de pisos, assentamento de revestimentos cerâmicos e para recuperação de estruturas (ISAIA, 2017).

#### 1.1.1 Cimento Portland

O cimento Portland é constituído por calcário, argila e minério de ferro, os quais são finamente moídos e misturados em proporções específicas conforme as propriedades esperadas do cimento final. A mistura é seguida pela queima do material em temperaturas até 1450°C em fornos rotativos, onde ocorre a fusão de 20 a 30% do material e as reações entre o carbonato de cálcio fornecido pelo calcário, e a sílica e alumina fornecidas pela argila, sendo obtidas esferas de 3 a 25 mm de diâmetro conhecidas como clínqueres. O clínquer é moído e a ele é adicionado gesso, o qual fornece sulfato de cálcio à mistura visando evitar a pega instantânea do cimento e resultando, finalmente, no cimento Portland como é conhecido (NEVILLE; BROOKS, 2010; NEVILLE, 2016).

Os cimentos são normalmente compostos pelos constituintes descritos na Tabela 1 (NEVILLE, 2016). A notação abreviada, usualmente utilizada em se tratando da química do cimento, descreve cada óxido por uma letra, sendo: C = CaO, S = SiO<sub>2</sub>, A = Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e F = Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Além desses, também são encontrados no cimento compostos denominados secundários devido à sua pequena quantidade, tais como MgO, TiO<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>O e K<sub>2</sub>O (NEVILLE, 2016).

Tabela 1 - Constituintes do cimento

Nome do Composto	Composição em Óxidos	Abreviatura
Silicato tricálcico	$3\text{CaO}.\text{SiO}_2$	$\text{C}_3\text{S}$
Silicato dicálcico	$2\text{CaO}.\text{SiO}_2$	$\text{C}_2\text{S}$
Aluminato tricálcico	$3\text{CaO}.\text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{C}_3\text{A}$
Ferroaluminato tetracálcico	$4\text{CaO}.\text{Al}_2\text{O}_3.\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{C}_4\text{AF}$

Fonte: NEVILLE, A. M. **Propriedades do concreto**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman Editora Ltda., 2016.

A combinação de água com os silicatos e aluminatos anteriormente descritos formam produtos hidratados que, após algum tempo, resultam em uma massa firme e resistente conhecida como pasta de cimento hidratada. Visto que os silicatos são os principais componentes cimentícios do cimento, o comportamento do cimento durante a hidratação é similar ao desses compostos isoladamente (NEVILLE, BROOKS, 2010; NEVILLE, 2016).

Os silicatos tricálcico e dicálcico possuem, invariavelmente, pequenas quantidades de íons de magnésio, alumínio, ferro, potássio, sódio e enxofre. As formas “impuras” dos silicatos  $\text{C}_3\text{S}$  e  $\text{C}_2\text{S}$  são denominadas, respectivamente, alita e belita. A presença de tais íons causa certa distorção na estrutura cristalina dos silicatos da alita, provocando grandes vazios estruturais, os quais culminam em alta energia e reatividade da estrutura. No caso da belita, os vazios formados são menores, diminuindo a sua reatividade (MEHTA; MONTEIRO, 2008).

O produto da reação de hidratação dos silicatos  $\text{C}_3\text{S}$  e  $\text{C}_2\text{S}$  é o composto hidratado microcristalino  $\text{C}_3\text{S}_2\text{H}_3$ , também denominado C-S-H, com liberação de cal na forma cristalina  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , sendo que a liberação de cal é maior na reação do silicato  $\text{C}_3\text{S}$ . A reação de  $\text{C}_3\text{A}$  com água resulta em pega instantânea, interferindo na trabalhabilidade do concreto e argamassa. Assim, torna-se necessário adicionar gipsita (sulfato de cálcio) durante a fabricação do cimento, visando a redução da velocidade de reação (MEHTA; MONTEIRO, 2008; NEVILLE, BROOKS, 2010; NEVILLE, 2016).

Existem vários tipos de cimento Portland, diferentemente classificados de acordo com as adições incluídas durante o seu processamento, as quais resultam em diferentes propriedades. Os tipos comumente produzidos no Brasil encontram-se listados na Tabela 2 (BAUER, 2019).

Tabela 2 - Tipos de cimentos Portland produzidos no Brasil.

Tipo	Sigla	Classes	Conteúdo			
			Clínquer + gesso	Escória	Pozolana	Filler calcário
Comum com adição	CPI-S	25, 32, 40	99-95		1-5	
Composto com escória	CPII-E	25, 32, 40	94-56	6-34	0	0-10
Composto com pozolana	CPII-Z	25, 32, 40	94-76	0	6-14	0-10
Composto com <i>filler</i>	CPII-F	25, 32, 40	94-90	0	0	6-10
Alto-forno	CPIII	25, 32, 40	65-25	35-70	0	0-5
Pozolânico	CPIV	25, 32	85-45	0	15-50	0-5
Alta resistência inicial	CPV	-	100-95	0	0	0-5

Fonte: Adaptado de BAUER, L.A.F. **Materiais de Construção**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2019.

### 1.1.2 Agregados Miúdos

Os agregados podem ser classificados como graúdos ou miúdos. Um agregado graúdo se refere ao material com granulometria maior que 4,75 mm (malha nº4 Mesh); e o material menor que essa granulometria é denominado agregado miúdo. Para utilização em argamassa, utilizam-se os agregados miúdos, principalmente areia e pó de brita.

Deve-se avaliar o agregado quanto à sua porosidade, composição ou distribuição granulométrica, absorção de água, resistência à compressão e textura das partículas, dentre outros. Os agregados naturais mais comumente utilizados são oriundos da britagem de rochas, e suas propriedades estão totalmente dependentes das propriedades da rocha matriz (MEHTA; MONTEIRO, 2008; NEVILLE, 2016).

Alguns dos minerais mais comumente encontrados nos agregados são os minerais de sílica, ferromagnesianos, micáceos, argilosos, carbonáticos, sulfáticos, de sulfeto de ferro, de óxidos de ferro e zeólitas. No entanto, não há correlação direta entre o tipo de mineral e seu desempenho (NEVILLE, 2016).

Quanto às propriedades físicas dos agregados, deve-se atentar para a porosidade e absorção de água dos grãos; tais propriedades podem afetar negativamente a trabalhabilidade no estado fresco e acarretar a queda da resistência mecânica no estado endurecido. A distribuição granulométrica também deve ser controlada visando o equilíbrio entre a trabalhabilidade e redução da demanda de água (MEHTA, MONTEIRO, 2008).

A forma e textura superficial das partículas de agregado influencia mais as propriedades no estado fresco do que no estado endurecido. Partículas mais arredondadas resultam em maior empacotamento e redução da demanda de água; no entanto, partículas mais angulares apresentam melhor ancoragem e aumentam a resistência mecânica (MEHTA; MONTEIRO, 2008; NEVILLE, 2016; OLIVEIRA et al., 2000).

### *1.1.3 Água*

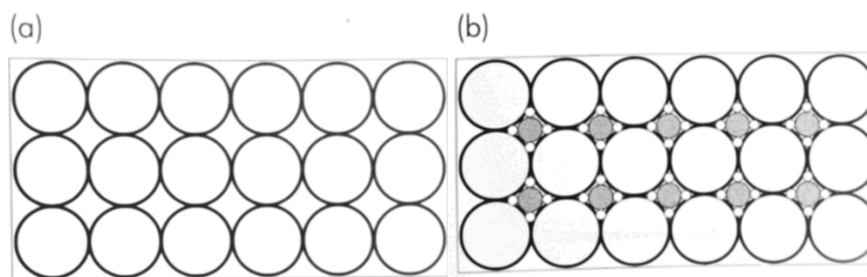
A água possui duas funções em uma argamassa: propiciar as reações de hidratação do cimento e estabelecer características reológicas à argamassa. A qualidade da água de amassamento deve ser determinada de modo a evitar reações imprevistas, não devendo conter substâncias orgânicas indesejáveis ou constituintes inorgânicos em excesso (NEVILLE, 2016). Sua quantidade deve ser determinada de modo que seja suficiente para desenvolver a resistência mecânica do cimento e também suas propriedades reológicas; seu excesso resultará em prejuízo às propriedades da argamassa, podendo ocorrer segregação, perda de coesão e perda na trabalhabilidade, aumento da porosidade e consequente diminuição da resistência mecânica do produto (MEHTA; MONTEIRO, 2008; NEVILLE, 2016).

### *1.1.4 Formulação de Argamassas*

A formulação adequada de argamassas, resultando em um empacotamento eficiente das partículas que as compõem, tem efeito direto em diversas de suas propriedades. A obtenção de empacotamentos densos está relacionada ao contínuo preenchimento dos espaços vazios entre partículas por outras de menor diâmetro, conforme indicado na Figura 1. Um sistema monodisperso é aquele cujos componentes possuem um único tamanho, esféricos ou não, enquanto um sistema polidisperso é aquele que combina duas ou mais monodispersões de maneira a criar um sistema com maior densidade de empacotamento (OLIVEIRA et al., 2000).

Deve-se atentar para a introdução de partículas maiores que as presentes, visto que isso levará ao surgimento de novos vazios e consequente aumento na porosidade do material. Dessa forma, não apenas o tamanho das partículas – mas também a sua distribuição – devem ser controlados, a fim de determinar o aumento ou não da densidade de empacotamento (OLIVEIRA et al., 2000).

Figura 1 - Empacotamento de partículas



(a) Sistema monodisperso

(b) Máxima densidade de empacotamento teórica

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, I. R. et al. **Dispersão e empacotamento de partículas**. São Paulo: Fazendo Arte, 2000.

Fatores como morfologia, porosidade, densidade, técnica de compactação e estado de dispersão também afetam o empacotamento das partículas. Existem diversos modelos, teóricos e práticos, utilizados para determinar a distribuição ideal de partículas em uma mistura. Na indústria civil, os métodos práticos ABCP e IBRACON são vastamente utilizados; em materiais cerâmicos, é muito comum a utilização do modelo de Andreassen (BAUER, 2019; OLIVEIRA et al., 2000).

## 1.2 Formação e Tipo de Fissuras

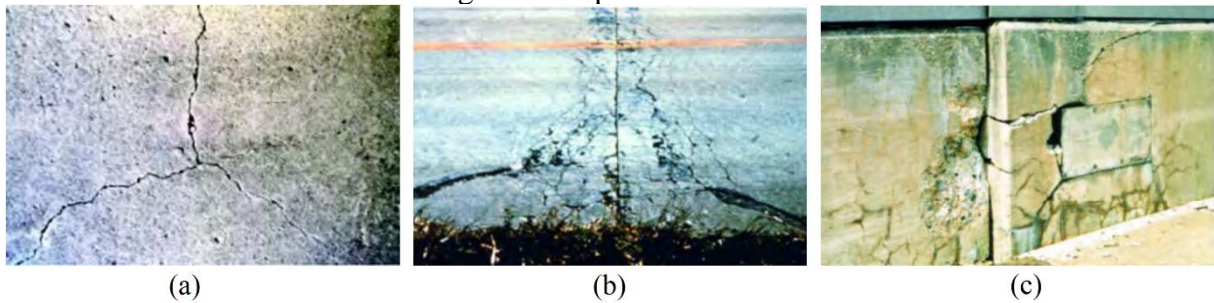
A baixa resistência à tração das argamassas propicia o aparecimento de fissuras. Nas idades iniciais, as alterações volumétricas causadas pelas reações de hidratação do cimento causam tensões no interior quando a resistência ainda está relativamente baixa (ALTOUBAT; LANGE, 2001; BISSONNETTE; PIERRE; PIGEON, 1999).

A deterioração do material com o tempo ocorre devido a vários mecanismos, como tensões térmicas, reações químicas expansivas, corrosão por carbonatação e ciclos de congelamento e descongelamento (TRENSEN, 2017; VAN TITTELBOOM et al., 2010).

As fissuras reduzem a durabilidade das argamassas visto que permitem a penetração de água e agentes químicos prejudiciais (CABRERA, 1996).

A Figura 2 mostra as trincas resultantes da retração de secagem, ciclos de congelamento e descongelamento, e por reação álcali-sílica.

Figura 2 - Tipos de Fissuras



(a) Retração de secagem

(b) Fissuras causadas por ciclos de congelamento e descongelamento

(c) Fissuras causadas por reação álcali-sílica

Fonte: TRENSON, G. **Application of pH responsive hydrogel encapsulated bacteria for self-healing concrete**. 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Ghent University, Gante, 2017.

Inicialmente, o mecanismo de formação de fissuras dominante é relativo à retração de secagem. A restrição da retração causa a formação de tensões no material endurecido; por meio de mecanismos de cura apropriados para diminuir a secagem prematura da superfície, é possível minimizar as fissuras devido à retração (ALTOUBAT; LANGE, 2001; TRENSON, 2017).

A exposição do material às alterações climáticas pode causar fissuras ao longo do tempo. A expansão de cristais de gelo produz pressão nos poros, causando ruptura caso a resistência à tração seja excedida (TRENSON, 2017).

Ainda, alguns agregados podem reagir com os hidróxidos alcalinos presentes na argamassa, causando expansão e formação de fissuras ao longo do tempo. Destas reações, duas são destacadas, nominalmente reações álcali-sílica e álcali-carbonato. Medidas para evitá-las incluem a redução da umidade relativa do ar e o uso de minerais tais como microssílica, cinzas e escória de alto-forno (HOBBS, 1988; TRENSON, 2017).

### 1.3 *Mecanismos de Tratamento de Fissuras*

O reparo de fissuras é difícil e custoso, chegando a custar metade do orçamento anual de construção na Europa (VAN TITTELBOOM; DE BELIE, 2013). O tratamento de fissuras pode ser dividido em ativo e passivo, sendo que tratamentos passivos curam apenas fissuras na superfície, enquanto tratamentos ativos são capazes de preencher fissuras internas e externas (WANG; DE BELIE; VERSTRAETE, 2012a).



### 1.3.1 *Tratamentos Passivos*

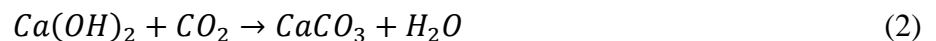
Os tratamentos passivos consistem basicamente na aplicação de uma cobertura sobre a fissura, a qual pode ser um produto químico ou polimérico, como resinas epóxi, borrachas cloradas, ceras, poliuretano, acrílicos e siloxano. Sua vantagem é que pode ser utilizado em várias estruturas. Porém, algumas limitações afetam seu uso, como baixa resistência ao desgaste pelo tempo, sensibilidade à umidade e má aderência na estrutura cerâmica, entre outros (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).

### 1.3.2 *Tratamentos Ativos*

Tratamentos ativos são técnicas que tem a habilidade de selar fissuras imediatamente após sua formação, independentemente da sua posição ou orientação. São também chamadas de técnicas de autocura, e podem agir de acordo com dois mecanismos distintos: abordagem autógena e abordagem autônoma (TRENSEN, 2017; WU; JOHANNESSEN; GEIKER, 2012).

#### 1.3.2.1 Cura Autógena

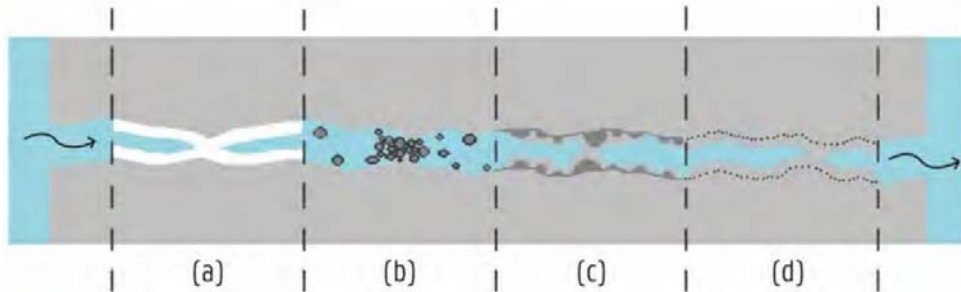
A cura autógena é um processo natural e se baseia na reação de hidratação de partículas de cimento não hidratadas ou por meio da reação de carbonatação de hidróxido de cálcio dissolvido, conforme Equações 1 e 2, respectivamente (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016; VAN TITTELBOOM; DE BELIE, 2013). Possíveis causas para a cura autógena são mostradas na Figura 3 (TRENSEN, 2017).



A principal limitação da cura autógena é o tamanho das fissuras a serem curadas, devendo ser menores que 150 µm para cura parcial, e menores que 50 µm para cura completa (LI; LI, 2011, YANG et al., 2009). Ainda, é necessário o fornecimento constante de água para finalização das reações de hidratação (SOURADEEP; KUA, 2016). Dessa forma, a cura autógena tende a ser mais proeminente nas argamassas e concretos frescos ou mais novos (VAN TITTELBOOM; DE BELIE, 2013). A autocura baseada na hidratação contínua do cimento

normalmente diminui em idades mais avançadas, e a carbonatação de hidróxido de cálcio se torna o mecanismo dominante (EDVARSEN, 1999; TRENSON, 2017).

Figura 3 - Possíveis causas para a cura autógena



- (a) Formação de  $\text{CaCO}_3$  ou  $\text{Ca(OH)}_2$
- (b) Entupimento por poluentes ou partículas de concreto soltas
- (c) Hidratação de partículas de cimento não hidratadas
- (d) Reações expansivas da matriz cimentícia

Fonte: TRENSON, G. **Application of pH responsive hydrogel encapsulated bacteria for self-healing concrete**. 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Ghent University, Gante, 2017.

Souradeep e Kua (2016) tentaram adicionar materiais cimentícios na matriz das argamassas visando estimular a cura autógena, todavia, tais materiais podem ser consumidos no processo de hidratação e não estar disponíveis para a cura em idades mais avançadas. No Brasil, o tamanho das partículas foi alterado de #325 para #170 Tyler, visto que o uso de cimento com partículas mais grossas é uma das medidas mais adotadas para promover a cura autógena, pois desta forma mais partículas de cimento estarão disponíveis para hidratação após a propagação das fissuras (NEVILLE, 2016).

#### 1.3.2.2 Cura Autônoma

A cura autônoma é um mecanismo projetado para aprimorar as propriedades de autocura. Li e Herbert (2012) sugeriram seis critérios para avaliar as vantagens e desvantagens de cada método de autocura, sendo:

- a) Tempo de vida útil: os produtos para a indústria civil possuem tempo de vida longo, de cinquenta a cem anos em média, de forma que o mecanismo deve possuir tempo de ativação similar.
- b) Penetração: Devido às cargas aplicadas à estrutura, de origem ambiental e mecânica, torna-se necessário que o mecanismo seja acionado a partir de qualquer ponto da estrutura, garantindo a cura de fissuras, independentemente de sua orientação.

- c) Qualidade: Idealmente, a autocura deveria ser capaz de retomar totalmente as propriedades mecânicas e de transporte do material, incluindo permeabilidade, difusividade, dureza, resistência mecânica e ductilidade. Os produtos utilizados como *fillers* devem não apenas preencher as trincas, mas também unir suas faces.
- d) Confiabilidade: Se refere à consistência do mecanismo de cura para recuperar as propriedades mecânicas e de transporte. Grande variação sugere falta de confiabilidade do mecanismo.
- e) Versatilidade: Um mecanismo de autocura é considerado versátil se capaz de recuperar as propriedades do material em diversos ambientes, sejam eles secos, úmidos ou com ciclos de umidade e seca, além de suportar a presença de cloreto, sais de degelo ou presentes na água do mar.
- f) Repetibilidade: Visto que é provável que danos ocorram na estrutura múltiplas vezes ao longo de sua vida útil, é desejável que o mecanismo permaneça ativo na ocorrência múltipla de fissuras, possivelmente na mesma região.

Os maiores desafios dos mecanismos de cura autônoma são a proteção do agente de cura durante a mistura e cura da argamassa e a habilidade de serem ativados apenas quando necessário (TRENSEN, 2017).

O encapsulamento de materiais químicos ou poliméricos é um tipo de tratamento de cura autônoma, o qual consiste no preenchimento de fissuras com um agente de cura, formando uma espuma em presença de umidade (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016). Os agentes químicos utilizados podem ser resultado da reação de um, dois ou vários componentes, e os processos de endurecimento são variados (TRENSEN, 2017).

Perez et al. (2015) avaliaram microcápsulas de sílica com epóxi e nanossílica funcionalizada por amina em pastas de cimento com microsílica. As microcápsulas foram capazes de suportar o processo de mistura. Foi encontrada uma redução na resistência à compressão após a adição das microcápsulas, porém a abordagem foi efetiva para recuperar as propriedades do material após fissuras de até 150  $\mu\text{m}$ .

Macroscápsulas de tubos de vidro com poliuretano podem ser posicionadas em argamassa e concreto e não são penetrantes, e o agente químico pode ser liberado quando uma fissura ocasionar a quebra da cápsula. Os tubos, no entanto, devem ser posicionados perpendicularmente às fissuras previstas, o que não é prático, e o número de macroscápsulas é limitado (TRENSEN, 2017; LI; HERBERT, 2012).

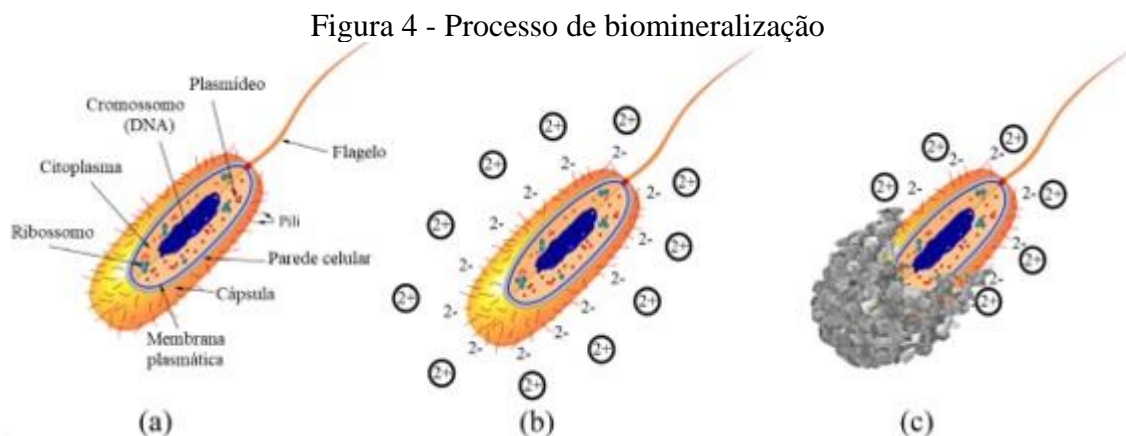
A técnica de encapsulamento de produtos químicos ou poliméricos apresenta algumas desvantagens, visto que o material polimérico não se comporta da mesma forma que o cerâmico,

podendo aumentar ainda mais a quantidade de fissuras presentes (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).

Recentemente, vários estudos têm sido conduzidos para investigar a técnica de cura por meio da produção microbiana de carbonato de cálcio (ACHAL; MUKERJEE; REDDY, 2013; JONKERS et al., 2010; VAN TITTELBOOM et al., 2010; WANG; DE BELIE; VERSTRAETE, 2012; WANG et al., 2012, 2014a, 2014b, 2015, 2018). Neste tipo de tratamento ativo para reparo de fissuras, é realizada a produção de carbonato de cálcio por meio do mecanismo de biomineralização (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016), conforme detalhado na próxima sessão.

#### 1.4 Biomineralização

A biomineralização é o processo de formação de minerais por organismos vivos, normalmente em ambiente aberto em consequência da atividade microbiana. Os minerais são formados por meio da reação dos produtos metabólicos com os elementos presentes no ambiente, conforme pode ser observado na Figura 4 (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016; TEBO et al., 2015).



(a) Estrutura bacteriana

(b) Parede celular carregada negativamente e presença de íons positivos

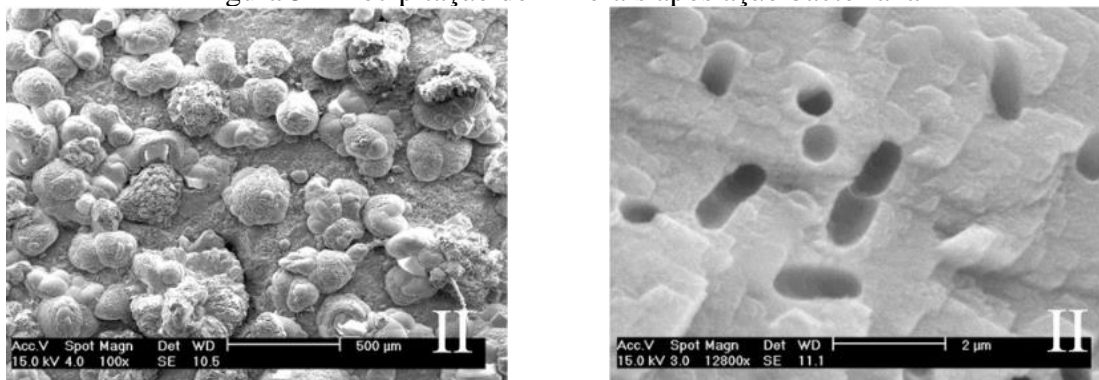
(c) Produção biomineral pela junção dos íons à parede celular

Fonte: SEIFAN, M; SAMANI, A. K.; BERENJIAN, A. Bioconcrete: next generation of self-healing concrete. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 6, p. 2591-2602, 2016.

O processo de biomineralização também é chamado de precipitação de carbonato de cálcio induzido por micróbios (MICP, do inglês *Microbially induced calcium carbonate precipitation*), e é afetado por fatores ambientais tais como pH, concentração de íons de cálcio,

concentração de carbono dissolvido, sítios de nucleação e temperatura (LEE; PARK, 2018; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016). De Muynck et al. (2008) mostra o resultado da ação bacteriana, conforme Figura 5.

Figura 5 - Precipitação de minerais após ação bacteriana



(a)

(b)

(a) Imagem MEV da superfície do corpo de prova com aumento de 100x

(b) Imagem MEV da superfície do corpo de prova com aumento de 12800x

Fonte: Adaptado de DE MUYNCK et al. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials - A review. **Cement and Concrete Research**, v. 38, p. 1005-1014, 2008.

Apesar de os micro-organismos serem capazes de produzir uma ampla gama de minerais, o carbonato de cálcio é um dos melhores *fillers* devido à sua melhor compatibilidade com a matriz cimentícia (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016). Diferentes tipos de bactérias foram testados para a precipitação de carbonato de cálcio, sendo utilizadas tanto bactérias autotróficas quanto heterotróficas.

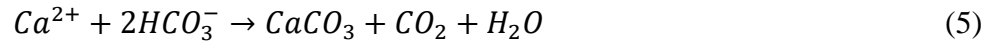
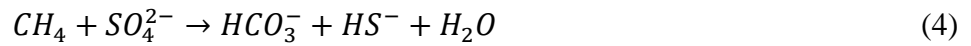
Bactérias autotróficas utilizam  $\text{CO}_2$  como fonte de carbono para precipitação de carbonato de cálcio por meio de três formas distintas: metanogênese não-metilotrófica, fotossíntese oxigenada e fotossíntese não-oxigenada (CASTANIER; MÉTAYER-LEVREL; PERTHUISOT, 1999; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).

Normalmente, no entanto, utilizam-se bactérias heterotróficas para testes em argamassa; elas produzem carbonato de cálcio por mecanismos de precipitação por meio, por exemplo, da ureólise, desnitrificação, deaminação de aminoácidos e redução de sulfato (LEE; PARK, 2018).

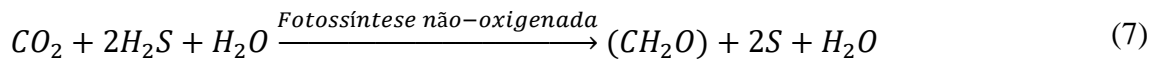
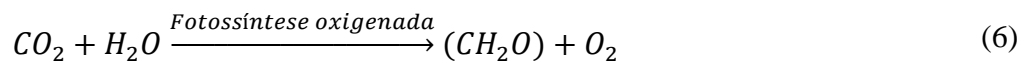
#### 1.4.1 Mecanismos de Biomineralização

Na metanogênese não-metilotrófica, dióxido de carbono e hidrogênio são convertidos em metano conforme Eq. 3. Então, bicarbonato é produzido pela oxidação anaeróbica do

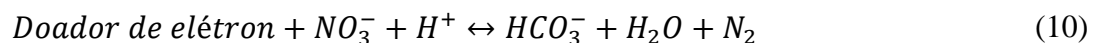
metano por algum receptor de elétrons, conforme Eq. 4. Finalmente, na presença dos íons de cálcio na matriz, ocorrerá a precipitação de carbonato de cálcio conforme Eq. 5 (CASTANIER; METAYER-LEVREL; PERTHUISOT, 2000; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).



Na fotossíntese, doadores de elétrons são utilizados para produzir metanal. No caso da fotossíntese oxigenada, o doador de elétron é a água; para a não-oxigenada, é utilizado o sulfeto de hidrogênio, de modo que não é gerado oxigênio. O aumento localizado de pH leva à precipitação de carbonato de cálcio, conforme Eq. 6-9. A limitação deste método é a necessidade que as áreas estejam expostas ao dióxido de carbono e luz (HAMMES; VERSTRAETE, 2002; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).

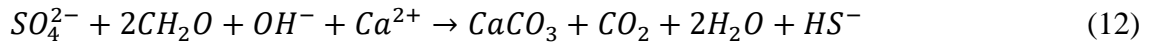
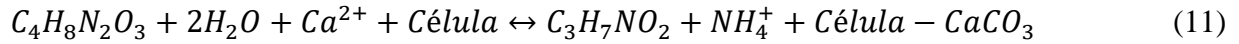


Bactérias denitrificantes, em condições anaeróbicas, utilizam nitrato como receptor de elétron. Durante o processo de denitrificação, tem-se o consumo de  $H^+$  e aumento de pH, produzindo  $CO_2$  e criando um ambiente adequado para a precipitação mineral (Eq. 10). No entanto, a relação entre a denitrificação e a produção de carbonato de cálcio ainda não está clara (ERSAN et al., 2015; LEE; PARK, 2018; MARTIN et al., 2013).



Deaminação de aminoácidos produz amônia e íons carbonato, criando um ambiente favorável ao MICP, Eq. 11. Segue-se o ciclo do enxofre, que reduz sulfato a sulfeto e oxida carbono orgânico a bicarbonato, aumentando o pH e favorecendo a precipitação de carbonato

de cálcio, conforme Eq. 12 (LEE; PARK, 2018; LI et al., 2015; RODRIGUEZ-NAVARRO et al., 2003).



Dentre todos os mecanismos possíveis, o mais estudado para aplicação em argamassas é a ureólise (ACHAL; MUKERJEE; SUDHAKARA, 2013; VAN TITTELBOOM et al., 2010; WANG et al., 2012; WANG et al., 2014a). A ureia é uma fonte eficiente para precipitação de carbonato de cálcio. A ureólise provoca um aumento no pH e gera nitrogênio, bicarbonato e hidróxidos como resultado. Porém, deve-se atentar para que não haja quantidade excessiva de amônia no sistema, a qual é deletéria para estruturas cimentícias (LEE; PARK, 2018). Nesta tese, será usado um tipo de bactéria ureolítica. A reação realizada pelas bactérias ureolíticas está descrita na Equação 13 (LEE; PARK, 2018; SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016).



#### 1.4.2 Tipos de Bactérias

Inicialmente, bactérias do tipo *Sporosarcina pasteurii* (antiga *Bacillus pasteurii*) foram utilizadas para induzir a precipitação de carbonato de cálcio, devido à sua habilidade de crescer e precipitar  $CaCO_3$  em ambientes com altos valores de pH (HAMMES; VERSTRAETE, 2002; STOCKS-FISCHER; GALINAT; BANG, 1999). De acordo com Stocks-Fischer, Galinat e Bang (1999), o pico de atividade da *S. pasteurii* é ao redor do pH 8. O pH ótimo para o crescimento da *S. pasteurii* e a precipitação microbiológica de  $CaCO_3$  é ao redor do pH 9 (RAMACHANDRAN, 2001; STOCKS-FISCHER; GALINAT; BANG, 1999).

A bactéria *S. pasteurii* provou ser capaz de curar fissuras rasas em corpos de prova de argamassa, por preferir a presença de oxigênio, apesar de ser uma bactéria facultativamente anaeróbia. Ainda, foi observado um aumento de dureza e resistência mecânica em 9,4% e 61% respectivamente, quando comparados ao padrão (RAMACHANDRAN, 2001).

Bactérias do tipo *Bacillus subtilis* também foram testadas para incorporação em argamassa, com resultados promissores, especialmente quando encapsuladas em agregado isolante (KHALIQ; EHSAN, 2016; PARK et al., 2012). De acordo com Park et al. (2012), *B.*

*subtilis* foi capaz de fechar fissuras de até 300 µm em 5 dias, quando os corpos de prova são imersos em meio de precipitação B4. Também foi demonstrado um ganho de 19 a 23% em resistência à compressão após 28 dias em formulações com incorporação direta de *B. subtilis* (NOSOUHIAN; MOSTOFINEJAD; HASHEMINEJAD, 2016; PARK et al., 2012; REDDY; SATYA; RAO, 2012).

Um dos tipos de bactérias mais utilizados em trabalhos recentes é o *Lysinibacillus sphaericus*, antiga *Bacillus sphaericus* (AHMED et al., 2007). De acordo com os testes realizados por Wang et al. (2014b), os corpos de prova contendo esporos de *B. sphaericus* encapsulados apresentaram uma taxa de cura muito mais alta que os corpos de prova padrão (de 48 a 80%), porém a adição de microcápsulas resultou em queda da resistência à compressão da argamassa, variando de 22 a 47 %. Nesta tese, foi utilizado o tipo *L. sphaericus* para adição em argamassas.

## **1.5 Incorporação de Bactérias**

### **1.5.1 Incorporação Direta**

Jonkers (2007) propôs inicialmente a incorporação direta de bactérias em argamassa para deposição de carbonato de cálcio em fissuras, porém a taxa de sobrevivência das bactérias é baixa devido ao ambiente fortemente alcalino da mistura e à retração de secagem durante a hidratação. Dessa forma, é necessária proteção para assegurar a sobrevivência das bactérias. Tal proteção pode ser feita por meio de um sistema vascular de distribuição de agente de cura, ou pelo seu encapsulamento e distribuição na matriz.

### **1.5.2 Sistema Vascular**

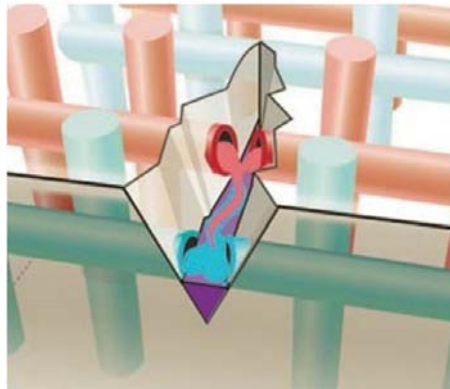
A abordagem vascular de distribuição de agente de cura imita o sistema vascular do corpo humano. Uma rede de tubos com o agente de cura é instalada juntamente com o material, de forma a prover o agente conforme as fissuras apareçam. Pode conter um ou múltiplos canais, caso utilize um agente de cura com um ou dois componentes, respectivamente (SOURADEEP; KUA, 2016). Um exemplo do sistema vascular pode ser visualizado na Figura 6 (BLAISZIK et al., 2010).

Apesar de efetiva, não é considerada exatamente como autocura, visto que o agente de cura é provido externamente. Além disso, ela é impraticável devido a várias limitações.



Inicialmente, deve-se manter viscosidade constante do agente de cura, de forma a garantir a eficácia do processo, além de prevenir vazamentos. Ainda, o uso excessivo de agente de cura pode causar problemas estéticos. O sistema vascular pode ainda causar problemas estruturais por não estar bem aderido ao material (SEIFAN; SAMANI; BERENJIAN, 2016; SOURADEEP; KUA, 2016; VAN TITTELBOOM; DE BELIE, 2013).

Figura 6 - Sistema vascular de distribuição de agente de cura

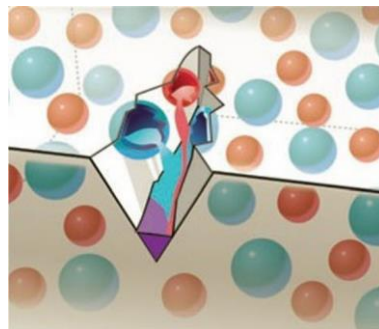


Fonte: BLAISZIK et al., 2010. Self-healing polymers and composites. **Annual Review of Materials Research**, v. 40, p. 179-211.

### 1.5.3 Cápsulas

Na autocura baseada em cápsulas, as cápsulas são responsáveis por proteger mecanicamente o agente de cura, e liberá-lo apenas após serem ativadas por fissuras, umidade, ar ou mudança de pH na matriz (SOURADEEP; KUA, 2016). Um esquema da autocura baseada em cápsulas está demonstrado na Figura 7 (BLAISZIK et al., 2010).

Figura 7 - Sistema de cápsulas para distribuição do agente de cura



Fonte: BLAISZIK et al., 2010. Self-healing polymers and composites. **Annual Review of Materials Research**, v. 40, p. 179-211.

Essa técnica é capaz de aumentar a vida útil do agente químico ou biológico de cura, além de controlar sua liberação na matriz. Apesar de sua versatilidade e satisfatória qualidade de reparo de fissuras, a autocura por cápsulas está limitada à quantidade de agente na cápsula, não havendo repetibilidade no processo de cura (SOURADEEP; KUA, 2016).

A autocura baseada em cápsulas pode ser amplamente categorizada em cura induzida por precipitação bacteriana e por agentes de cura químicos (SOURADEEP; KUA, 2016). Van Tittelboom et al. (2011) avaliaram o encapsulamento de poliuretano em tubos de vidro e cerâmicos, e determinaram que o comportamento de ambos foi similar, porém os tubos cerâmicos apresentaram melhor desempenho frente à permeabilidade por água. Apesar da fragilidade dos materiais auxiliar na liberação do agente na ocasião de trincas, deve-se atentar para que o processo de mistura não danifique as cápsulas antecipadamente.

No que concerne ao encapsulamento de bactérias, as cápsulas devem satisfazer as seguintes condições (LEE; PARK, 2018):

- ✓ Ser biocompatíveis;
- ✓ Não afetar as propriedades mecânicas da argamassa e concreto;
- ✓ Ter resistência mecânica suficiente para suportar o processo de mistura;
- ✓ Liberar o agente de cura mediante fissuras.

Ainda, as cápsulas devem ser distribuídas igualmente na massa, de forma que as fissuras possam atingir as cápsulas, independentemente da posição (LEE; PARK, 2018).

Materiais porosos podem ser utilizados para encapsulamento de bactérias. Wang, De Belie e Verstraete (2012) estudaram o uso de terra diatomácea como portador de bactérias e demonstraram sua efetividade na proteção dos esporos no ambiente alcalino. Fissuras de 0,15 a 0,17 mm em corpos de prova de argamassa foram parcialmente ou completamente seladas, com redução da absorção de água de 50 a 70% quando comparados aos corpos de prova sem bactéria.

Wang et al. (2012) também avaliaram o uso de sílica gel e poliuretano como proteção para os esporos de bactérias. Embora a bactéria tenha conservado sua atividade ureolítica após a imobilização, foi observada maior eficiência de autocura nos corpos de prova contendo bactérias imobilizadas em poliuretano, por meio dos valores obtidos para ganho de resistência e diminuição na permeabilidade por água.

Microcápsulas de melamina foram testadas para o encapsulamento de esporos. Por meio da avaliação por microscopia e determinação da permeabilidade por água, observou-se que corpos de prova com bactéria apresentaram taxa de cura mais alta que o padrão, aumentando

de 18-50% de área curada para 48-80%, e o tamanho máximo de fissura curado foi de 970  $\mu\text{m}$  (WANG et al., 2014b).

Khalic e Ehsan (2016) estudaram a aplicação de nanoplaquetas de grafite e agregados leves no encapsulamento de bactérias. Foi observado que corpos de prova contendo nanoplaquetas de grafite apresentaram boa distribuição de cápsulas e máxima eficiência para selar fissuras em idades iniciais; porém, a eficiência diminuiu consideravelmente em idades avançadas. Em contraposição, corpos de prova com agregado isolante não apresentaram eficiência tão alta quanto as nanoplaquetas de grafite em idades iniciais, porém demonstraram consistência em idades mais avançadas.

Wang et al. (2014a) avaliaram o uso de cápsulas de hidrogel para encapsulamento de bactérias. Foi verificado que os esporos permanecem viáveis após o encapsulamento, e que os corpos de prova contendo esporos registraram diminuição na permeabilidade por água. O comprimento máximo de fissura curado foi de 0,5 mm. A vantagem da utilização de hidrogel como portador dos esporos de bactérias é que ele funciona como um reservatório de água, providenciando água em períodos de seca para promover a atividade metabólica.

## **1.6 Polímeros Superabsorventes**

Polímeros superabsorventes são polímeros hidrofílicos que são capazes de absorver, inchar e reter soluções aquosas, até centenas de vezes o seu próprio peso (KABIRI et al., 2003; MIGNON et al., 2017; TRENSON, 2017). A absorção de água ocorre por meio de um processo físico, no qual a água é absorvida por meio de mudanças na estrutura cristalina, prendendo a água fisicamente por meio de forças capilares e/ou pela hidratação de grupos funcionais (ZOHURIAAN-MEHR; KABIRI, 2008).

O inchamento dos polímeros superabsorventes é dado pela relação entre a afinidade da molécula com o solvente aquoso e a sua elasticidade, a qual é limitada pela presença de ligações cruzadas. Ainda, tem-se a influência das cargas presentes na macromolécula (FLORY, 1953; KAZANSKII; DUBROVSKII, 2005).

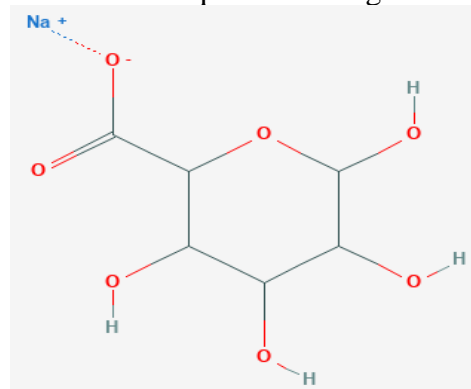
Os polímeros superabsorventes podem ser classificados em quatro categorias, baseado na ausência ou presença de cargas elétricas, aparência morfológica, mecanismo de absorção de água por meio de ligações físicas ou covalentes e, por último, pela composição química (MIGNON et al., 2017; ZOHURIAAN-MEHR; KABIRI, 2008). Vários tipos de hidrogéis têm sido estudados para proteção das bactérias em argamassa; nesta tese, foram utilizados dois tipos de hidrogéis, a quitosana e o alginato de sódio, para teste no encapsulamento de esporos.

### 1.6.1 Alginato de Sódio

Alginatos são polissacarídeos aniônicos, extensivamente estudados para aplicações biomédicas devido à sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e relativo baixo custo (LEE; MOONEY, 2012; SCOTT, 1968; TRENSON, 2017). O alginato é tipicamente extraído por meio do tratamento de alga marrom com uma solução aquosa alcalina, normalmente NaOH. Em seguida, para a precipitação do alginato, adiciona-se cloreto de sódio ou cálcio ao filtrado, nomeadamente os mecanismos de precipitação ácida ou básica, respectivamente (TRENSON, 2017). A Figura 8 mostra a estrutura da molécula de alginato de sódio (PUBCHEM, 2020).

Wang et al. (2014a, 2014b, 2015, 2018) tem avaliado a adição de bactérias encapsuladas em alginato de sódio, por meio da polimerização, para aplicação em argamassas. Nesta tese, foram avaliadas esferas de alginato de sódio produzidas pelo método de esferificação.

Figura 8 - Estrutura química do alginato de sódio



Fonte: PUBCHEM. National Library of Medicine. **Sodium alginate**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-alginate>>. Acesso em 13 mai 2020.

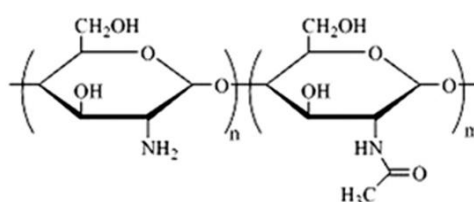
Esferificação consiste em moldar um líquido em pequenas esferas contidas em cápsulas de alginato por meio da técnica de gelificação reversa, e é um método que tem sido amplamente utilizado em cozinha molecular pela sua simplicidade e praticidade. Basicamente, o método se resume em gotejar dispersões contendo íons de cálcio em uma dispersão de alginato para formação de esferas (FARIAS; NOREÑA, 2019).

### 1.6.2 Quitosana

A quitosana é um copolímero linear de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose obtido a partir da desacetilação da quitina, um polímero natural encontrado no exoesqueleto de insetos, crustáceos e fungos, que é biocompatível e biodegradável (DASH et al., 2011; HIRANO et al., 1990). O tratamento da quitina com uma solução aquosa de NaOH 40-45% (m/v) a 90-120°C por 4-5 horas causa a sua desacetilação. As condições escolhidas determinam o peso molecular e grau de desacetilação da quitosana, os quais afetam as propriedades finais, tais como solubilidade, biodegradabilidade e viscosidade (CHO et al., 2000; DASH et al., 2011; KOFUJI et al., 2005; ZHANG; NEAU, 2001).

A estrutura da quitosana está indicada na Figura 9. A quitosana é classificada como um polímero termoplástico e pode ser processada por várias técnicas. Esferas de quitosana têm sido estudadas na indústria farmacêutica, visando a liberação de fármacos como amoxicilina e tetraciclina (KEAN; THANOU, 2010; SILVA; FIDELES; FOOK, 2015; SINHA et al., 2004).

Figura 9 - Estrutura da quitosana



Fonte: DASH, M. et al. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Sciences**, v. 36, p. 981-1014, 2011.

O método da gelificação ionotrópica para preparação de esferas de quitosana é simples, e consiste na ligação cruzada física por meio da interação eletrostática. Nesse processo, a quitosana é diluída em solução ácida; essa solução é então gotejada em solução básica, como por exemplo, tripolifosfato de sódio (TPP). O poliânion TPP então interage eletrostaticamente com a quitosana catiônica, causando a gelificação ionotrópica e a precipitação de quitosana na forma de esferas (DASH et al., 2011).

## Capítulo 2 Adição de Cápsulas de Quitosana em Argamassa

### 2.1 Introdução

O estudo da adição de cápsulas de quitosana em argamassa deve ser iniciado pela determinação da formulação a ser utilizada, a qual deve garantir a manutenção das propriedades reológicas, físicas e mecânicas da argamassa original. Conforme estabelecido na seção 1.1.4, a adição de componentes em formulações deve ser feita de forma cuidadosa, visto que novos vazios podem ser introduzidos, interferindo na distribuição granulométrica da formulação original, aumentando a porosidade e reduzindo a densidade, fluidez e resistência mecânica do material (OLIVEIRA et al., 2000).

Vários trabalhos avaliaram a adição de bactérias em argamassa, visando determinar sua influência nas propriedades do produto, utilizando diferentes tipos de cápsulas a fim de proteger os esporos (KHALIC; EHSAN, 2016; MAHMOD et al., 2021; REHMAN et al., 2022; ROY et al., 2020; SU et al., 2021; VAN TITTELBOOM et al., 2011; WANG; DE BELIE; VERSTRAETE, 2012; WANG J. et al., 2012, 2014a, 2014b, 2015; WANG X. et al., 2022; ZHANG et al., 2021). No entanto, nestes trabalhos, a adição das cápsulas é feita apenas sobre a formulação padrão, sem considerar seu efeito nas propriedades reológicas e mecânicas da argamassa.

A fim de contornar este problema, é possível realizar a compensação granulométrica, isto é, ao adicionar as cápsulas de quitosana, retira-se uma quantidade equivalente do agregado com distribuição granulométrica mais próxima à da esfera de quitosana. Ao realizar a compensação, garante-se a manutenção da distribuição granulométrica da formulação original e, desta forma, minimiza-se os efeitos da adição das cápsulas nas propriedades da argamassa.

Tais efeitos foram avaliados por MANOVA, onde são analisados os resultados individuais de cada formulação nas propriedades físicas e mecânicas avaliadas, e como resultado tem-se a indicação de uma ou mais formulações que tenham resultados estatisticamente diferentes das demais. O tipo de influência, positiva ou negativa, foi avaliado por testes estatísticos complementares, como ANOVAs individuais para cada propriedade, e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey (FIELD; MILES; FIELD, 2012).

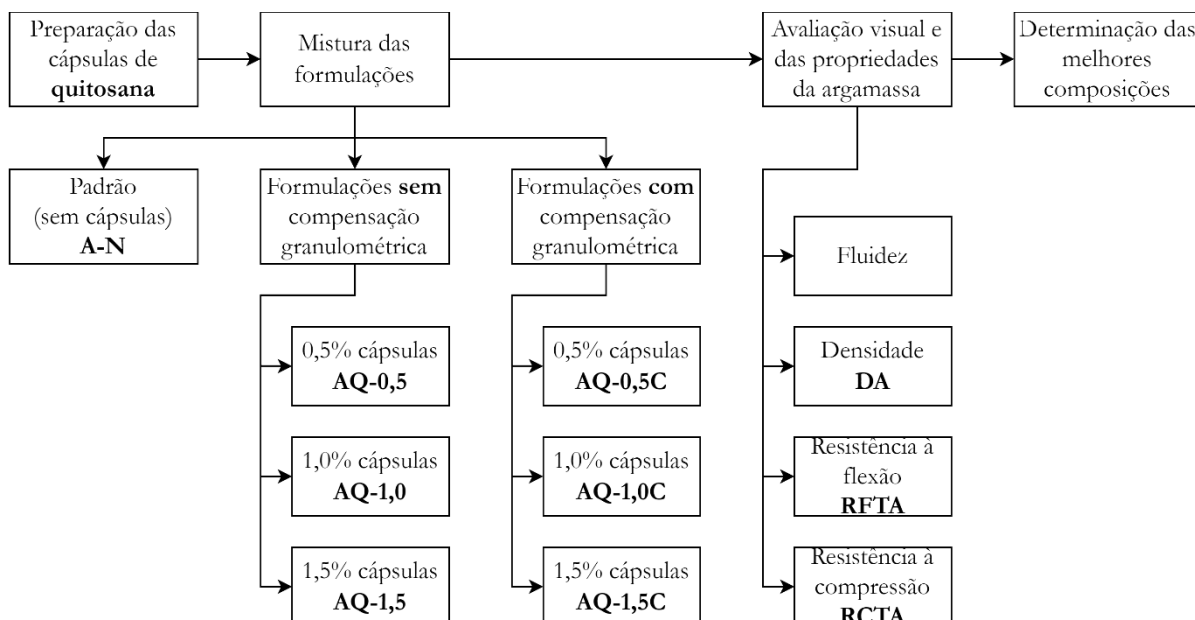
O objetivo deste capítulo foi avaliar a eficácia da adição de cápsulas de quitosana, preparadas por meio do método de gelificação ionotrópica, como potenciais portadores de bactérias em formulações de argamassa. No entanto, não foi realizada apenas a adição simples, mas também foi realizada a compensação granulométrica. Por meio de análise de variância

multivariada e demais testes estatísticos complementares, foi avaliada a influência nas propriedades do material fresco e endurecido, visando a manutenção das propriedades durante a aplicação e possível liberação de bactérias na ocasião de fissuras.

## 2.2 *Materiais e Métodos*

A Figura 10 ilustra os procedimentos adotados para o desenvolvimento do trabalho, visando selecionar as composições com inserção de cápsulas de quitosana que trouxeram os melhores resultados a partir da avaliação dos ensaios mecânicos, físicos e reológicos. O objetivo principal é afetar o menos possível as características/propriedades da argamassa padrão.

Figura 10 - Detalhamento da metodologia



Fonte: Própria autoria.

### 2.2.1 *Avaliação das Matérias-Primas*

Para a preparação das formulações de argamassa, utilizou-se cimento Portland CP-II E 25, do fornecedor Cauê, areia normal nas granulometrias Grossa, Média Grossa, Média Fina e Fina, do fornecedor IPT, conforme limites estabelecidos pela norma ABNT NBR 7214:2015, e as esferas de quitosana produzidas neste trabalho.

As faixas de areia normal e as cápsulas foram analisadas com relação às suas distribuições granulométricas, utilizando as malhas Tyler #7, 9, 10, 16, 32, 100, 200 e inferior

a 200, de modo a determinar qual faixa de areia tem a distribuição granulométrica mais próxima das cápsulas produzidas.

### 2.2.2 Síntese das Cápsulas de Quitosana

Para preparação das cápsulas de quitosana, foi utilizada quitosana 85% de grau de desacetilação (Polymar Ciência e Nutrição) e tripolifosfato de sódio grau técnico, do fornecedor Indústria Química Anastácio, com pureza mínima de 94%. As escolhas de matérias primas foram feitas tendo-se em mente o custo-benefício; optou-se pela utilização de materiais mais baratos para diminuir o custo de produção das cápsulas.

A solução de quitosana (QS) 2% (m/v) foi preparada por meio da adição do polímero em solução de ácido acético 1% (v/v), sob agitação mecânica, até completa dissolução. Essa solução foi gotejada em solução de tripolifosfato de sódio (TPP) 2% (m/v) para a formação das esferas. Após a precipitação, as esferas foram secas a 110°C durante 3 horas. As cápsulas obtidas estão demonstradas na Figura 11.

Figura 11 - Cápsulas de quitosana após secagem



Fonte: Própria autoria.

### 2.2.3 Formulações com Cápsulas de Quitosana

Foram preparadas formulações com a incorporação de 0,5%, 1% e 1,5% de cápsulas de quitosana sobre a massa de cimento adicionada, sem e com compensação granulométrica pela retirada da quantidade correspondente da areia grossa, cuja granulometria é mais próxima das cápsulas. As fórmulas com quitosana calculadas (AQ) estão relacionadas na Tabela 3, em



comparação à formulação padrão (A-N). Os percentuais de cápsulas adicionados estão indicados em cada caso, e as fórmulas com compensação possuem a indicação “C”.

Tabela 3 - Formulações de argamassa (em %) com cápsulas de quitosana

Componentes	Padrão	Sem compensação			Com compensação		
		granulométrica			granulométrica		
	A-N	AQ-0,5	AQ-1,0	AQ-1,5	AQ-0,5C	AQ-1,0C	AQ-1,5C
Cimento Portland							
CP-II-E	22,05	22,05	22,05	22,05	22,05	22,05	22,05
Água	11,81	11,81	11,81	11,81	11,81	11,81	11,81
Areia normal							
Grossa	16,54	16,54	16,54	16,54	16,43	16,32	16,21
Média Grossa	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54
Média Fina	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54
Fina	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54	16,54
Cápsulas	-	0,11	0,22	0,33	0,11	0,22	0,33

Fonte: Própria autoria.

#### 2.2.4 Avaliação das Propriedades da Argamassa

Os testes para verificação das propriedades da argamassa foram realizados com base nas normas ABNT NBR 7215:2019 e NBR 16738:2019. Para cada formulação, foram avaliadas as propriedades reológicas por meio da medida da fluidez. A argamassa foi colocada em mesa de fluidez, com cone de alumínio de diâmetro superior de 70 mm e diâmetro inferior de 100 mm. Após preenchimento do molde e compactação da argamassa, retirou-se o molde, aplicaram-se 25 batidas em 15 segundos, e foi medido o espalhamento do material com o paquímetro, conforme pode ser visualizado na Figura 12.

Em seguida, foram moldados corpos de prova prismáticos de 160x40x40 mm, sendo preparados três por idade (7, 28 e 91 dias). Após a desmoldagem, os corpos de prova foram mantidos em água até a determinação das propriedades físicas e mecânicas.

Figura 12 - Medida da fluidez da argamassa



Fonte: Própria autoria.

### 2.2.5 Análise Estatística

Na literatura há diversos trabalhos onde é realizada a avaliação mecânica dos corpos de prova de argamassa após a adição de cápsulas contendo bactérias (WANG et al., 2014b, 2015, 2018). No entanto, os modos de mistura e avaliação são diferentes do estabelecido pela norma ABNT NBR 16738:2019 utilizada como referência neste trabalho. Desta forma, os resultados diferenciam-se grandemente do observado: os resultados de resistência mecânica à compressão observados para a argamassa moldada seguindo a norma são de aproximadamente 22 MPa após 28 dias, enquanto os resultados encontrados na literatura variam de 40 – 70 MPa, os quais são mais próximos aos valores encontrados para concreto.

Assim, visto que a própria norma ABNT NBR 16738:2019 não especifica valores mínimos para resistência mecânica à flexão e à compressão, toda a avaliação estatística foi realizada levando em consideração os resultados obtidos para a formulação padrão estabelecida pela norma, considerada como referência. A formulação foi considerada como adequada ao atingir resultados estatisticamente iguais ou superiores aos observados para a formulação padrão.

A fim de determinar a formulação com o melhor conjunto de resultados, análise estatística foi realizada para as medidas de densidade absoluta (DA), resistência à flexão à temperatura ambiente (RFTA) e resistência à compressão à temperatura ambiente (RCTA) em cada idade (7, 28 e 91 dias). Foi realizada MANOVA com  $\alpha = 0,05$ . Os testes foram seguidos por ANOVAs individuais para cada propriedade, e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey (FIELD; MILES; FIELD, 2012).

## 2.3 *Resultados e Discussão*

### 2.3.1 *Caracterização das Matérias-Primas*

As distribuições granulométricas das faixas de areia normal e cápsulas de quitosana estão listadas na Tabela 4. Pode-se notar que as distribuições da areia grossa e as cápsulas são muito similares. Assim, para realizar a compensação granulométrica nas fórmulas de argamassa, é retirada da areia grossa a quantidade correspondente de cápsulas que estão sendo adicionadas. A compensação é extremamente importante pois, por meio da retirada de parte da areia grossa, consegue-se manter a distribuição granulométrica próxima à fórmula original e, desta forma, diminui-se quaisquer influências negativas geradas pela adição das cápsulas na composição.

Tabela 4 - Análise granulométrica acumulada das faixas de areia normal e das cápsulas

Malha (Tyler)	Abertura (mm)	Cápsulas	Areia Normal			
			Grossa	Média Grossa	Média Fina	Fina
7	2,80	3,03	0,00	0,00	0,00	0,00
9	2,00	21,21	15,40	0,00	0,00	0,00
10	1,70	40,40	41,36	0,00	0,00	0,00
16	1,00	100,00	99,73	34,52	0,00	0,00
32	0,50	100,00	99,84	99,59	25,38	0,00
100	0,15	100,00	99,84	99,59	99,75	96,66
200	0,075	100,00	99,89	99,73	99,75	100,00
Fundo	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Fonte: Própria autoria.

### 2.3.2 *Avaliação das Argamassas Contendo Esferas de Quitosana*

#### 2.3.2.1 Propriedades Reológicas

A Tabela 5 mostra os resultados encontrados para a fluidez para cada formulação preparada. Pode-se notar que, em um contexto geral, as fórmulas com compensação granulométrica apresentam valores de fluidez mais altos que as fórmulas sem compensação.

Ainda, as formulações AQ-0,5C e AQ-1,0C possuem valores muito próximos ao encontrado para a formulação normal, o que confirma que a compensação granulométrica é necessária para manter as propriedades originais da argamassa. A partir de 1,5% de adição de cápsulas, no entanto, nota-se que a fluidez é alterada, indicando um possível início de segregação.

**Tabela 5 - Fluidez encontrada para as formulações testadas**

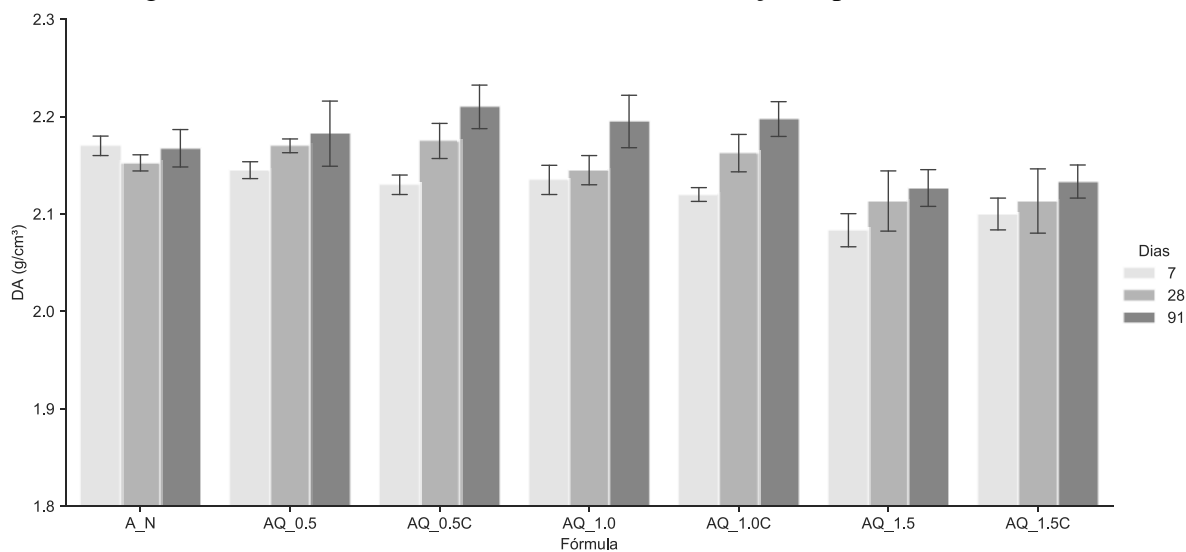
<b>Fórmula</b>	<b>Fluidez (mm)</b>
A-N	193,9 ± 0,7
AQ-0,5	188,3 ± 0,6
AQ-0,5C	193,1 ± 0,6
AQ-1,0	179,2 ± 1,2
AQ-1,0C	196,9 ± 0,9
AQ-1,5	182,3 ± 1,3
AQ-1,5C	186,1 ± 0,7

Fonte: Própria autoria.

### 2.3.2.2 Densidade Absoluta

A Figura 13 mostra o desenvolvimento da densidade absoluta de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).

**Figura 13 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias**



Fonte: Própria autoria.

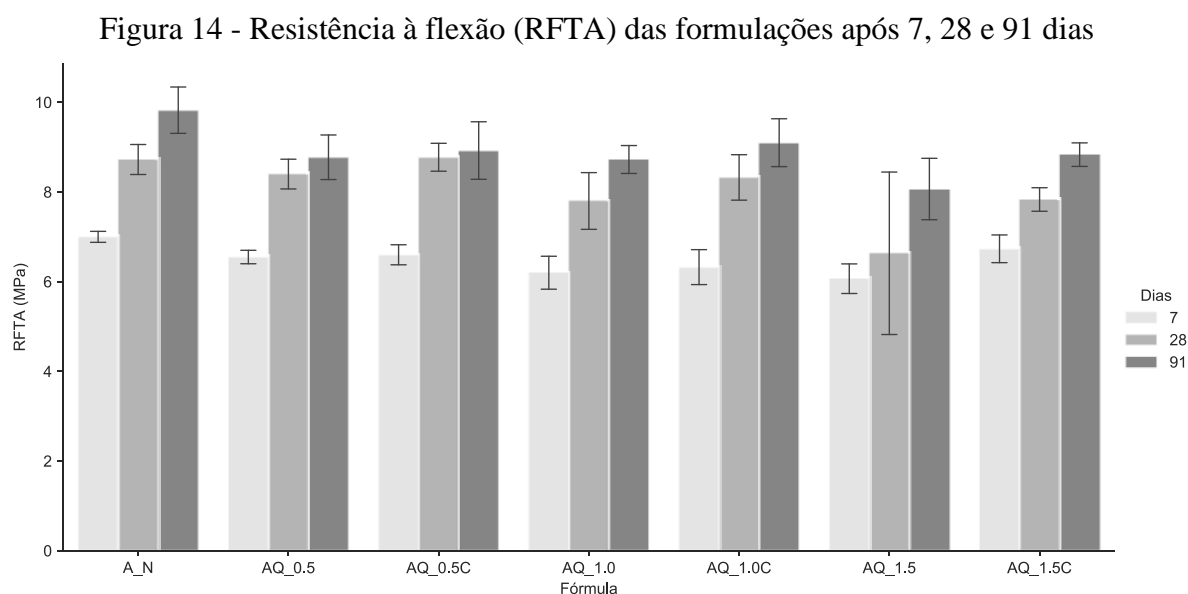
Conforme esperado, com o aumento da quantidade de cápsulas presentes na formulação, há uma redução no valor de DA devido à diferença de densidade entre a argamassa e a cápsula, especialmente nas idades iniciais.

Com relação ao tempo, pode-se observar que, para cada formulação contendo cápsulas de quitosana, há o aumento da densidade em cada idade, enquanto que, para a formulação normal, os valores tendem a permanecer próximos nas três idades avaliadas. A partir desta observação, é possível concluir que a adição de cápsulas tende a afetar a DA nas idades iniciais, enquanto as reações de hidratação estão sendo estabelecidas, porém a influência diminui ao longo do tempo.

Finalmente, é possível observar que formulações com teores similares de cápsulas também apresentam comportamentos similares, porém a compensação granulométrica resultou em corpos de prova com menor variabilidade dos resultados. Após os 91 dias, as formulações contendo 0,5% e 1,0% de cápsulas apresentaram resultados de densidade iguais ou superiores aos obtidos para a formulação normal.

### 2.3.2.3 Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

A Figura 14 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).



Fonte: Própria autoria.

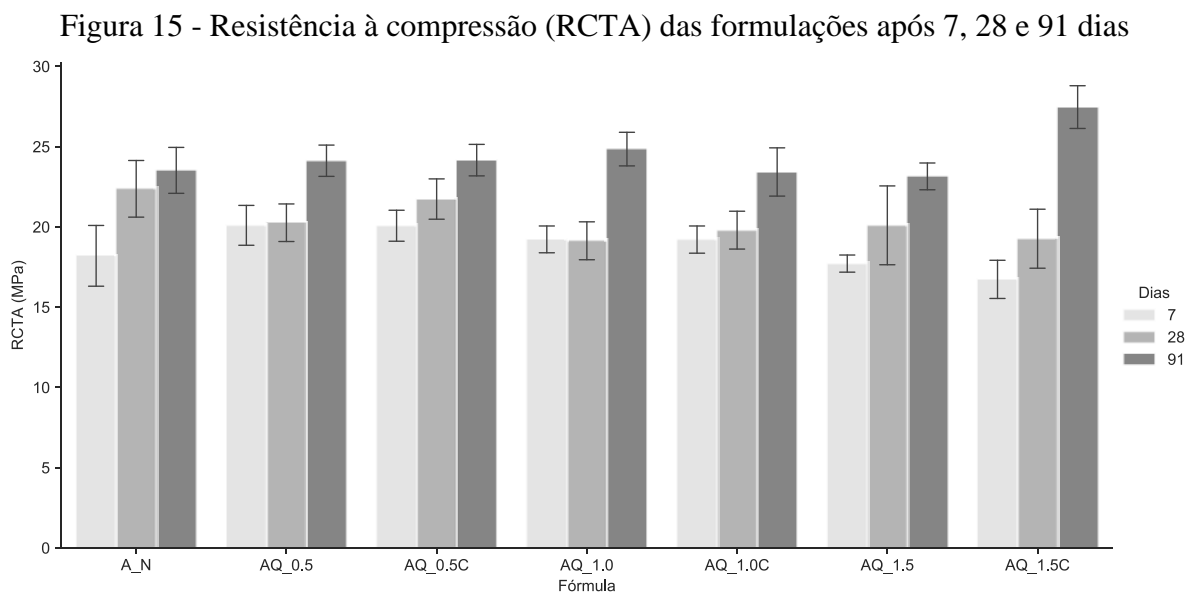
Nesta propriedade, pode-se notar que o valor de RFTA obtido para as formulações com cápsulas após 7 dias é ligeiramente inferior ao da formulação normal. No entanto, ao observar o comportamento ao longo do tempo, as formulações com cápsulas apresentam um salto no valor de RFTA após 28 dias, o qual tende a estabilizar após 91 dias. Já a formulação normal apresenta um desenvolvimento de resistência mais gradual ao longo do tempo, o que leva à conclusão de que a adição de cápsulas tem maior efeito nas idades iniciais, sendo menos relevante conforme as reações de hidratação são completas.

Aqui também é possível observar o efeito da compensação na variabilidade dos resultados. Mesmo após 28 dias, quando as reações já estão completas, a formulação AQ-1,5 ainda apresenta grande dispersão nos valores de RFTA obtidos, o que é resultado da segregação observada no teste de fluidez. Porém, a compensação granulométrica ajudou a controlar esta segregação na formulação AQ-1,5C.

Para esta propriedade, da mesma forma que com relação à densidade absoluta, as formulações com 0,5% e 1,0% de cápsulas apresentaram os valores mais próximos aos observados para a formulação padrão.

#### 2.3.2.4 Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

A Figura 15 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).



Fonte: Própria autoria.

Pode-se notar, da mesma forma que para a resistência à flexão, a adição de cápsulas tem maior efeito no valor de RCTA nas idades iniciais. Porém, neste caso, as resistências também tendem a ser inferiores após 28 dias, assumindo valores próximos ou superiores ao observado para a formulação normal apenas após 91 dias. Quanto maior o teor de cápsulas presente, menores são os valores observados para 7 e 28 dias, e maior o crescimento de resistência após 91 dias. Resumindo, quanto maior o teor de cápsulas presente, maior a influência na resistência à compressão dos corpos de prova enquanto as reações de hidratação ainda estão ocorrendo.

A formulação normal apresenta um desenvolvimento de resistência mais gradual ao longo do tempo e, ao contrário das formulações com cápsulas, o valor de RCTA tende a estabilizar após 28 dias.

O comportamento frente à compressão é similar à flexão com relação à variabilidade dos resultados das formulações sem compensação. A formulação AQ-1,5 ainda apresenta maior dispersão nos valores de RCTA obtidos em comparação às demais formulações, porém para esta propriedade a variabilidade é menor visto que a argamassa é um material mais resistente à compressão que à flexão, e a influência da segregação é ligeiramente menor. Ainda assim, a compensação resulta em corpos de prova mais consistentes.

Para esta propriedade, todas as formulações apresentaram os valores de compressão superiores aos observados para a formulação padrão, embora tenha sido necessário mais que 28 dias para observar este comportamento.

#### 2.3.2.5 Análise Estatística

Para todas as propriedades, observa-se que a adição de 1,5% de cápsulas, com ou sem compensação, acarreta maior variabilidade dos resultados, possivelmente pela maior possibilidade de segregação conforme indicado pelo teste de fluidez.

Os resultados obtidos para a MANOVA nas três propriedades após 7 dias utilizando o traço de Pillai indicaram efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos ( $V = 2,32$ ,  $F(18,42) = 8$ ,  $p < 0,05$ ). As formulações que apresentaram os melhores conjuntos de resultados após 7 dias foram AQ-0,5 e AQ-0,5C.

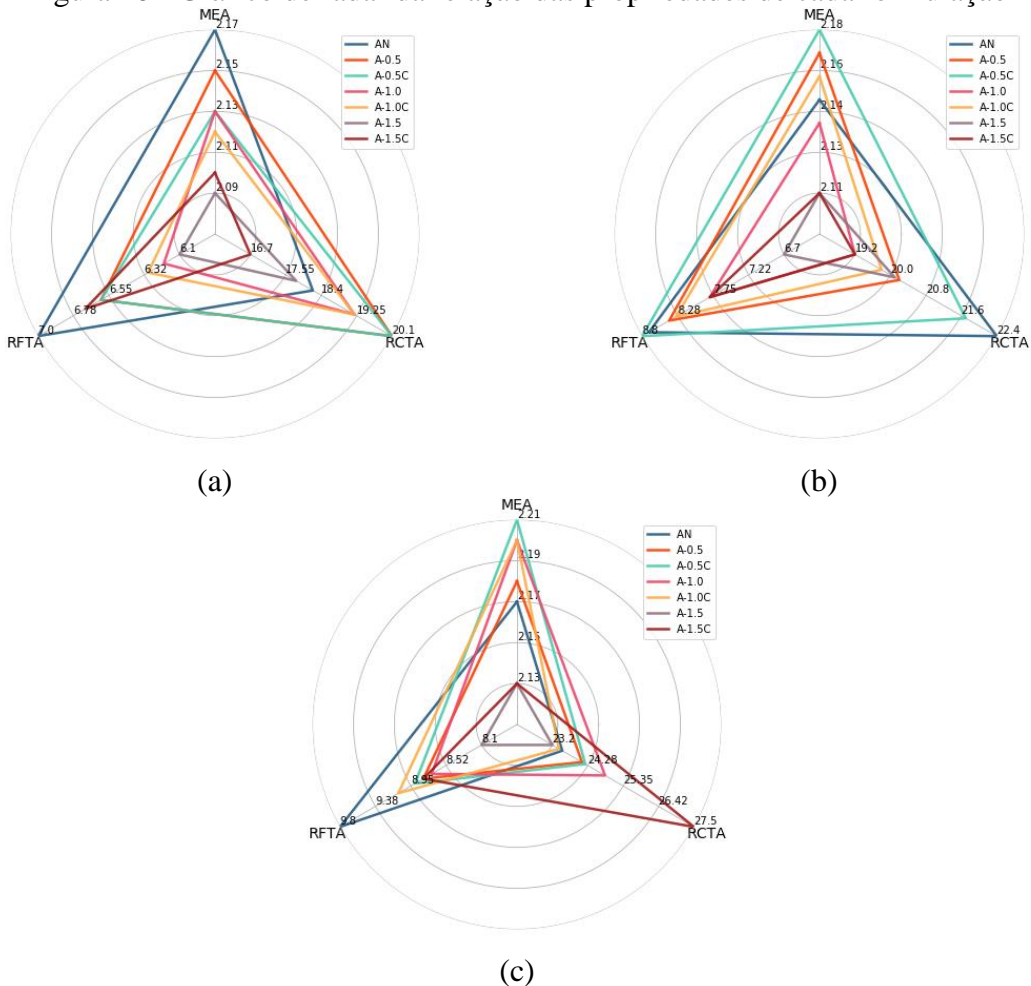
Após 28 dias, a MANOVA utilizando o traço de Pillai também indicou efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos ( $V = 1,55$ ,  $F(18, 42) = 3$ ,  $p < 0,05$ ). Nesta idade, as reações de hidratação do cimento já estão completas e o comportamento e influência da adição das cápsulas já é bem claro. As formulações AQ-1,5 e AQ-1,5C apresentaram desempenho inferior às demais após 28 dias, as formulações com adição de 0,5%

e 1,0% de cápsulas são equivalentes à formulação normal, principalmente se a compensação é realizada, garantindo que a influência das cápsulas seja a menor possível.

Após 91 dias, as reações de hidratação já estão totalmente consolidadas, e pode-se observar que as formulações com adição de 0,5% e 1,0% de cápsulas apresentam resultados muito similares à formulação normal, em todas as propriedades analisadas. Os resultados obtidos para MANOVA utilizando o traço de Pillai indicaram efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos ( $V = 2,28$ ,  $F(18, 42) = 7$ ,  $p < 0,05$ ). Nesta idade, apenas a formulação AQ-1,5 apresentou resultados inferiores às demais.

A Figura 16 mostra de forma gráfica o equilíbrio das propriedades físicas e mecânicas das formulações.

Figura 16 - Gráfico de radar da relação das propriedades de cada formulação



Fonte: Própria autoria.



Nesse gráfico, quanto maior o “triângulo” obtido pelo relacionamento das três propriedades, melhor o equilíbrio obtido em uma dada formulação. Para as formulações com 1,5% de cápsulas, nas três idades observadas, pode-se observar que o relacionamento das três propriedades não é regular, o que comprova a variabilidade observada nos gráficos já comentados nas seções anteriores e também o resultado da análise estatística a cada idade. Desta forma, os dados indicam que o início de segregação resultante da adição de 1,5% de cápsulas resulta em propriedades imprevisíveis e variáveis.

### **2.3 Conclusão**

Analisando-se os conjuntos de resultados, nas três idades avaliadas, pode-se observar que as formulações com cápsulas de quitosana que apresentaram os melhores resultados foram AQ-0,5, AQ-0,5C e AQ-1,0C. Fica claro, de acordo com testes realizados, que a compensação melhora os resultados obtidos em cada propriedade. Para duas formulações com o mesmo nível de adição de cápsulas, a compensação aumenta em até 7% a resistência mecânica à compressão do material após 28 dias. Quando comparadas com a formulação padrão (referência), tem-se ganhos de até 10% na resistência mecânica à compressão após 28 dias.

Quanto à reologia do material, por meio dos valores de fluidez observa-se que as formulações AQ-0,5C e AQ-1,0C apresentam resultados estatisticamente iguais aos observados para a formulação padrão. Ainda, quando comparadas às formulações com o mesmo nível de cápsulas, porém sem a compensação granulométrica, o ganho da fluidez fica em torno de aproximadamente 2,5% a 10%.

Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos e análise estatística detalhada realizada, recomenda-se a formulação AQ-0,5C, que foi a fórmula que apresentou os melhores conjuntos de resultados dentre os testes feitos, e a formulação AQ-1,0C, que também apresentou bons resultados e ainda acarreta maior concentração de cápsulas, o que pode ser benéfico para viabilizar a autocura. As formulações com 1,5% de cápsulas não foram consideradas nos capítulos seguintes, devido à variabilidade excessiva observada nos resultados analisados.

## **Capítulo 3 Adição de Cápsulas de Alginato de Sódio em Argamassa**

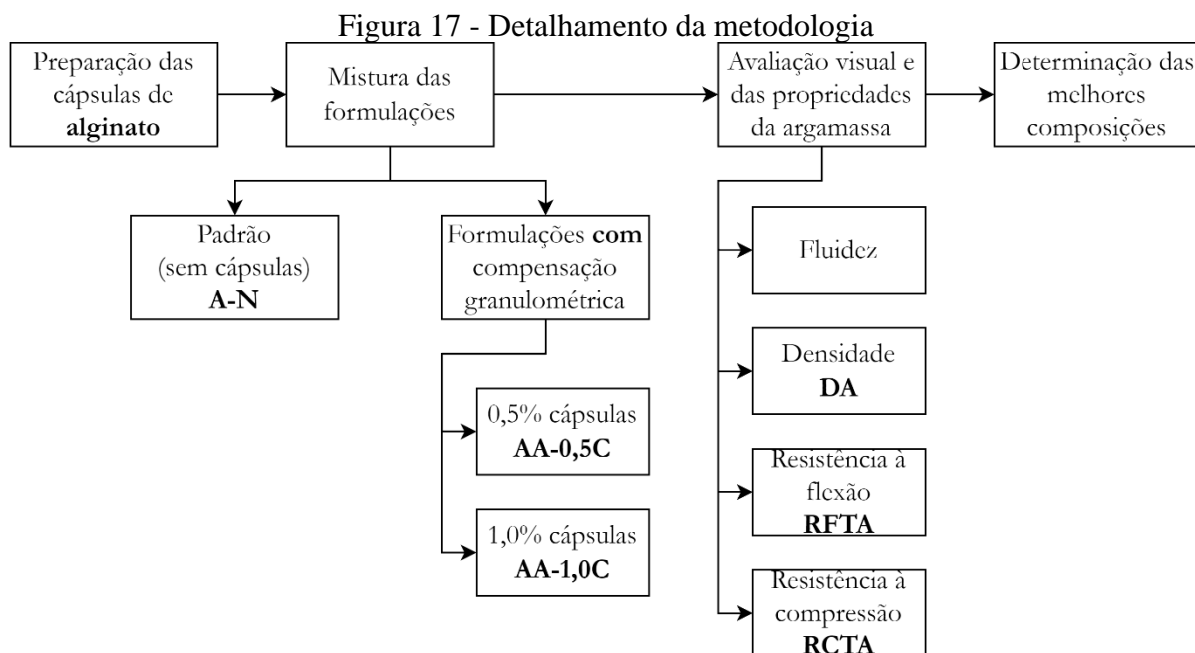
### **3.1 Introdução**

No capítulo anterior, foram determinadas as formulações ideais para adição de até 1% de cápsulas em argamassa, possibilitando a manutenção das propriedades da argamassa padrão. Como alternativa à utilização de quitosana, diversos trabalhos tem utilizado cápsulas de alginato de sódio, que é um material com processo de produção mais simples e com melhor custo benefício (REHMAN et al., 2022; ROY et al., 2020; SU et al., 2021; WANG J. et al., 2015; ZHANG et al., 2021). Visto que as cápsulas de quitosana, produzidas via gelificação ionotrópica, e as cápsulas de alginato de sódio, produzidas por esferificação, são idênticas no quesito morfologia e distribuição de partículas, é válido assumir que tais formulações permanecem aplicáveis quando são utilizadas as cápsulas de alginato de sódio em substituição às cápsulas de quitosana.

Neste capítulo, investigamos a eficácia de utilizar cápsulas de alginato de sódio, preparadas por meio do método de esferificação, como veículos para bactérias em formulações de argamassa. Ao adicionar as cápsulas, utilizou-se a compensação granulométrica para manter a distribuição granulométrica original da formulação. Utilizando a análise de variância multivariada e outros testes estatísticos complementares, avaliou-se a influência das cápsulas nas propriedades do material fresco e endurecido, buscando preservar essas propriedades durante o uso e permitir a liberação das bactérias em caso de fissuras.

### **3.2 Materiais e Métodos**

A Figura 17 ilustra os procedimentos adotados para o desenvolvimento do trabalho, visando selecionar, a partir da avaliação dos ensaios mecânicos, físicos e reológicos, as composições com inserção de cápsulas de alginato de sódio que trouxeram os melhores resultados, de modo a afetar o menos possível as características/propriedades da argamassa padrão.



Fonte: Própria autoria.

### 3.2.1 Síntese das Cápsulas de Alginato de Sódio

Foram utilizados alginato de sódio e cloreto de cálcio para preparação das esferas de alginato. A solução de alginato 2% (m/v) foi preparada por meio da adição aos poucos de alginato em um béquer contendo água destilada, sob agitação constante. A solução foi agitada por aproximadamente 1 h até completa homogeneização. Para preparação da solução de cloreto de cálcio 5% (m/v), o cloreto de cálcio foi adicionado em um béquer contendo água destilada, sob agitação constante, por 10 minutos até completa homogeneização.

Para preparação das esferas, a solução de alginato foi gotejada na solução de cloreto de cálcio. As esferas foram secas com auxílio de papel toalha, e em seguida em estufa com circulação de ar a 30°C por 48 h, até secagem completa.

### 3.2.2 Formulações com Cápsulas de Alginato de Sódio

Foram preparadas formulações com a incorporação de 0,5% e 1% de cápsulas de alginato de sódio sobre a massa de cimento adicionada, com compensação granulométrica pela retirada da quantidade correspondente da areia grossa, cuja granulometria é mais próxima das cápsulas. As fórmulas com alginato calculadas (AA) estão relacionadas na Tabela 6, em comparação à formulação padrão (A-N).

Tabela 6 - Formulações de argamassa com cápsulas de alginato de sódio *sem* bactérias

<b>Componentes</b>	<b>A-N</b>	<b>AA-0,5C</b>	<b>AA-1,0C</b>
Cimento Portland CP-II-E	22,05%	22,05%	22,05%
Água	11,81%	11,81%	11,81%
Areia normal			
Grossa	16,54%	16,43%	16,32%
Média Grossa	16,54%	16,54%	16,54%
Média Fina	16,54%	16,54%	16,54%
Fina	16,54%	16,54%	16,54%
Cápsulas	-	0,11%	0,22%

Fonte: Própria autoria.

### 3.2.3 Avaliação das Propriedades da Argamassa e Análise Estatística

Para a avaliação das propriedades da argamassa neste capítulo, foram realizados os mesmos ensaios do capítulo anterior, conforme detalhado nas seções 2.2.4 e 2.2.5.

## 3.3 Resultados e Discussão

### 3.3.1 Propriedades Reológicas

A Tabela 7 mostra os resultados encontrados para a fluidez para cada formulação preparada com cápsulas de alginato. Pode-se notar que todas as fórmulas apresentaram valores similares de fluidez, o material permaneceu trabalhável e coeso para todas as formulações investigadas.

Tabela 7 - Fluidez encontrada para as formulações com alginato

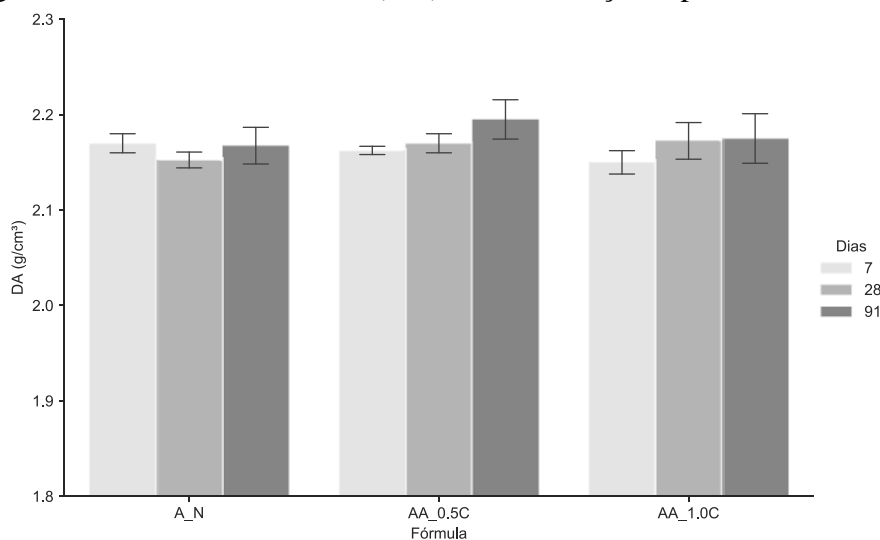
<b>Fórmula</b>	<b>Fluidez (mm)</b>
A-N	193,9 ± 0,7
AA-0,5C	190,4 ± 0,8
AA-1,0C	192,1 ± 1,0

Fonte: Própria autoria.

### 3.3.2 Densidade Absoluta

A Figura 18 mostra o desenvolvimento da densidade absoluta de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).

Figura 18 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias



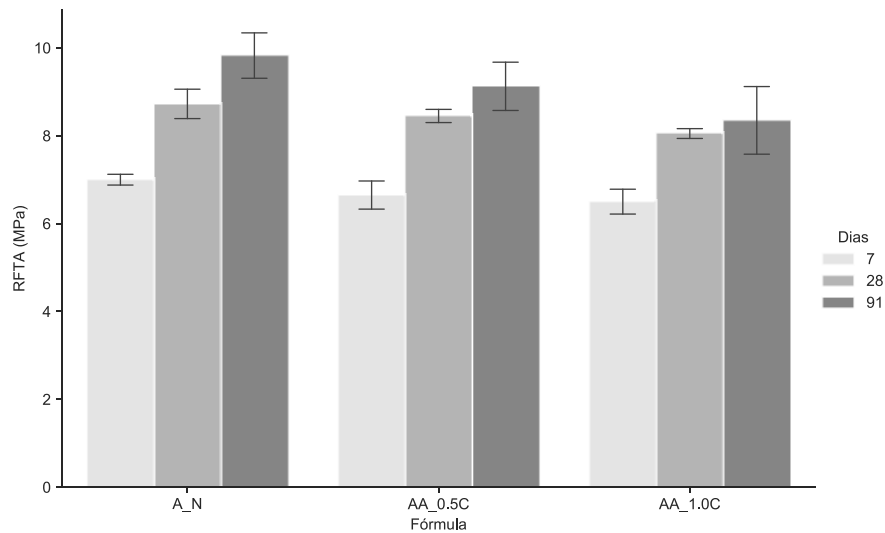
Fonte: Própria autoria.

Pode-se observar que os valores de densidade tendem a permanecer próximos nas três idades avaliadas, tanto para a formulação normal quanto para as formulações contendo cápsulas de alginato de sódio. Esses resultados indicam que há uma boa compatibilidade das cápsulas com a matriz cimentícia.

### 3.3.3 Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

A Figura 19 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias). Nesta propriedade, pode-se observar resistências mais baixas nas idades iniciais seguidas por um salto nos valores após 28 dias. Assim, pode-se concluir que a adição de cápsulas tem maior efeito nas idades iniciais, sendo menos relevante conforme as reações de hidratação são completas.

Figura 19 - Resistência à flexão (RFTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias

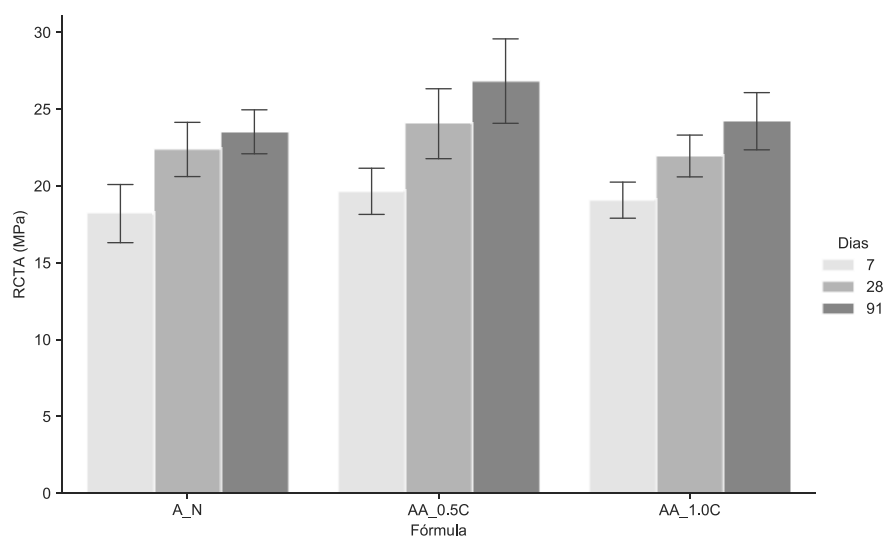


Fonte: Própria autoria.

### 3.3.4 Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

A Figura 20 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias). Pode-se notar, da mesma forma que para a densidade, a adição de cápsulas de alginato tem pouca influência no valor de RCTA nas idades iniciais. Essas fórmulas apresentam, da mesma forma que a formulação normal, um desenvolvimento de resistência mais gradual ao longo do tempo, atingindo valores médios de resistência iguais ou superiores ao observado para a formulação padrão.

Figura 20 - Resistência à compressão (RCTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias



Fonte: Própria autoria.

### 3.3.5 Análise Estatística

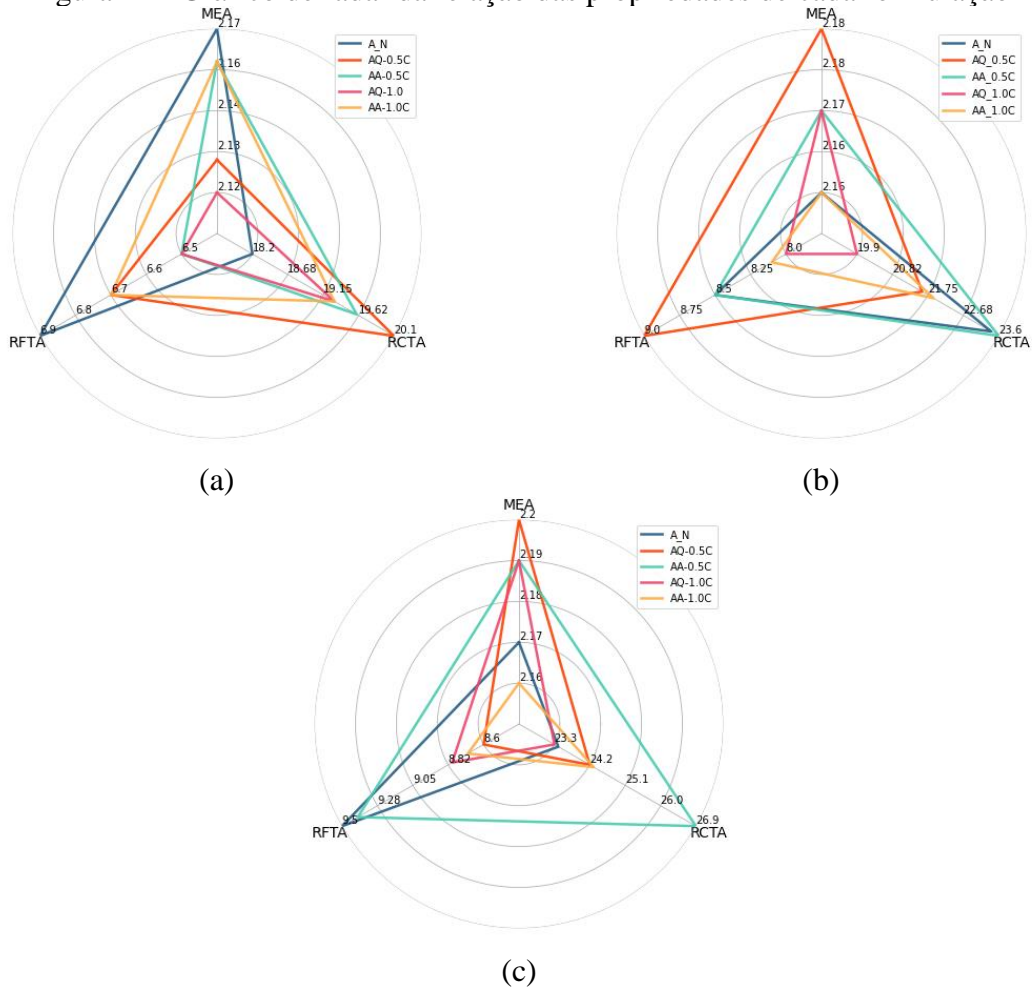
Os resultados obtidos para MANOVA nas três propriedades após 7 dias utilizando o traço de Pillai indicaram que não há efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 0,74$ ,  $F(6, 10) = 4$ ,  $p = 0,48$ , comprovado pela realização ANOVAs individuais para cada propriedade (DA [ $F(2, 6) = 1,4$ ,  $p = 0,317$ ], RFTA [ $F(2, 6) = 3,5$ ,  $p = 0,098$ ], RCTA [ $F(2, 6) = 2,9$ ,  $p = 0,129$ ]). As formulações contendo cápsulas apresentaram resultado estatisticamente igual à formulação normal, indicando que não há prejuízo das propriedades desde que seja realizada a compensação granulométrica ao realizar a adição das cápsulas.

Após 28 dias, a MANOVA utilizando o traço de Pillai também não indicou efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 1,10$ ,  $F(6, 10) = 3$ ,  $p = 0,15$ . ANOVAs individuais e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey indicaram que não há efeito significativo da formulação nos valores de DA [ $F(2, 6) = 0,58$ ,  $p = 0,587$ ] e RCTA [ $F(2, 6) = 2,84$ ,  $p = 0,136$ ], porém há efeito significativo nos valores observados de RFTA [ $F(2, 6) = 8,65$ ,  $p < 0,05$ ]. Após 28 dias, as formulações contendo cápsulas de alginato apresentaram resistência à flexão apenas ligeiramente inferior à formulação normal, porém as demais propriedades permaneceram no mesmo nível.

Após 91 dias, os resultados obtidos para MANOVA utilizando o traço de Pillai indicaram efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 1,32$ ,  $F(6, 10) = 3$ ,  $p < 0,05$ . ANOVAs individuais e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey indicaram que não há efeito significativo da formulação nos valores de DA [ $F(2, 6) = 1,03$ ,  $p = 0,413$ ] e RFTA [ $F(2, 6) = 2,76$ ,  $p = 0,141$ ], porém há efeito significativo para a RCTA [ $F(2, 6) = 7,21$ ,  $p < 0,05$ ] após 91 dias. Nesta idade, a formulação com os melhores conjuntos de resultados foi AA-0,5C.

Da mesma forma que na seção 2.3.2.5 do capítulo anterior, a Figura 21 mostra de forma gráfica o equilíbrio das propriedades físicas e mecânicas das formulações contendo cápsulas de alginato de sódio, comparativamente à formulação normal e também às formulações com cápsulas de quitosana de percentual equivalente. Pode-se notar claramente que a formulação AA-0,5C tem o melhor conjunto de resultados após 91 dias, comprovando o resultado obtido na análise estatística desta idade.

Figura 21 - Gráfico de radar da relação das propriedades de cada formulação



(a) Após 7 dias

(b) Após 28 dias

(c) Após 91 dias

Fonte: Própria autoria.

### 3.4 Conclusão

Analisando-se os conjuntos de resultados, nas três idades avaliadas, pode-se observar que as formulações com cápsulas de alginato apresentaram resultados estatisticamente iguais ou superiores aos observados para a formulação padrão. Fica claro, de acordo com testes realizados, que a compensação é fundamental para manter as propriedades esperadas da argamassa. Após 91 dias, as formulações com cápsulas apresentaram ganhos de resistência mecânica de até 15%.

Quanto à reologia do material, por meio dos valores de fluidez observa-se que as formulações apresentam resultados estatisticamente iguais aos observados para a formulação padrão. Portanto, fica comprovado que a compensação granulométrica auxilia a manutenção das propriedades, por meio da manutenção da distribuição original da formulação de referência.



Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos e análise estatística detalhada realizada, as cápsulas de alginato de sódio são indicadas para o encapsulamento de bactérias, visando a autocura do concreto mediante ocorrência de fissuras.

## Capítulo 4 Adição de Bactérias Encapsuladas em Argamassa

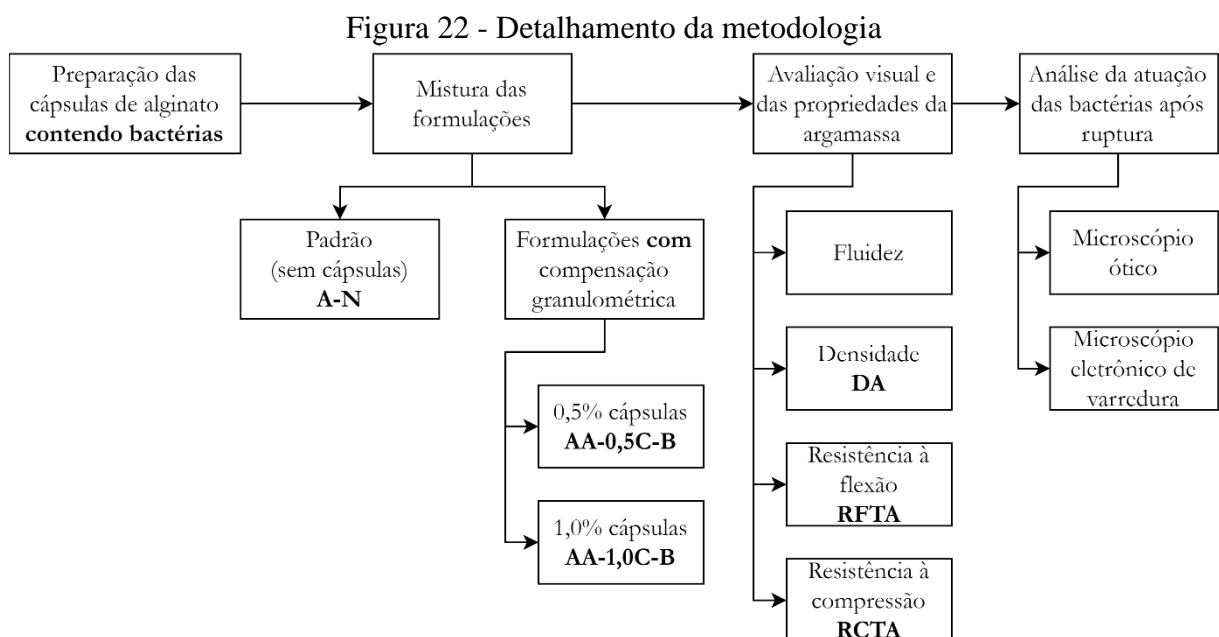
### 4.1 Introdução

Os capítulos anteriores abordaram com detalhes a elaboração das formulações ideais para adição das cápsulas de quitosana e alginato de sódio, possibilitando que até 1% de cápsulas sejam adicionadas sem prejudicar as propriedades do material.

Este capítulo teve como objetivo avaliar o uso de cápsulas de alginato de sódio, preparadas por meio de esferificação, como portadoras de bactérias em formulações de argamassa, e a liberação das bactérias mediante ocorrência de fissuras. A análise de variância multivariada e outros testes estatísticos foram utilizados para avaliar a influência nas propriedades do material fresco e endurecido, visando garantir a manutenção das propriedades durante a aplicação. Além disso, foi estudada a atuação das bactérias após sua liberação, sua interação com a matriz cimentícia e a produção de carbonato de cálcio como resultado do seu processo metabólico.

### 4.2 Materiais e Métodos

A Figura 22 ilustra os procedimentos adotados para encapsular bactérias em esferas de alginato, incorporá-las em argamassa, e avaliar as propriedades de vedação das fissuras.



Fonte: Própria autoria.

#### 4.2.1 *Cultivo e Esporulação das Bactérias*

O *Lysinibacillus sphaericus* ATCC14577 utilizado nos experimentos foi obtido da Coleção de Culturas Tropical da Fundação André Tosello Pesquisa e Tecnologia. A cepa foi incubada em meio TSB (*Tryptone Soya Broth*) por 24 horas sob agitação (130 rpm) (Shaker TE-420, Tecnal) à 28 °C para a reativação. Em seguida 150 µL do inóculo foi transferido para placas de 150 mm de diâmetro contendo ágar nutriente (20 g/L), ureia (10 g/L) e bicarbonato de sódio (2,12 g/L), autoclavado por 15 minutos a 121°C de acordo com Pungrasmi (2019), com modificações. As placas foram incubadas a 28 °C por 6 dias. A formação de esporos foi acompanhada diariamente por meio da observação de lâminas utilizando a coloração de Wirtz-Conklin (Microscópio óptico, Quimis).

Posteriormente, as placas foram lavadas com água destilada estéril e a solução contendo os esporos foi transferida para um tubo de fundo cônico. O tubo contendo a suspensão foi centrifugado por 20 minutos a 3500 rpm (Centrifuga CT-5000, Cientec). Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado, o precipitado ressuspenso em água destilada estéril. Em seguida, o tubo foi incubado em banho de gelo por 30 minutos, seguido de 20 minutos em banho a 80 °C e 5 minutos em gelo. A suspensão foi centrifugada novamente por 20 minutos a 3500 rpm, o sobrenadante descartado, o precipitado ressuspenso em água destilada estéril. A concentração da suspensão foi ajustada para  $10^8$  células/mL (Abs 600 nm) (Espectrofotômetro DU-800, Beckman) e o tubo armazenado a 4°C para uso posterior.

#### 4.2.2 *Síntese das Cápsulas de Alginato de Sódio Contendo Bactérias*

Para o preparo das esferas preparou-se solução aquosa de alginato a 2% (m/v) sob agitação mecânica à temperatura ambiente. Após a dissolução, foram adicionados 20 mL da solução contendo esporos ( $10^8$  células/mL). A solução obtida foi gotejada em uma solução de cloreto de cálcio 5 % (m/v). As esferas foram lavadas com água destilada e em seguida foram secas a 30 °C em estufa com circulação de ar por 48 h.

#### 4.2.3 *Formulações com Cápsulas de Alginato de Sódio Contendo Bactérias*

Após a obtenção das cápsulas, elas foram adicionadas à formulação de argamassa na proporção de 0,5% e 1,0% (m/m) em relação à massa de cimento com compensação

granulométrica. As formulações receberam uma designação “-B” por utilizar cápsulas contendo bactérias conforme detalhado na Tabela 8.

Tabela 8 - Formulações de argamassa com cápsulas de alginato de sódio *contendo* bactérias

<b>Componentes</b>	<b>A-N</b>	<b>AA-0,5C-B</b>	<b>AA-1,0C-B</b>
Cimento Portland CP-II-E	22,05%	22,05%	22,05%
Água	11,81%	11,81%	11,81%
Areia normal			
Grossa	16,54%	16,43%	16,32%
Média Grossa	16,54%	16,54%	16,54%
Média Fina	16,54%	16,54%	16,54%
Fina	16,54%	16,54%	16,54%
Cápsulas	-	0,11%	0,22%

Fonte: Própria autoria.

#### 4.2.4 Avaliação das Propriedades da Argamassa

Os testes para verificação das propriedades da argamassa foram realizados com base nas normas ABNT NBR 7215:2019 e NBR 16738:2019.

Para cada formulação, foram avaliadas as propriedades reológicas por meio da medida da fluidez. A argamassa foi colocada em mesa de fluidez, com cone de alumínio de diâmetro superior de 70 mm e diâmetro inferior de 100 mm. Após preenchimento do molde e compactação da argamassa, retirou-se o molde, aplicou-se 25 batidas em 15 segundos, e foi medido o espalhamento do material com o paquímetro.

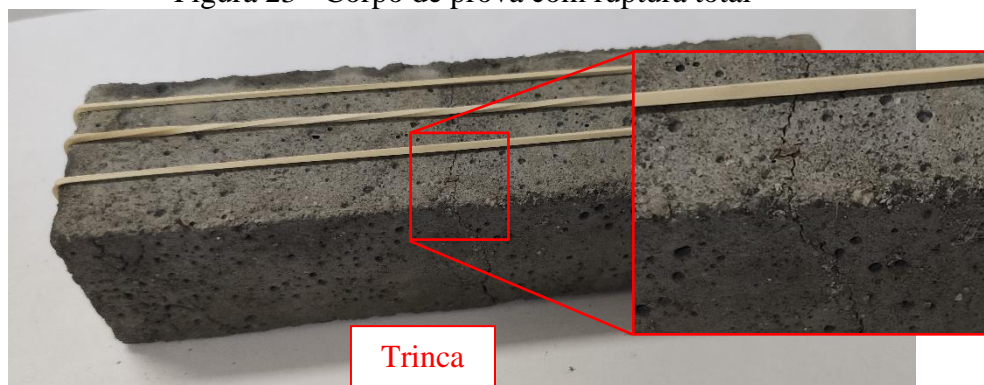
Em seguida, foram moldados corpos de prova prismáticos de 160x40x40 mm, sendo preparados três por idade (7, 28 e 91 dias). Após a desmoldagem, os corpos de prova foram mantidos em água até a determinação das propriedades físicas e mecânicas.

A fim de determinar a formulação com o melhor conjunto de resultados, análise estatística foi realizada para as medidas de densidade absoluta (DA), resistência à flexão à temperatura ambiente (RFTA) e resistência à compressão à temperatura ambiente (RCTA) em cada idade (7, 28 e 91 dias). Foi realizada MANOVA com  $\alpha = 0,05$ . Os testes foram seguidos por ANOVAs individuais para cada propriedade, e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey (FIELD; MILES; FIELD, 2012).

#### 4.2.5 Avaliação da Atividade Bacteriana

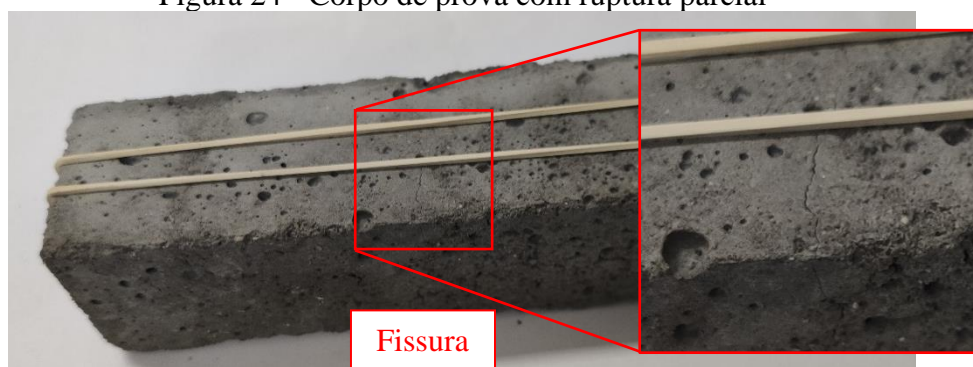
Além dos testes básicos, também foi realizado o acompanhamento visual para verificação de atividade na fissura. Para tal, foram preparados 2 corpos de prova de cada formulação em cada idade, nos mesmos moldes dos utilizados nos ensaios físicos e mecânicos. Para cada idade, um dos corpos de prova foi submetido à flexão até ruptura total, e o outro foi submetido à flexão apenas até que uma fissura pequena surgisse na base. Os dois corpos de prova foram em seguida mantidos em água e monitorados nos dias seguintes, as duas metades foram mantidas juntas utilizando elásticos no sentido longitudinal conforme exemplificado nas Figuras Figura 23 e Figura 24.

Figura 23 - Corpo de prova com ruptura total



Fonte: Própria autoria.

Figura 24 - Corpo de prova com ruptura parcial



Fonte: Própria autoria.

Após 20 dias, a região das trincas foi fotografada para avaliação; também foram obtidas imagens, via microscópio óptico, dos corpos de prova utilizando-se aumento de 65x, 160x, 250x e 500x.

### 4.3 Resultados e Discussão

#### 4.3.1 Propriedades Reológicas

A Tabela 9 mostra os resultados encontrados para a fluidez para cada formulação preparada com cápsulas de alginato contendo bactérias. Pode-se notar que todas as fórmulas apresentaram valores similares de fluidez, o material permaneceu trabalhável e coeso para todas as formulações investigadas.

Tabela 9 - Fluidez encontrada para as formulações com cápsulas com bactérias

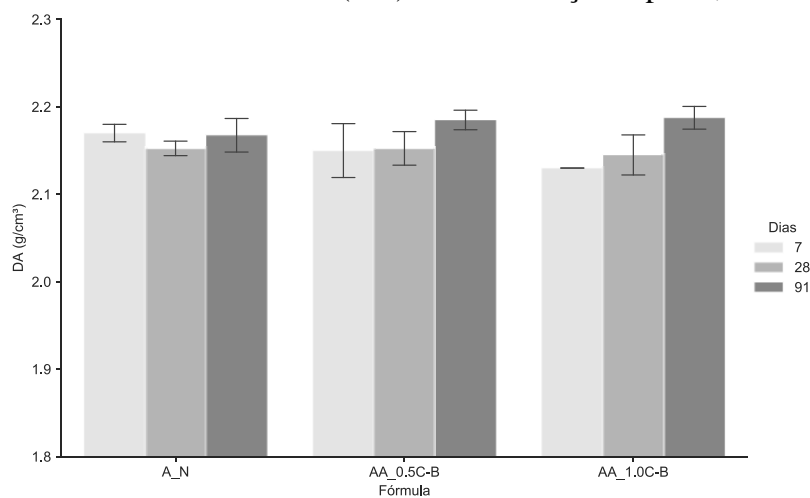
Fórmula	Fluidez (mm)
A-N	193,9 ± 0,7
AA-0,5C-B	190,4 ± 1,7
AA-1,0C-B	193,5 ± 2,5

Fonte: Própria autoria.

#### 4.3.2 Densidade Absoluta

A Figura 25 mostra o desenvolvimento da densidade absoluta de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).

Figura 25 - Densidade absoluta (DA) das formulações após 7, 28 e 91 dias



Fonte: Própria autoria.

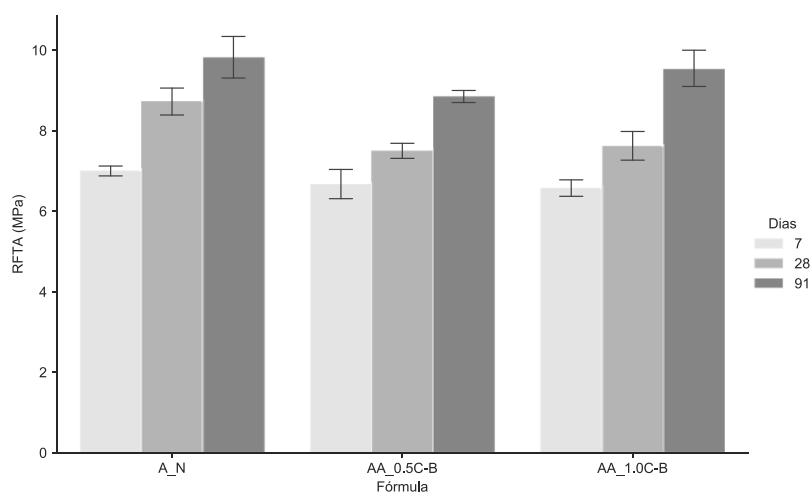
No gráfico, temos os valores de densidade da formulação padrão, e as formulações com 0,5% e 1,0% de adição de cápsulas, com bactérias. Em todas as formulações com cápsulas foi

realizada a compensação granulométrica a fim de manter a distribuição granulométrica original. Os valores médios obtidos para cada formulação, a cada idade, são similares, e o desenvolvimento da densidade é constante em todos os casos avaliados.

#### 4.3.3 Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

A Figura 26 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias).

Figura 26 - Resistência à flexão (RFTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias



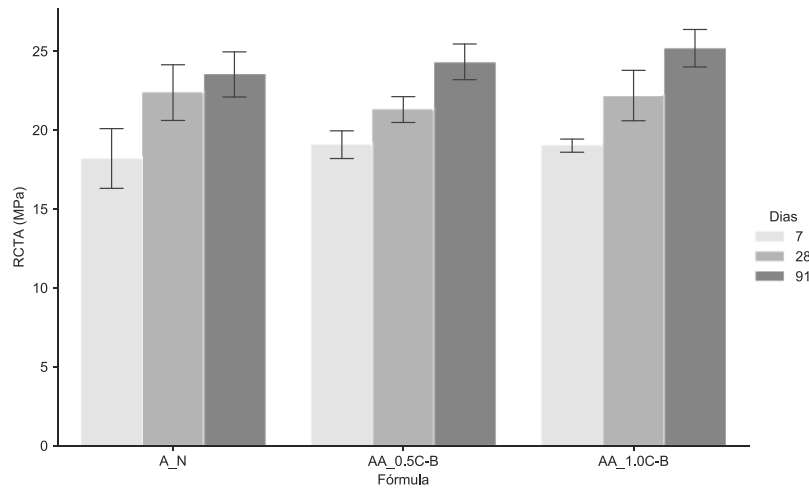
Fonte: Própria autoria.

Nesta propriedade, pode-se observar que, da mesma forma que para a densidade, o desenvolvimento da resistência acontece de forma constante e similar em todos os casos, sendo mais pronunciado de 28 para 91 dias no caso das formulações contendo cápsulas.

#### 4.3.4 Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

A Figura 27 mostra o desenvolvimento da resistência à flexão à temperatura ambiente de cada formulação, para cada idade avaliada (7, 28 e 91 dias). Pode-se notar, da mesma forma que para a resistência à flexão, que essas fórmulas apresentam um desenvolvimento de resistência mais gradual ao longo do tempo, atingindo valores médios de resistência iguais ou superiores ao observado para a formulação padrão.

Figura 27 - Resistência à compressão (RCTA) das formulações após 7, 28 e 91 dias



Fonte: Própria autoria.

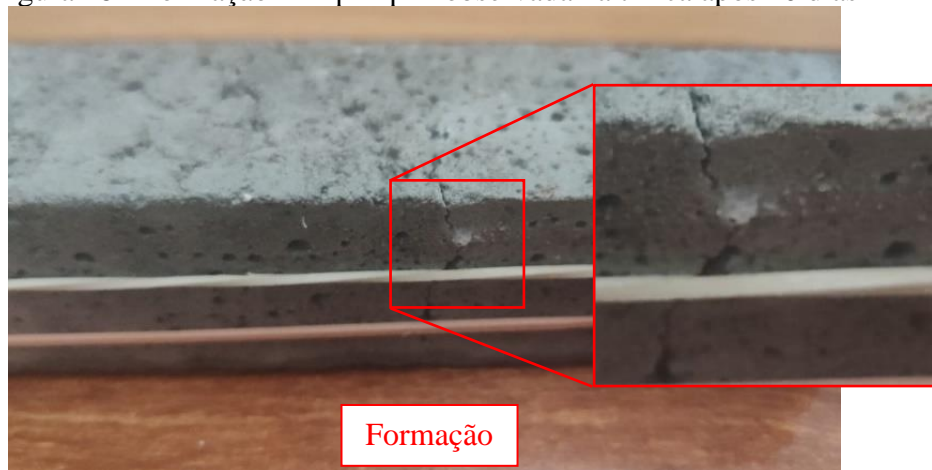
#### 4.3.5 Avaliação da Vedação das Fissuras

Para verificar se houve atividade bacteriana após a ocorrência de fissuras, foi realizado o acompanhamento visual dos corpos de prova após ruptura via flexão conforme procedimento detalhado na seção 4.2.5. Os corpos de prova foram mantidos em água após a ruptura e inspecionados após 20 dias, visto que o pico de atividades das bactérias é de 7-10 dias (LEE; PARK, 2018).

Por meio da inspeção visual, pode-se notar que aproximadamente 70% dos corpos de prova apresentaram formações desconhecidas surgidas a partir das trincas, parecidas com pós ou fibras, conforme Figuras Figura 28 e Figura 29. Como referência, a Figura 30 traz um exemplo de corpo de prova sem qualquer tipo de formação cristalina na região da fissura ou trinca. É importante ressaltar que as ocorrências foram observadas em todas as formulações, com 0,5% e 1% de cápsulas.

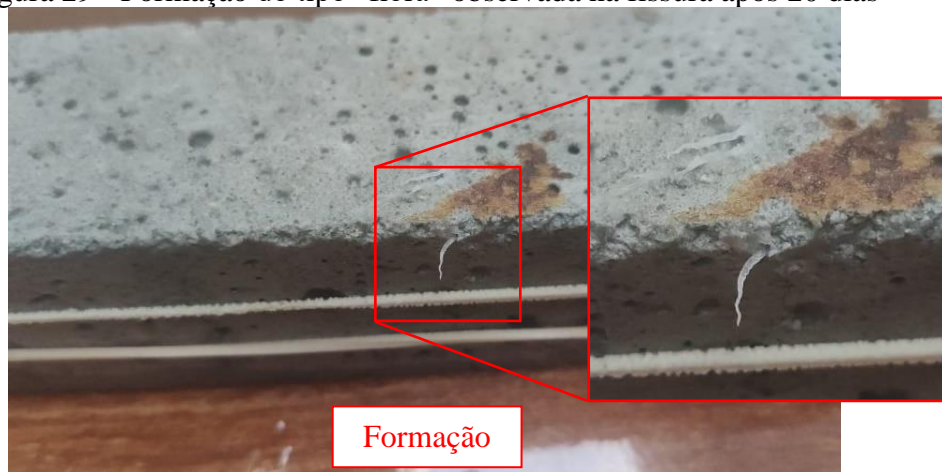


Figura 28 - Formação do tipo “pó” observada na trinca após 20 dias



Fonte: Própria autoria.

Figura 29 - Formação do tipo “fibra” observada na fissura após 20 dias



Fonte: Própria autoria.

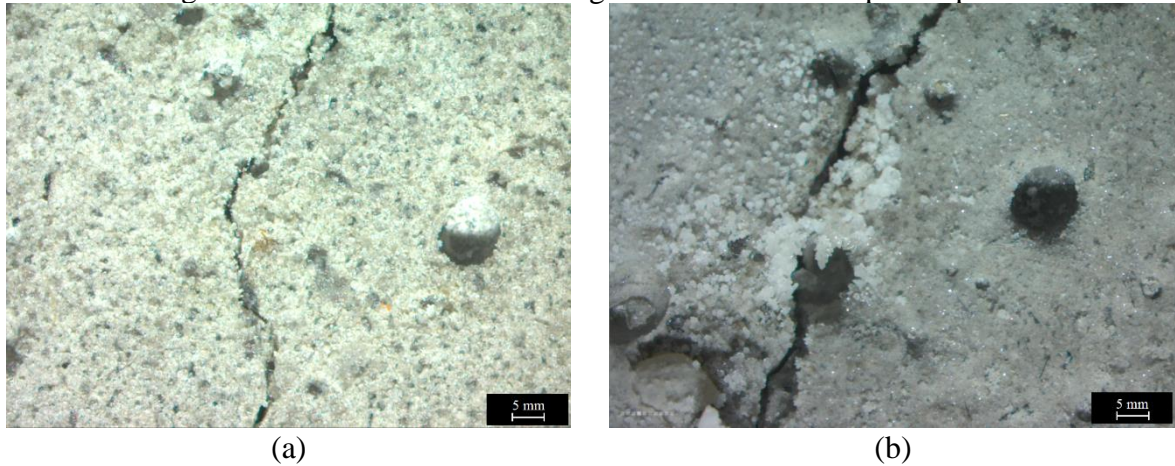
Figura 30 - Corpo de prova de referência



Fonte: Própria autoria.

A fim de visualizar com mais detalhes as formações observadas, os corpos de prova foram colocados em microscópio óptico com aumento de 65x a 500x. As Figuras Figura 31 a Figura 34 mostram, lado a lado, a trinca em um corpo de prova com formações cristalinas e a trinca no corpo de prova de referência.

Figura 31 - Aumento de 65x na região da trinca dos corpos de prova

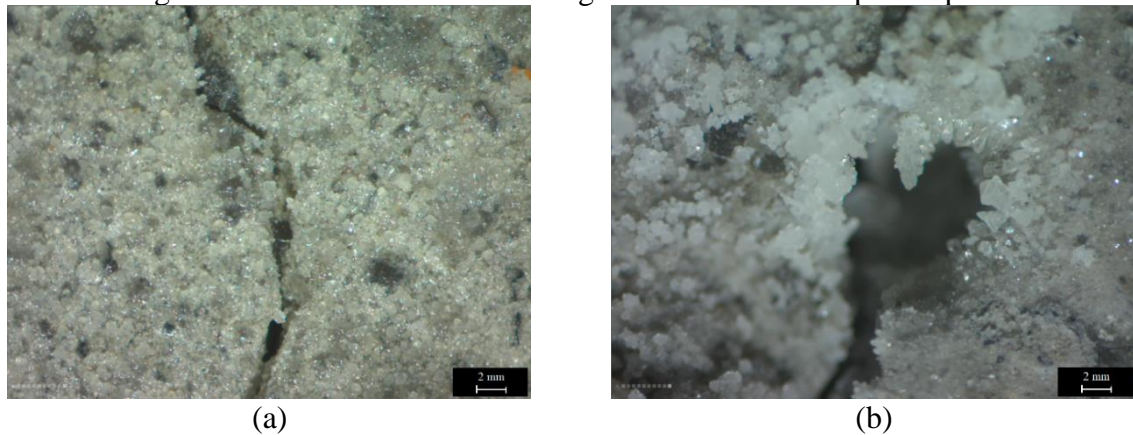


(a) Corpo de prova de referência

(b) Corpo de prova com formação cristalina

Fonte: Própria autoria.

Figura 32 - Aumento de 160x na região da trinca dos corpos de prova

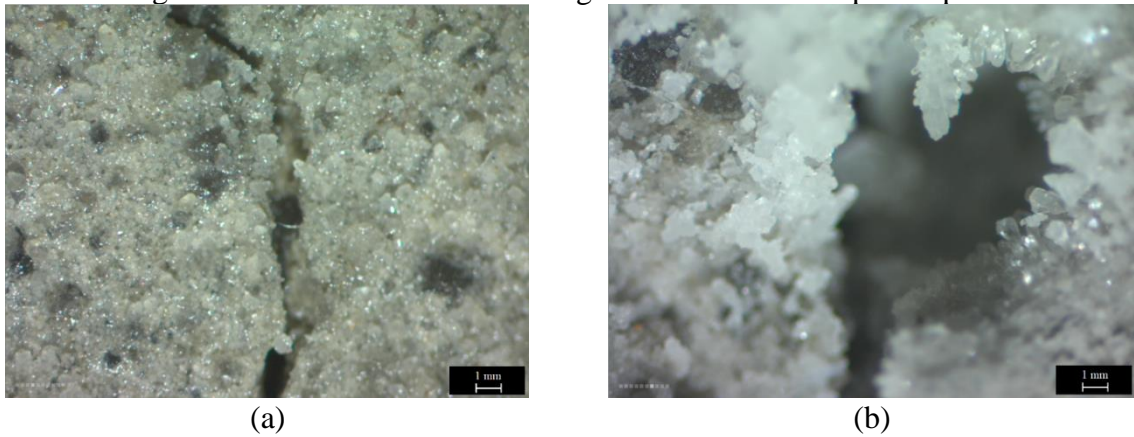


(a) Corpo de prova de referência

(b) Corpo de prova com formação cristalina

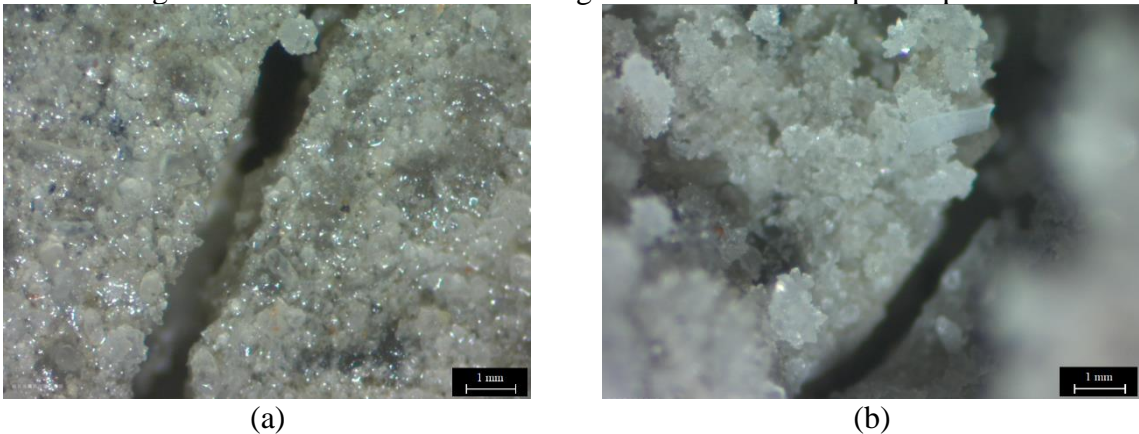
Fonte: Própria autoria.

Figura 33 - Aumento de 250x na região da trinca dos corpos de prova



- (a) Corpo de prova de referência  
 (b) Corpo de prova com formação cristalina  
 Fonte: Própria autoria.

Figura 34 - Aumento de 500x na região da trinca dos corpos de prova

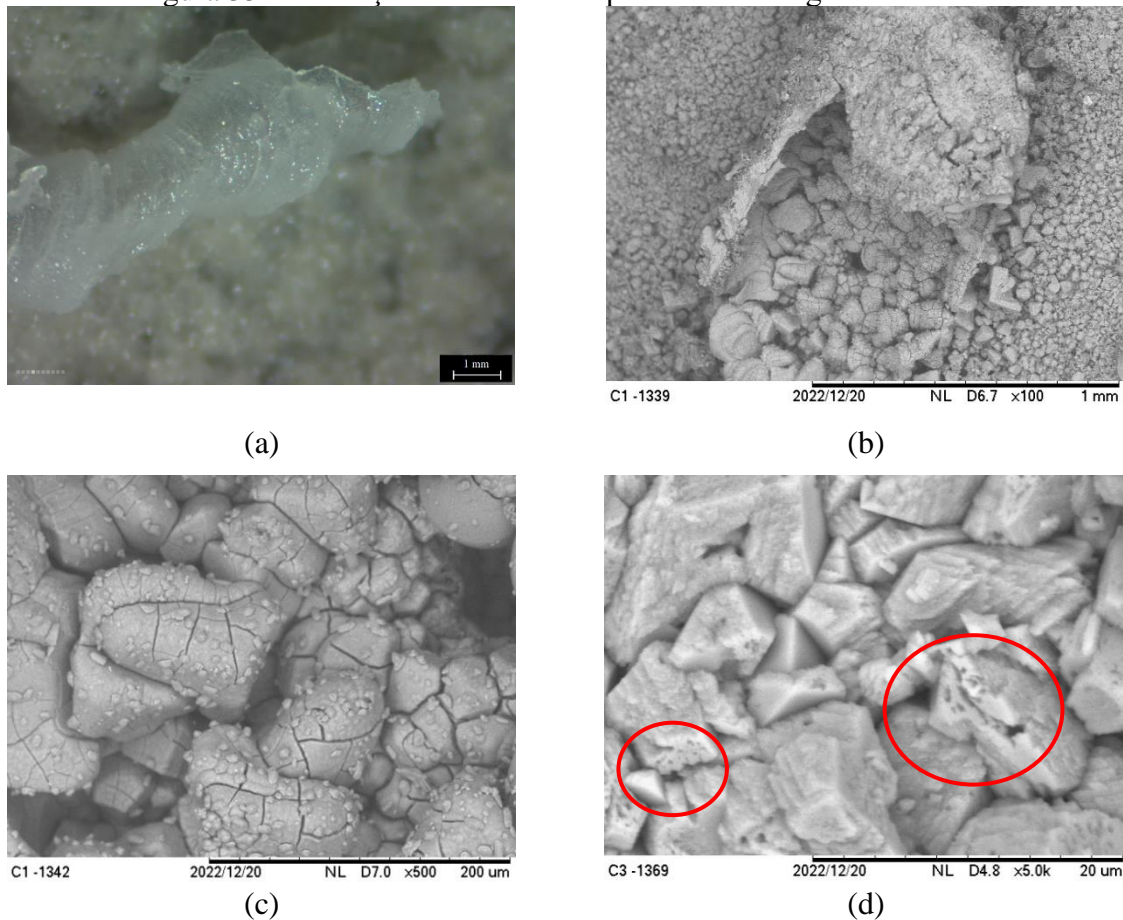


- (a) Corpo de prova de referência  
 (b) Corpo de prova com formação cristalina  
 Fonte: Própria autoria.

Observando as Figuras Figura 31 a Figura 34, fica clara a diferença entre um corpo de prova onde se observa uma formação cristalina e o corpo de prova de referência, resultado da ação das bactérias após a inserção de uma fissura ou trinca. Nesse trabalho, foram realizadas situações extremas, chegando à ruptura total do corpo de prova, para que fosse possível visualizar a ação das bactérias, se houvesse. Deve-se levar em conta que em uma estrutura não haveria trincas deste tamanho, mas sim microfissuras que poderiam ser preenchidas pela quantidade de carbonato de cálcio gerada pelas bactérias, conforme observado.

De forma a examinar mais a fundo a origem das formações cristalinas observadas nos corpos de prova, a Figura 35 mostra imagens geradas via microscópio ótico e microscópio eletrônico de varredura nas formações do tipo “fibra” mostradas na Figura 29.

Figura 35 - Formação cristalina do tipo “fibra” na região da fissura



(a) Aumento de 500x em microscópio ótico

(b) Aumento de 100x em MEV

(c) Aumento de 500x em MEV

(d) Aumento de 5000x em MEV

Fonte: Própria autoria.

Na Figura 35, é possível ver a ação das bactérias para produzir a formação cristalina observada, além da impressão deixada por elas nos cristais formados, similares ao mostrado na Figura 5 (DE MUYNCK et al., 2008). Assim, fica claro que tais formações foram, de fato, causadas pela ação bacteriana após a ruptura dos corpos de prova.

#### 4.3.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos para MANOVA nas três propriedades após 7 dias utilizando o traço de Pillai indicaram efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 1,55$ ,  $F(12, 30) = 2$ ,  $p < 0,05$ . ANOVAs individuais e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey mostraram que não há efeito significativo da formulação na DA [ $F(2, 6) = 2,40$ ,  $p = 0,172$ ] e RCTA [ $F(2, 6) = 3,74$ ,  $p = 0,088$ ], apenas na RFTA [ $F(2, 6) = 9,56$ ,  $p <$

0,05] onde podemos ver que a formulação AA-1,0C-B possui resistência apenas ligeiramente inferior.

Após 28 dias, a MANOVA utilizando o traço de Pillai não indicou efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 0,90$ ,  $F(12, 30) = 1$ ,  $p = 0,313$ . ANOVAs individuais e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey confirmaram que todas as formulações nesta idade são estatisticamente iguais à formulação A-N. Mais uma vez, todas as formulações estão estatisticamente iguais, observa-se uma indicação que a adição das cápsulas não é prejudicial às propriedades da argamassa.

Após 91 dias, os resultados obtidos para MANOVA utilizando o traço de Pillai indicaram efeito significativo da formulação no conjunto de resultados obtidos,  $V = 1,44$ ,  $F(12, 30) = 2$ ,  $p < 0,05$ . ANOVAs individuais e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey indicaram que não há efeito significativo da formulação nos valores de DA [ $F(2, 6) = 0,176$ ,  $p = 0,842$ ], porém há efeito significativo para a RFTA [ $F(2, 6) = 6,86$ ,  $p < 0,05$ ] e RCTA [ $F(2, 6) = 6,41$ ,  $p < 0,05$ ] após 91 dias, sendo que apenas a formulação A-N apresentou desempenho inferior nesta propriedade. Nesta idade, todas as formulações com cápsulas apresentaram resultados estatisticamente iguais ou superiores à formulação padrão.

#### **4.4 Conclusão**

Por meio deste trabalho foi possível comprovar a eficácia das esferas de alginato de sódio no encapsulamento e proteção de esporos na formulação de argamassas, e a liberação dos esporos mediante a ocorrência de fissuras. Aqui, foram realizadas circunstâncias extremas, com a ruptura total do corpo de prova. Porém, em situações normais, ao ocorrer pequenas fissuras é provável que será o suficiente para ativar as cápsulas, liberando as bactérias e selando as fissuras antes que possam evoluir para trincas mais catastróficas.

As cápsulas foram capazes de se manter íntegras após a mistura da argamassa, cumprindo seu papel de proteger os esporos dos esforços mecânicos aplicados durante a preparação, além dos calores das reações de hidratação. Após a ruptura dos corpos de prova, pode-se notar que após 10 dias há a formação de estruturas cristalinas que, após examinadas via microscópio ótico e microscópio eletrônico de varredura, foram comprovadas como resultado da ação bacteriana em contato com a matriz cimentícia.

Ainda, tomou-se os devidos cuidados para que a adição das cápsulas não afetasse as propriedades físicas, mecânicas e reológicas das argamassas, o que inviabilizaria sua aplicação em estruturas cimentícias. Analisando-se os conjuntos de resultados, nas três idades avaliadas,

pode-se observar que as formulações com cápsulas de alginato apresentaram resultados estatisticamente iguais ou superiores aos observados para a formulação padrão. Fica claro, de acordo com testes realizados, que a compensação é fundamental para manter as propriedades esperadas da argamassa.

Quanto à reologia do material, por meio dos valores de fluidez observa-se que as formulações apresentam resultados estatisticamente iguais aos observados para a formulação padrão. Portanto, fica comprovado que a compensação granulométrica auxilia a manutenção das propriedades, por meio da manutenção da distribuição original da formulação de referência.

## Capítulo 6 Considerações Finais

Ao adicionar cápsulas sobre a formulação de argamassas, deve-se sempre considerar seu efeito nas propriedades físicas, mecânicas e reológicas do material. A adição simples pode causar segregação, dependendo da distribuição granulométrica das cápsulas adicionadas, podendo resultar em diminuição da fluidez, aumento da porosidade, diminuição da densidade e resistência mecânica. Por meio da compensação granulométrica realizada neste trabalho, garantiu-se a manutenção da distribuição granulométrica da formulação original e, desta forma, minimizou-se os efeitos da adição das cápsulas nas propriedades da argamassa. Para duas formulações com o mesmo nível de adição de cápsulas, a compensação aumenta em até 7% a resistência mecânica à compressão do material após 28 dias. Quando comparadas com a formulação padrão (referência), tem-se ganhos de até 10% na resistência mecânica à compressão após 28 dias.

Esses efeitos foram medidos não apenas comparando os valores, mas também por meio da realização de MANOVA, e como resultado tem-se a indicação de uma ou mais formulações que tenham resultados estatisticamente diferentes das demais. O tipo de influência, positiva ou negativa, pode então ser avaliado por testes estatísticos complementares, como ANOVAs individuais para cada propriedade, e testes *post hoc* com correções de Bonferroni e de Tukey. Ficou comprovado estatisticamente que a compensação granulométrica é fundamental na manutenção das propriedades da argamassa, e possibilitou a adição de até 1% de cápsulas sem que haja impacto negativo no material produzido, havendo inclusive casos onde a otimização garantiu resistências mecânicas até 10% superiores à formulação padrão.

## Capítulo 7 Conclusões

A vedação de fissuras é um dos métodos mais diretos e práticos para diminuição da deterioração de estruturas, estendendo o tempo de serviço, reduzindo custos e frequência de manutenções, o que permite a obtenção de estruturas mais sustentáveis e a redução do impacto ambiental causado pela indústria civil. A utilização de bactérias encapsuladas misturadas à formulação possibilita a vedação das fissuras através do tratamento ativo, pela liberação de carbonato de cálcio em fissuras internas e externas. As formulações com adição das bactérias encapsuladas devem ser determinadas com cautela, de forma a não afetar negativamente as propriedades da argamassa padrão.

Nas duas primeiras etapas desta tese, ao avaliar as formulações com adição de cápsulas de quitosana e de alginato de sódio, as formulações com adição de 0,5% de cápsulas e com compensação granulométrica apresentaram os melhores conjuntos de resultados dentre os testes feitos. As formulações com adição de 1,0% de cápsulas também apresentaram bons resultados e ainda acarretam maior concentração de cápsulas, o que pode ser benéfico para viabilizar a autocura. A compensação granulométrica foi essencial na manutenção das propriedades da argamassa, ainda mais quando o nível de adição de cápsulas é de 1,0%. As formulações com 1,5% de cápsulas apresentaram variabilidade excessiva nos resultados analisados.

Na terceira etapa deste trabalho, foi possível validar a adição dos esporos de *Lysinibacillus sphaericus* em cápsulas de alginato de sódio em argamassa, e foi observado que as cápsulas cumpriram seu papel de proteger os esporos dos esforços mecânicos do processo de mistura e dos calores das reações de hidratação do cimento. Ainda, foi possível observar que elas liberaram as bactérias mediante a ocasião de fissuras e trincas, visto que houve formação cristalina apenas na região da trinca, e em nenhuma outra parte dos corpos de prova. O trabalho desenvolvido estabeleceu os fundamentos para trabalhos futuros, por meio da determinação dos níveis ideais de cápsulas, procedimento de preparação e avaliação do material após endurecimento e rompimento.



## Capítulo 8 Sugestões para Trabalhos Futuros

O objetivo deste trabalho foi ser um precursor para a avaliação da viabilidade da técnica de encapsulamento das bactérias em esferas de quitosana e alginato de sódio e sua adição em formulações de argamassa. Aqui, o foco foi em avaliar a influência da adição das cápsulas nas propriedades físicas, mecânicas e reológicas, fazendo ou não a compensação granulométrica das formulações, além de verificar se as cápsulas são capazes de proteger os esporos durante a mistura e liberá-los apenas mediante ocorrência de fissuras ou trincas.

Em trabalhos futuros, seria importante avaliar as seguintes variáveis:

- Comportamento das cápsulas em formulações de concreto, as quais contém agregados graúdos que podem danificá-las durante a mistura;
- Verificar se em corpos de prova de concreto a liberação dos esporos após a trinca ocorre da mesma forma;
- Verificar o comportamento das cápsulas em corpos de prova maiores;
- Verificar a variação da concentração das bactérias dentro das cápsulas, de forma a otimizar a autocura sem que seja necessário adicionar mais cápsulas à formulação;
- Realizar a avaliação das propriedades da argamassa em outros percentuais entre 0 e 1%, a fim de determinar o ponto de inflexão para otimização do equilíbrio entre propriedades e adição máxima de cápsulas.

## Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7214**: Areia normal para ensaio de cimento – Especificação. Rio de Janeiro, 2015.

\_\_\_\_\_. **NBR 7215**: Cimento Portland – Determinação da resistência à compressão de corpos de prova cilíndricos. Rio de Janeiro, 2019.

\_\_\_\_\_. **NBR 16738**: Cimento Portland – Determinação da resistência à compressão de corpos de prova prismáticos. Rio de Janeiro, 2019.

ACHAL, V.; MUKERJEE, A.; REDDY, M.S. Biogenic treatment improves the durability and remediates the cracks of concrete structures. **Construction and Building Materials**, v. 48, p. 1-5, 2013.

AHMED, I. et al. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 1117-1125, 2007.

ALTOUBAT, S.A.; LANGE, D.A. Creep, shrinkage, and cracking of restrained concrete at early age. **Materials Journal**, v. 98, n. 4, p. 323-331, 2001.

BAUER, L.A.F. **Materiais de Construção**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2019.

BISSONNETTE, B.; PIERRE, P.; PIGEON, M. Influence of key parameters on drying shrinkage of cementitious materials. **Cement and Concrete Research**, v. 29, n. 10, p. 1655-1662, 1999.

BLAISZIK et al. Self-healing polymers and composites. **Annual Review of Materials Research**, v. 40, p. 179-211, 2010.

CABRERA, J.G. Deterioration of concrete due to reinforcement steel corrosion. **Cement and Concrete Composites**, v. 18, n. 1, p. 47-59, 1996.

CASTANIER, S.; MÉTAYER-LEVREL, G.L.; PERTHUISOT, J-P. Ca-carbonates precipitation and limestone genesis – the microbiogeologist point of view. **Sedimentary Geology**, v. 126, p. 9-23, 1999.

CASTANIER, S.; MÉTAYER-LEVREL, G.L.; PERTHUISOT, J-P. Bacterial roles in the precipitation of carbonate materials. In: RIDING, R.E.; AWRAMIK, S.M. **Microbial sediments**. Berlim: Springer, 2000, p. 32-39.

CHO, Y.W. et al. Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. **Biomacromolecules**, v. 1, p. 609-614, 2000.

DASH, M. et al. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Sciences**, v. 36, p. 981-1014, 2011.

DE MUYNCK et al. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials - A review. **Cement and Concrete Research**, v. 38, p. 1005-1014, 2008.

EDVARSEN, C. Water permeability and autogenous healing of cracks in concrete. **Materials Research**, v. 96, n. 4, p. 448-454, 1999.

ERSAN, Y.C. et al. Self-protected nitrate reducing culture for intrinsic repair of concrete cracks. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, art. 1228, 2015.

FARIAS, Y.B.; NOREÑA, C.P.Z. Reverse encapsulation using double controlled gelification for the production of spheres with liquid light soy sauce-core. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 16, 2019.

FIELD, A.; MILES, J.; FIELD, Z. **Discovering Statistics Using R**. Sage: Londres, 2012.

FLORY, P.J. **Principles of Polymer Chemistry**. Nova York: Cornell University Press, 1 ed., 1953.

FOWLER, D.W. Polymers in concrete: a vision for the 21<sup>st</sup> century. **Cement Concrete and Composites**, v. 21, p. 449-452, 1999.

HAMMES, F.; VERSTRAETE, W. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 1, p. 3-7, 2002.

HIRANO, S. et al. Chitosan: a biocompatible material for oral and intravenous administration. **Progress in biomedical polymers**. New York: Plenum Press, p. 283-290, 1990.

HOBBS, D.W. Structural effects and implications and repair. In: **Alkali-silica reaction in concrete**, p. 73-87. Londres: Thomas Telford Publishing, 1988.

ISAIA, G. C. **Materiais de construção civil e princípios de ciência e engenharia de materiais**. Ibracon: São Paulo, 2017.

JONKERS, H. M. Self-healing concrete: A biological approach. **Self-healing Materials**, Springer, v. 100, p. 195-204, 2007.

JONKERS, H. M. et al. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 2, p. 230-235, 2010.

KABIRI, K. et al. Synthesis of fast-swelling superabsorbent hydrogels: effect of crosslinker type and concentration on porosity and absorption rate. **European Polymer Journal**, v. 39, n. 7, p. 1341-1348, 2003.

KAZANSKII, K.S.; DUBROVSKII, S.A. Chemistry and physics of "agricultural" hydrogels. In: **Polyelectrolytes Hydrogels Chromatographic Materials**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2005, p. 97-133.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 3-11, 2010.

- KHALIC, W. EHSAN, M. B. Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. **Construction and Building Materials**, v. 102, parte 1, p. 349-357, 2016.
- KOFUJI, K. et al. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. **European Polymer Journal**, v. 41, p. 2784-2791, 2005.
- LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106-126, 2012.
- LEE, Y. S.; PARK, W. Current challenges and future directions for bacterial self-healing concrete. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 7, p. 3059-3070, 2018.
- LI, C.V.; HERBERT, E. Robust self-healing concrete for sustainable infrastructure. **Journal of Advanced Concrete Technology**, v. 10, n. 6, p. 207-218, 2012.
- LI, M. et al. Bio-grout based on microbially induced sand solidification by means of asparaginase activity. **Scientific Reports**, v. 5, 2015.
- LI, M.; LI, V. C. Cracking and healing of engineered cementitious composites under chloride environment. **ACI Materials Journal**, v. 108, n. 3, p. 333-340, 2011.
- MAHMUD, K. et al. Bacteria based self-healing concrete: A review. **Journal of Engineering and Sustainable Development**, v. 25, p. 33-56, 2021.
- MARTIN, D. et al. Carbonate precipitation under pressure for bioengineering in the anaerobic subsurface via denitrification. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 15, p. 8692-8699, 2013.
- MEHTA, P. K.; MONTEIRO, P. J. M. **Concreto: Microestrutura, propriedades e materiais**. 2 ed., São Paulo: Ibracon, 674p., 2008.
- MIGNON, A. et al. Crack mitigation in concrete: superabsorbent polymers as key to success? **Materials**, v. 10, n. 3, p. 237, 2017.
- NEVILLE, A. M.; BROOKS, J. J. **Tecnologia do concreto**. 2 ed. São Paulo: Bookman Editora Ltda., 2010.
- NEVILLE, A. M. **Propriedades do concreto**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman Editora Ltda., 2016.
- NOSOUHIAN, F. MOSTOFINEJAD, M.; HASHEMINEJAD, H. Concrete durability improvement in a sulfate environment using bacteria. **Journal of Materials in Civil Engineering**, v. 28, n. 1, 2016.
- OLIVEIRA, I. R. et al. **Dispersão e empacotamento de partículas**. São Paulo: Fazendo Arte, 2000.

PARK, S-J. et al. Application of *Bacillus subtilis* 168 as a multifunctional agent for improvement of the durability of cement mortar. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1568-1574, 2012.

PEREZ, G. et al. A characterisation of cement pastes with innovative self-healing system based in epoxy-amine adhesive. **Cement and Concrete Composites**, v. 60, p. 55-64, 2015.

PUBCHEM. National Library of Medicine. **Sodium alginate**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-alginate>>. Acesso em 13 mai 2020.

PUNGRASMI, W; INTARASOONTRON, J.; JONGVIVATSAKUL, P.; LIKITLERSUANG, S. Evaluation of Microencapsulation Techniques for MICP Bacterial Spores Applied in Self-Healing Concrete. **Scientific Reports**, v. 9, n. 12484, 2019.

RAMACHANDRAN, S.K. **Remediation of concrete using micro-organisms**. Farmington Hills: American Concrete Structures, 2001.

REDDY, V.S.; SATYA, K.A.; RAO, M.V.S. A biological approach to enhance strength and durability in concrete structures. **International Journal of Advances in Engineering & Technology**, v. 4, n. 2, p. 392-399, 2012.

REHMAN, S.K.U. et al. A Biomineralization, Mechanical and Durability Features of Bacteria-Based Self-Healing Concrete—A State of the Art Review. **Crystals (Basel)**, v.12, n. 9, p. 1222, 2022.

RODRIGUEZ-NAVARRO, C. et al. Conservation of ornamental stone by *Myxococcus xanthus*-induced carbonate biomineralization. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 2182-2193, 2003.

ROY, R. et al. Encapsulation Techniques and Test Methods of Evaluating the Bacteria-Based Self-Healing Efficiency of Concrete: A Literature Review. **Nordic Concrete Research**, v. 62, n. 1, p. 63-85, 2020.

SCOTT, J. E. Periodate oxidation, pKa and conformation of hexuronic acids in polyuronides and mucopolysaccharides. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects**, v. 170, n. 2, p. 471-473, 1968.

SEIFAN, M; SAMANI, A. K.; BERENJIAN, A. Bioconcrete: next generation of self-healing concrete. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 6, p. 2591-2602, 2016.

SILVA, M.C.; FIDELES, T.B.; FOOK, M.V.L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2015.

SINHA, V.R. et al. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. Review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, n.1-2, p. 1-33, 2004.

SOURADEEP, G.; KUA, H. W. Encapsulation technology and techniques in self-healing concrete. **Journal of Materials in Civil Engineering**, v. 28, n. 12, 2016.

STOCKS-FISCHER, S.; GALINAT, J.K.; BANG, S.S. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, n. 11, p. 1563-1571, 1999.

SU, Y. et al. Exploring the coupled mechanism of fibers and bacteria on self-healing concrete from bacterial extracellular polymeric substances (EPS). **Cement and Concrete Composites**, v. 116, p. 103896, 2021.

TEBO, B. M. et al. Geomicrobiology of manganese (II) oxidation. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 9, p. 421-428, 2005.

TRENSON, G. **Application of pH responsive hydrogel encapsulated bacteria for self-healing concrete**. 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Ghent University, Gante, 2017.

VAN TITTELBOOM, K. et al. Use of bacteria to repair cracks in concrete. **Cement Concrete Research**, v. 6, n. 1, p. 157-166, 2010.

VAN TITTELBOOM, K. et al. Self-healing efficiency of cementitious materials containing tubular capsules filled with healing agent. **Cement and Concrete Composites**, v. 33, n. 4, p. 497-505, 2011

VAN TITTELBOOM, K.; DE BELIE, N. Self-healing in cementitious materials - a review. **Materials**, v. 6, n. 6, p. 2182-2217, 2013.

WANG, J.Y.; DE BELIE, N.; VERSTRAETE, W. Diatomaceous earth as a protective vehicle for bacteria applied for self-healing concrete. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 4, p. 567-577, 2012.

WANG, J.Y. et al. Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete. **Construction and Building Materials**, v. 26, n. 1, p. 532-540, 2012.

WANG, J. Y. et al. Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete. **Construction and Building Materials**, v. 68, p. 110-119, 2014a.

WANG, J.Y. et al. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. **Cement and Concrete Research**, v. 56, p. 139-152, 2014b.

WANG, J. et al. Application of modified-alginate encapsulated carbonate producing bacteria in concrete: a promising strategy for crack self-healing. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 1088, p. 1-14, 2015.

WANG, J. et al. A chitosan-based pH-responsive hydrogel for encapsulation of bacteria self-healing concrete. **Cement and Concrete Composites**, v. 93, p. 309-322, 2018.

WANG, X. et al. Use of recycled concrete aggregates as carriers for self-healing of concrete cracks by bacteria with high urease activity. **Construction and Building Materials**, v. 337, p. 127581, 2022.

WU, M.; JOHANNESSON, B.; GEIKER, M. A review: self-healing in cementitious materials and engineered cementitious composite as a self-healing material. **Construction and Building Materials**, v. 28, n. 1, p. 571-583, 2012.

YANG, Y. et al. Autogenous healing of engineered cementitious composites under wet-dry cycles. **Cement and Concrete Research**, v. 39, n. 5, p. 382-390, 2009.

ZHANG, H.; NEAU, S.H. In-vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation. **Biomaterials**, v. 22, p. 1653-1658, 2001.

ZHANG, X. et al. Effects of carrier on the performance of bacteria-based self-healing concrete. **Construction and Building Materials**, v. 305, p. 124771, 2021.

ZOHURIAAN-MEHR, M.J.; KABIRI, K. Superabsorbent polymer materials: a review. **Iranian Polymer Journal**, v. 17, n. 6, p. 451-477, 2008.

## Apêndice A – Análise Estatística – Capítulo 2

O algoritmo completo em R criado para análise estatística está disponível no repositório do GitHub no link: <https://github.com/carolmoraescruz/analise-estatistica-doutorado>. Abaixo estão listados os resultados da análise de variância multivariada (MANOVA) e análises de variância (ANOVA) individuais para cada idade, bem como os testes *post hoc* com correções de Bonferroni e Tukey.

### Análise Estatística Após 7 Dias

#### - MANOVA

```

              Df      Pillai    approx F    num Df    den Df      Pr(>F)
(Intercept)  1  0.99998      236333         3        12  < 2.2e-16 ***
Formula      6  2.31791         8         18        42  1.887e-08 ***
Residuals   14

```

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output A.1

#### - Densidade Aparente

#### ANOVA

```

              Df      Sum Sq      Mean Sq      F value      Pr(>F)
Formula      6  0.014362  0.0023937      14.36  2.89e-05 ***
Residuals   14  0.002333  0.0001667

```

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output A.2

#### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: SeteDias\$MEA and SeteDias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	0.50482	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	0.14533	1.00000	-	-	-	-
AQ_1.0	0.92326	1.00000	1.00000	-	-	-
AQ_1.0C	0.00660	0.92326	1.00000	0.50482	-	-
AQ_1.5	3.3e-05	0.00205	0.00660	0.00117	0.14533	-
AQ_1.5C	0.00039	0.04140	0.14533	0.02224	1.00000	1.00000

P value adjustment method: Bonferroni



**Output A.3****Teste Post Hoc com Correção de Tukey**

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = MEA ~ Formula, data = SeteDias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )	
AQ_0.5 - A_N == 0	-0.026667	0.010541	-2.530	0.22064	
AQ_0.5C - A_N == 0	-0.033333	0.010541	-3.162	0.07783	.
AQ_1.0 - A_N == 0	-0.023333	0.010541	-2.214	0.34693	
AQ_1.0C - A_N == 0	-0.050000	0.010541	-4.743	0.00452	**
AQ_1.5 - A_N == 0	-0.083333	0.010541	-7.906	< 0.001	***
AQ_1.5C - A_N == 0	-0.066667	0.010541	-6.325	< 0.001	***
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	-0.006667	0.010541	-0.632	0.99437	
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	0.003333	0.010541	0.316	0.99988	
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.023333	0.010541	-2.214	0.34721	
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	-0.056667	0.010541	-5.376	0.00175	**
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-0.040000	0.010541	-3.795	0.02530	*
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	0.010000	0.010541	0.949	0.95731	
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-0.016667	0.010541	-1.581	0.69547	
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-0.050000	0.010541	-4.743	0.00435	**
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-0.033333	0.010541	-3.162	0.07795	.
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	-0.026667	0.010541	-2.530	0.22036	
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	-0.060000	0.010541	-5.692	< 0.001	***
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	-0.043333	0.010541	-4.111	0.01429	*
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	-0.033333	0.010541	-3.162	0.07820	.
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-0.016667	0.010541	-1.581	0.69545	
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	0.016667	0.010541	1.581	0.69543	

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
 (Adjusted p values reported -- single-step method)

**Output A.4*****- Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente*****ANOVA**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	2.07	0.3449	4.829	0.00719 **
Residuals	14	1.00	0.0714		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Output A.5****Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni**

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: SeteDias\$RFTA and SeteDias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	1.000	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.000	1.000	-	-	-	-
AQ_1.0	0.022	1.000	0.180	-	-	-
AQ_1.0C	1.000	1.000	1.000	0.797	-	-
AQ_1.5	0.029	1.000	0.243	1.000	1.000	-
AQ_1.5C	1.000	1.000	1.000	0.133	1.000	0.180

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.6

### Teste Post Hoc com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = SeteDias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	-0.46667	0.21822	-2.139	0.3834
AQ_0.5C - A_N == 0	-0.23333	0.21822	-1.069	0.9273
AQ_1.0 - A_N == 0	-0.90000	0.21822	-4.124	0.0139 *
AQ_1.0C - A_N == 0	-0.40000	0.21822	-1.833	0.5492
AQ_1.5 - A_N == 0	-0.86667	0.21822	-3.972	0.0183 *
AQ_1.5C - A_N == 0	-0.20000	0.21822	-0.917	0.9635
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	0.23333	0.21822	1.069	0.9273
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-0.43333	0.21822	-1.986	0.4631
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	0.06667	0.21822	0.306	0.9999
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	-0.40000	0.21822	-1.833	0.5491
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	0.26667	0.21822	1.222	0.8744
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-0.66667	0.21822	-3.055	0.0940 .
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-0.16667	0.21822	-0.764	0.9850
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-0.63333	0.21822	-2.902	0.1212
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	0.03333	0.21822	0.153	1.0000
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.50000	0.21822	2.291	0.3124
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	0.03333	0.21822	0.153	1.0000
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	0.70000	0.21822	3.208	0.0720 .
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	-0.46667	0.21822	-2.139	0.3830
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	0.20000	0.21822	0.917	0.9636
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	0.66667	0.21822	3.055	0.0942 .

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
 (Adjusted p values reported -- single-step method)

#### Output A.7

### **- Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente**

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	27.766	4.628	17.48	9.11e-06 ***
Residuals	14	3.707	0.265		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

### Output A.8

#### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: SeteDias\$RCTA and SeteDias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	0.01852	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	0.01169	1.00000	-	-	-	-
AQ_1.0	0.49602	1.00000	1.00000	-	-	-
AQ_1.0C	0.42515	1.00000	1.00000	1.00000	-	-
AQ_1.5	1.00000	0.00264	0.00172	0.06456	0.05516	-
AQ_1.5C	0.06456	4.0e-05	2.8e-05	0.00057	0.00050	0.49602

P value adjustment method: Bonferroni

### Output A.9

#### Teste Post Hoc com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RCTA ~ Formula, data = SeteDias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )	
AQ_0.5 - A_N == 0	1.76667	0.42013	4.205	0.01185	*
AQ_0.5C - A_N == 0	1.86667	0.42013	4.443	0.00787	**
AQ_1.0 - A_N == 0	1.06667	0.42013	2.539	0.21730	
AQ_1.0C - A_N == 0	1.10000	0.42013	2.618	0.19203	
AQ_1.5 - A_N == 0	-0.43333	0.42013	-1.031	0.93777	
AQ_1.5C - A_N == 0	-1.50000	0.42013	-3.570	0.03784	*
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	0.10000	0.42013	0.238	0.99998	
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-0.70000	0.42013	-1.666	0.64658	
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.66667	0.42013	-1.587	0.69217	
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	-2.20000	0.42013	-5.236	0.00189	**
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-3.26667	0.42013	-7.775	< 0.001	***
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-0.80000	0.42013	-1.904	0.50837	
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-0.76667	0.42013	-1.825	0.55402	
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-2.30000	0.42013	-5.475	0.00116	**
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-3.36667	0.42013	-8.013	< 0.001	***
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.03333	0.42013	0.079	1.00000	
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	-1.50000	0.42013	-3.570	0.03782	*
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	-2.56667	0.42013	-6.109	< 0.001	***
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	-1.53333	0.42013	-3.650	0.03285	*
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-2.60000	0.42013	-6.189	< 0.001	***
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	-1.06667	0.42013	-2.539	0.21699	

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

### Output A.10

## Análise Estatística Após 28 Dias

### - MANOVA

```

              Df      Pillai    approx F    num Df    den Df      Pr(>F)
(Intercept)  1    0.99995      74028         3      12    < 2.2e-16 ***
Formula      6    1.55565         3         18      42    0.007061 **
Residuals   14
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output A.11

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

```

              Df      Sum Sq      Mean Sq    F value      Pr(>F)
Formula      6      0.0151      0.0025159      4.76      0.00763 **
Residuals   14      0.0074      0.0005286
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output A.12

#### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: V8Dias\$MEA and V8Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	1.000	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.000	1.000	-	-	-	-
AQ_1.0	1.000	1.000	0.772	-	-	-
AQ_1.0C	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-
AQ_1.5	0.772	0.136	0.047	1.000	0.136	-
AQ_1.5C	0.772	0.136	0.047	1.000	0.136	1.000

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.13

#### Teste Post Hoc com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = MEA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	1.667e-02	1.877e-02	0.888	0.9687
AQ_0.5C - A_N == 0	2.667e-02	1.877e-02	1.421	0.7830

```

AQ_1.0 - A_N == 0      -1.667e-02  1.877e-02  -0.888  0.9687
AQ_1.0C - A_N == 0     1.667e-02  1.877e-02   0.888  0.9686
AQ_1.5 - A_N == 0     -4.333e-02  1.877e-02  -2.308  0.3046
AQ_1.5C - A_N == 0    -4.333e-02  1.877e-02  -2.308  0.3049
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0  1.000e-02  1.877e-02   0.533  0.9978
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0  -3.333e-02  1.877e-02  -1.776  0.5824
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0  1.041e-17  1.877e-02   0.000  1.0000
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0  -6.000e-02  1.877e-02  -3.196  0.0729 .
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0  -6.000e-02  1.877e-02  -3.196  0.0738 .
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0  -4.333e-02  1.877e-02  -2.308  0.3048
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0 -1.000e-02  1.877e-02  -0.533  0.9978
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0  -7.000e-02  1.877e-02  -3.729  0.0285 *
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0 -7.000e-02  1.877e-02  -3.729  0.0283 *
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0   3.333e-02  1.877e-02   1.776  0.5828
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0  -2.667e-02  1.877e-02  -1.421  0.7829
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0  -2.667e-02  1.877e-02  -1.421  0.7831
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0  -6.000e-02  1.877e-02  -3.196  0.0736 .
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0 -6.000e-02  1.877e-02  -3.196  0.0736 .
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0   6.939e-18  1.877e-02   0.000  1.0000
---
```

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

**Output A.14****- Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente**ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	6.41	1.0683	2.7	0.059 .
Residuals	14	5.54	0.3957		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Output A.15**Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: V8Dias\$RFTA and V8Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	1.00	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.00	1.00	-	-	-	-
AQ_1.0	1.00	1.00	0.34	-	-	-
AQ_1.0C	1.00	1.00	1.00	1.00	-	-
AQ_1.5	0.65	0.57	0.14	1.00	1.00	-
AQ_1.5C	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

P value adjustment method: Bonferroni

**Output A.16**

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	0.03333	0.51362	0.065	1.0000
AQ_0.5C - A_N == 0	0.40000	0.51362	0.779	0.9835
AQ_1.0 - A_N == 0	-1.00000	0.51362	-1.947	0.4843
AQ_1.0C - A_N == 0	-0.50000	0.51362	-0.973	0.9520
AQ_1.5 - A_N == 0	-1.23333	0.51362	-2.401	0.2668
AQ_1.5C - A_N == 0	-0.70000	0.51362	-1.363	0.8119
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	0.36667	0.51362	0.714	0.9894
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-1.03333	0.51362	-2.012	0.4489
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.53333	0.51362	-1.038	0.9359
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	-1.26667	0.51362	-2.466	0.2427
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-0.73333	0.51362	-1.428	0.7793
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-1.40000	0.51362	-2.726	0.1619
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-0.90000	0.51362	-1.752	0.5960
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-1.63333	0.51362	-3.180	0.0758
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-1.10000	0.51362	-2.142	0.3811
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.50000	0.51362	0.973	0.9519
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	-0.23333	0.51362	-0.454	0.9991
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	0.30000	0.51362	0.584	0.9963
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	-0.73333	0.51362	-1.428	0.7794
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-0.20000	0.51362	-0.389	0.9996
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	0.53333	0.51362	1.038	0.9360

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

Output A.17

### **- Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente**

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	25.91	4.319	2.957	0.0444 *
Residuals	14	20.45	1.460		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Output A.18

#### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: V8Dias\$RCTA and V8Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	0.69	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.00	1.00	-	-	-	-

AQ_1.0	0.14	1.00	0.69	-	-	-
AQ_1.0C	0.47	1.00	1.00	1.00	-	-
AQ_1.5	0.74	1.00	1.00	1.00	1.00	-
AQ_1.5C	0.12	1.00	0.61	1.00	1.00	1.00

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.19

#### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RCTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	-2.33333	0.98674	-2.365	0.2813
AQ_0.5C - A_N == 0	-0.80000	0.98674	-0.811	0.9798
AQ_1.0 - A_N == 0	-3.13333	0.98674	-3.175	0.0760 .
AQ_1.0C - A_N == 0	-2.53333	0.98674	-2.567	0.2080
AQ_1.5 - A_N == 0	-2.30000	0.98674	-2.331	0.2953
AQ_1.5C - A_N == 0	-3.20000	0.98674	-3.243	0.0678 .
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	1.53333	0.98674	1.554	0.7108
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-0.80000	0.98674	-0.811	0.9798
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.20000	0.98674	-0.203	1.0000
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	0.03333	0.98674	0.034	1.0000
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-0.86667	0.98674	-0.878	0.9703
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-2.33333	0.98674	-2.365	0.2811
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-1.73333	0.98674	-1.757	0.5938
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-1.50000	0.98674	-1.520	0.7296
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-2.40000	0.98674	-2.432	0.2550
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.60000	0.98674	0.608	0.9954
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	0.83333	0.98674	0.845	0.9753
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	-0.06667	0.98674	-0.068	1.0000
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	0.23333	0.98674	0.236	1.0000
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-0.66667	0.98674	-0.676	0.9920
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	-0.90000	0.98674	-0.912	0.9644

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

#### Output A.20

## Análise Estatística Após 91 Dias

### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
(Intercept)	1	0.99997	148016	3	12	< 2.2e-16 ***
Formula	6	2.27924	7	18	42	5.297e-08 ***
Residuals	14					

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output A.21

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	0.02027	0.003378	9.852	0.000236 ***
Residuals	14	0.00480	0.000343		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output A.22

#### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$MEA and N1Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	1.0000	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.0000	1.0000	-	-	-	-
AQ_1.0	0.9386	1.0000	1.0000	-	-	-
AQ_1.0C	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-	-
AQ_1.5	0.1089	0.0054	0.0054	0.0016	0.0191	-
AQ_1.5C	0.2613	0.0125	0.0125	0.0036	0.0454	1.0000

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.23

#### Teste Post Hoc com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = MEA ~ Formula, data = N1Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	2.333e-02	1.512e-02	1.543	0.71674
AQ_0.5C - A_N == 0	2.333e-02	1.512e-02	1.543	0.71690



```

AQ_1.0 - A_N == 0      3.333e-02  1.512e-02   2.205  0.35146
AQ_1.0C - A_N == 0    1.333e-02  1.512e-02   0.882  0.96965
AQ_1.5 - A_N == 0     -5.000e-02  1.512e-02  -3.307  0.06079 .
AQ_1.5C - A_N == 0    -4.333e-02  1.512e-02  -2.866  0.12861
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0  2.082e-17  1.512e-02   0.000  1.00000
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0   1.000e-02  1.512e-02   0.661  0.99286
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0 -1.000e-02  1.512e-02  -0.661  0.99287
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0  -7.333e-02  1.512e-02  -4.851  0.00381 **
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0 -6.667e-02  1.512e-02  -4.410  0.00829 **
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0  1.000e-02  1.512e-02   0.661  0.99285
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0 -1.000e-02  1.512e-02  -0.661  0.99286
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0 -7.333e-02  1.512e-02  -4.851  0.00371 **
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0 -6.667e-02  1.512e-02  -4.410  0.00841 **
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0 -2.000e-02  1.512e-02  -1.323  0.83077
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0  -8.333e-02  1.512e-02  -5.512  0.00128 **
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0 -7.667e-02  1.512e-02  -5.071  0.00250 **
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0 -6.333e-02  1.512e-02  -4.189  0.01233 *
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0 -5.667e-02  1.512e-02  -3.748  0.02727 *
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0  6.667e-03  1.512e-02   0.441  0.99923
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)

```

#### Output A.24

### ***- Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente***

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	6.41	1.0683	2.7	0.059 .
Residuals	14	5.54	0.3957		

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output A.25

#### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$RFTA and N1Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	0.185	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	0.331	1.000	-	-	-	-
AQ_1.0	1.000	1.000	1.000	-	-	-
AQ_1.0C	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-
AQ_1.5	0.015	1.000	1.000	0.587	0.853	-
AQ_1.5C	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.853

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.26

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	0.03333	0.51362	0.065	1.0000
AQ_0.5C - A_N == 0	0.40000	0.51362	0.779	0.9835
AQ_1.0 - A_N == 0	-1.00000	0.51362	-1.947	0.4845
AQ_1.0C - A_N == 0	-0.50000	0.51362	-0.973	0.9519
AQ_1.5 - A_N == 0	-1.23333	0.51362	-2.401	0.2664
AQ_1.5C - A_N == 0	-0.70000	0.51362	-1.363	0.8118
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	0.36667	0.51362	0.714	0.9894
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-1.03333	0.51362	-2.012	0.4490
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.53333	0.51362	-1.038	0.9360
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	-1.26667	0.51362	-2.466	0.2421
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-0.73333	0.51362	-1.428	0.7792
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-1.40000	0.51362	-2.726	0.1619
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-0.90000	0.51362	-1.752	0.5963
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-1.63333	0.51362	-3.180	0.0753
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-1.10000	0.51362	-2.142	0.3818
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.50000	0.51362	0.973	0.9520
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	-0.23333	0.51362	-0.454	0.9991
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	0.30000	0.51362	0.584	0.9963
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	-0.73333	0.51362	-1.428	0.7789
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-0.20000	0.51362	-0.389	0.9996
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	0.53333	0.51362	1.038	0.9359

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

Output A.27

### **- Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente**

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	6	25.91	4.319	2.957	0.0444 *
Residuals	14	20.45	1.460		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Output A.28

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$RCTA and N1Dias\$Formula

	A_N	AQ_0.5	AQ_0.5C	AQ_1.0	AQ_1.0C	AQ_1.5
AQ_0.5	1.00000	-	-	-	-	-
AQ_0.5C	1.00000	1.00000	-	-	-	-

AQ_1.0	0.65739	1.00000	1.00000	-	-	-
AQ_1.0C	1.00000	1.00000	1.00000	0.39300	-	-
AQ_1.5	1.00000	1.00000	1.00000	0.31908	1.00000	-
AQ_1.5C	0.00033	0.00277	0.00252	0.02550	0.00021	0.00018

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output A.29

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RCTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AQ_0.5 - A_N == 0	-2.33333	0.98674	-2.365	0.2816
AQ_0.5C - A_N == 0	-0.80000	0.98674	-0.811	0.9798
AQ_1.0 - A_N == 0	-3.13333	0.98674	-3.175	0.0759 .
AQ_1.0C - A_N == 0	-2.53333	0.98674	-2.567	0.2079
AQ_1.5 - A_N == 0	-2.30000	0.98674	-2.331	0.2948
AQ_1.5C - A_N == 0	-3.20000	0.98674	-3.243	0.0675 .
AQ_0.5C - AQ_0.5 == 0	1.53333	0.98674	1.554	0.7109
AQ_1.0 - AQ_0.5 == 0	-0.80000	0.98674	-0.811	0.9798
AQ_1.0C - AQ_0.5 == 0	-0.20000	0.98674	-0.203	1.0000
AQ_1.5 - AQ_0.5 == 0	0.03333	0.98674	0.034	1.0000
AQ_1.5C - AQ_0.5 == 0	-0.86667	0.98674	-0.878	0.9702
AQ_1.0 - AQ_0.5C == 0	-2.33333	0.98674	-2.365	0.2816
AQ_1.0C - AQ_0.5C == 0	-1.73333	0.98674	-1.757	0.5938
AQ_1.5 - AQ_0.5C == 0	-1.50000	0.98674	-1.520	0.7295
AQ_1.5C - AQ_0.5C == 0	-2.40000	0.98674	-2.432	0.2546
AQ_1.0C - AQ_1.0 == 0	0.60000	0.98674	0.608	0.9954
AQ_1.5 - AQ_1.0 == 0	0.83333	0.98674	0.845	0.9754
AQ_1.5C - AQ_1.0 == 0	-0.06667	0.98674	-0.068	1.0000
AQ_1.5 - AQ_1.0C == 0	0.23333	0.98674	0.236	1.0000
AQ_1.5C - AQ_1.0C == 0	-0.66667	0.98674	-0.676	0.9920
AQ_1.5C - AQ_1.5 == 0	-0.90000	0.98674	-0.912	0.9644

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

#### Output A.30

## Apêndice B – Análise Estatística – Capítulo 3

O algoritmo completo em R criado para análise estatística está disponível no repositório do GitHub no link: <https://github.com/carolmoraescruz/analise-estatistica-doutorado>. Abaixo estão listados os resultados da MANOVA e ANOVAs individuais para cada idade, bem como os testes *post hoc* com correções de Bonferroni e Tukey.

### Análise Estatística Após 7 Dias

#### - MANOVA

```

              Df      Pillai    approx F    num Df    den Df      Pr(>F)
(Intercept)  1      0.99999      184318         3         4      9.811e-11 ***
Formula      2      0.74289         1         6        10         0.4834
Residuals    6
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output B.1

#### - Densidade Aparente

##### ANOVA

```

              Df      Sum Sq      Mean Sq      F value      Pr(>F)
Formula      2      0.0001556      7.778e-05         1.4         0.317
Residuals    6      0.0003333      5.556e-05
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output B.2

#### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

##### ANOVA

```

              Df      Sum Sq      Mean Sq      F value      Pr(>F)
Formula      2      0.2956      0.14778         3.5         0.0983 .
Residuals    6      0.2533      0.04222
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output B.3

#### - Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

##### ANOVA

```

              Df      Sum Sq      Mean Sq      F value      Pr(>F)
Formula      2      3.327      1.6633         2.941         0.129
Residuals    6      3.393      0.5656
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output B.4

## Análise Estatística Após 28 Dias

### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
(Intercept)	1	0.99998	70140	3	4	6.775e-10 ***
Formula	2	1.09798	2	6	10	0.1542
Residuals	6					

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.5

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.0001556	7.778e-05	0.583	0.587
Residuals	6	0.0008000	1.333e-04		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.6

### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.3267	0.16333	8.647	0.0171 *
Residuals	6	0.1133	0.01889		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.8

### Teste Post Hoc com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: V8Dias\$MEA and V8Dias\$Formula

	A_N	AA_0.5C
AA_0.5C	1.000	-
AA_1.0C	0.025	0.051

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output B.9

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AA_0.5C - A_N == 0	-0.06667	0.11222	-0.594	0.8283
AA_1.0C - A_N == 0	-0.43333	0.11222	-3.862	0.0194 *
AA_1.0C - AA_0.5C == 0	-0.36667	0.11222	-3.267	0.0394 *

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
 (Adjusted p values reported -- single-step method)

**Output B.10**

### ***- Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente***

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	5.269	2.6344	2.84	0.136
Residuals	6	5.567	0.9278		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Output B.11**

## Análise Estatística Após 91 Dias

### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
(Intercept)	1	0.99997	51864	3	4	1.239e-09 ***
Formula	2	1.32530	3	6	10	0.04762 *
Residuals	6					

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.12

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.0008222	0.0004111	1.028	0.413
Residuals	6	0.0024000	0.0004000		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.13

### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	1.069	0.5344	2.764	0.141
Residuals	6	1.160	0.1933		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.14

### - Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	19.647	9.823	7.211	0.0254 *
Residuals	6	8.173	1.362		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output B.15

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$RCTA and N1Dias\$Formula

	A_N	AA_0.5C
AA_0.5C	0.033	-
AA_1.0C	1.000	0.098

P value adjustment method: Bonferroni

#### **Output B.16**

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RCTA ~ Formula, data = N1Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AA_0.5C - A_N == 0	3.4667	0.9530	3.638	0.0252 *
AA_1.0C - A_N == 0	0.8333	0.9530	0.874	0.6745
AA_1.0C - AA_0.5C == 0	-2.6333	0.9530	-2.763	0.0728 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

#### **Output B.17**



## Apêndice C – Análise Estatística – Capítulo 4

O algoritmo completo em R criado para análise estatística está disponível no repositório do GitHub no link: <https://github.com/carolmoraescruz/analise-estatistica-doutorado>. Abaixo estão listados os resultados da MANOVA e ANOVAs individuais para cada idade, bem como os testes *post hoc* com correções de Bonferroni e Tukey.

### Análise Estatística Após 7 Dias

#### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)	
(Intercept)	1	0.99999	167936	3	4	1.182e-10	***
Formula	2	1.54996	6	6	10	0.00801	**
Residuals	6						

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.1

#### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.002289	0.0011444	2.395	0.172
Residuals	6	0.002867	0.0004778		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.2

#### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.3822	0.1911	9.556	0.0136 *
Residuals	6	0.1200	0.0200		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.3

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

```

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: SeteDias$RFTA and SeteDias$Formula

      A_N      AA_0.5C_B
AA_0.5C_B  1.00      -
AA_1.0C_B  0.02      0.04

P value adjustment method: Bonferroni

```

#### Output C.4

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

```

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = SeteDias)

Linear Hypotheses:

      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
AA_0.5C_B - A_N == 0      -0.06667    0.11547  -0.577  0.8367
AA_1.0C_B - A_N == 0      -0.46667    0.11547  -4.041  0.0158 *
AA_1.0C_B - AA_0.5C_B == 0 -0.40000    0.11547  -3.464  0.0307 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)

```

#### Output C.5

### ***- Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente***

```

ANOVA

      Df      Sum Sq      Mean Sq      F value      Pr(>F)
Formula  2      1.976      0.9878      3.735      0.0884 .
Residuals 6      1.587      0.2644

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

#### Output C.6

## Análise Estatística Após 28 Dias

### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
(Intercept)	1	0.99997	51983	3	4	1.233e-09 ***
Formula	2	0.90354	1	6	10	0.313
Residuals	6					

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.7

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.0000222	1.111e-05	0.05	0.952
Residuals	6	0.0013333	2.222e-04		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.8

### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.62	0.31	7.75	0.0217 *
Residuals	6	0.24	0.04		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.9

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: V8Dias\$RFTA and V8Dias\$Formula

	A_N	AA_0.5C_B
AA_0.5C_B	0.067	-
AA_1.0C_B	0.031	1.000

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output C.10

## Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = V8Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AA_0.5C_B - A_N == 0	-0.5000	0.1633	-3.062	0.0507 .
AA_1.0C_B - A_N == 0	-0.6000	0.1633	-3.674	0.0240 *
AA_1.0C_B - AA_0.5C_B == 0	-0.1000	0.1633	-0.612	0.8190

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
 (Adjusted p values reported -- single-step method)

Output C.11

### - Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	1.387	0.6933	2.486	0.164
Residuals	6	1.673	0.2789		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Output C.12

## Análise Estatística Após 91 Dias

### - MANOVA

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
(Intercept)	1	0.99997	53097	3	4	1.182e-09 ***
Formula	2	1.44232	4	6	10	0.02091 *
Residuals	6					

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.13

### - Densidade Aparente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	0.0000667	3.333e-05	0.176	0.842
Residuals	6	0.0011333	1.889e-04		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.14

### - Resistência à Flexão à Temperatura Ambiente

#### ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	1.236	0.6178	6.864	0.0281 *
Residuals	6	0.540	0.0900		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#### Output C.15

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$RFTA and N1Dias\$Formula

	A_N	AA_0.5C_B
AA_0.5C_B	0.104	-
AA_1.0C_B	1.000	0.037

P value adjustment method: Bonferroni

#### Output C.16

### Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RFTA ~ Formula, data = N1Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AA_0.5C_B - A_N == 0	-0.6667	0.2449	-2.722	0.0773 .
AA_1.0C_B - A_N == 0	0.2000	0.2449	0.816	0.7074
AA_1.0C_B - AA_0.5C_B == 0	0.8667	0.2449	3.538	0.0287 *

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
 (Adjusted p values reported -- single-step method)

**Output C.17**

### - Resistência à Compressão à Temperatura Ambiente

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Formula	2	5.429	2.7144	6.412	0.0324 *
Residuals	6	2.540	0.4233		

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Output C.18**

### Teste *Post Hoc* com Correção de Bonferroni

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data: N1Dias\$RCTA and N1Dias\$Formula

	A_N	AA_0.5C_B
AA_0.5C_B	0.299	-
AA_1.0C_B	0.035	0.462

P value adjustment method: Bonferroni

**Output C.19**

## Teste *Post Hoc* com Correção de Tukey

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = RCTA ~ Formula, data = N1Dias)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
AA_0.5C_B - A_N == 0	1.0333	0.5312	1.945	0.2068
AA_1.0C_B - A_N == 0	1.9000	0.5312	3.576	0.0269 *
AA_1.0C_B - AA_0.5C_B == 0	0.8667	0.5312	1.631	0.3042

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
(Adjusted p values reported -- single-step method)

**Output C.20**