

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Construção e Infraestrutura

Fernanda Lamego Guerra

**Avaliação da eficiência de nanopartículas de TiO_2 no
controle do crescimento de fungos filamentosos
deteriogênicos em argamassas históricas**

Porto Alegre
2018

FERNANDA LAMEGO GUERRA

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS DE TiO₂ NO
CONTROLE DO CRESCIMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS
DETERIOGÊNICOS EM ARGAMASSAS HISTÓRICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil: Construção e Infraestrutura da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia

Prof^a. Angela Borges Masuero
Dra. pela Universidade Federal do Rio Grande
do Sul, Brasil
Orientadora

Prof^a. Denise Carpena Coitinho Dal Molin
Dra. pela Universidade de São Paulo, Brasil
Orientadora

Porto Alegre
2018

FERNANDA LAMEGO GUERRA

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS DE TiO₂ NO
CONTROLE DO CRESCIMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS
DETERIOGÊNICOS EM ARGAMASSAS HISTÓRICAS**

Esta tese de doutorado foi julgada para a obtenção do título de DOUTORA EM ENGENHARIA CIVIL, área de pesquisa CONSTRUÇÃO, e aprovada em sua forma final pelas Professoras Orientadoras e pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Construção e Infraestrutura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, 2018.

Prof^a. Angela Borges Masuero
Dra. pela Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Brasil

Orientadora

Prof^a. Denise Carpena Coitinho Dal Molin
Dra. pela Universidade de São Paulo, Brasil

Orientadora

Prof. Carlos Torres Formoso
Coordenador do PPGCI/UFRGS

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Márcia Aiko Shirakawa (SP)
Doutora pela Universidade de São Paulo, Brasil

Prof^a. Fátima Menezes Bento (RS)
Doutora pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Prof^a. Marla Azario Lasarin (RS)
Doutora pela Universidade Estadual de Campinas, Brasil

Dedico este trabalho ao meu marido André, à minha
filha Eduarda e aos meus pais, Paulo e Maria, por
todo incentivo, fé e apoio durante o cumprimento de
mais esta etapa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Maria de Jesus e Paulo Roberto, meus grandes incentivadores, exemplos de dignidade, resiliência, esforço, amor e união, a base dos valores que tanto prezo e que procuro vivenciar em cada uma das minhas ações.

Agradeço ao meu marido André, meu maior exemplo de força e do quão somos capazes de nos reinventarmos e nos reerguermos, mesmo quando a situação se mostra realmente difícil. Juntos, percebemos, que de fato, o amor e o companheirismo nos permitem superar cada desafio que a vida apresenta.

À minha filha Eduarda, minha luz, meu equilíbrio, minha companheirinha desde o início da vida acadêmica, sempre compreensiva e amorosa, meu amor maior. Tua leveza e alegria me inspiram.

Às minhas orientadoras, prof. Angela Masuero e prof. Denise Dal Molin, minha enorme gratidão por todo aprendizado e por sempre nos motivarem, enquanto grupo, a atingirmos o nosso melhor, sem perder de vista o essencial, que são os laços de companheirismo e amizade.

Agradeço a todos os demais professores, funcionários e técnicos do NORIE, pessoas que compõem um grupo verdadeiramente muito bom de conviver, uma segunda família, que deixa saudades quando retornamos a nossas casas (muitas vezes em outras cidades).

Meu muito obrigada aos colegas laboratoristas, Airton e Ari, também S. Gilmar (ex-funcionário) que viabilizaram e me ajudaram a concretizar várias etapas do trabalho e que estão presentes direta ou indiretamente em cada uma das pesquisas desenvolvidas no nosso laboratório.

Minha enorme gratidão aos professores e colegas do Centro de Biotecnologia (CBIOT-UFRGS), em especial aos professores Augusto Schrank e Marilene Vainstein, pela confiança, incentivo, aprendizado e liberdade de acesso ao laboratório e equipamentos, sem os quais não seria possível o desenvolvimento deste trabalho. À colega Angela Junges, que muito me auxiliou e ensinou de forma muito generosa quando ainda estava iniciando esta pesquisa. Agradeço ao colega William Lopes, sempre muito prestativo e generoso em compartilhar conhecimento, apoio e parceria em etapas essenciais.

Meu muito obrigada à professora Fátima Bento, que igualmente disponibilizou com muita generosidade e confiança toda infraestrutura do Laboratório de Biodeterioração de Combustíveis e Biocombustíveis do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS),

além de estar sempre acessível. Muito obrigada pelos conselhos, orientações e incentivo sempre. Agradeço às colegas Juci, Mari, Thaís e Amanda, vocês foram essenciais para meu aprendizado e prosseguimento do trabalho.

Agradeço às professoras Márcia Shirakawa e Marla Lansarin pela disponibilidade, contribuições e orientação desde a etapa de qualificação. Um trabalho de caráter interdisciplinar, como este, só se tornou viável porque foi possível contar com o apoio, incentivo e conhecimento compartilhado por vocês professores e colegas de diferentes áreas do conhecimento. Minha sincera gratidão.

Agradeço igualmente à Secretaria de Cultura de Porto Alegre, pela disponibilidade de acesso à Casa Godoy, objeto de estudo neste trabalho, bem como agradeço ao colega arquiteto Lucas Volpatto, quem muito me auxiliou na fase inicial de acesso às edificações históricas.

Agradeço aos meus excelentes bolsistas de iniciação científica Maurício Hartmann e Henrique Sasso, presentes em etapas muito importantes, contribuindo com muita disposição e competência, foi muito gratificante trabalhar com vocês.

Agradeço à CAPES e ao CNPQ, essenciais no suporte financeiro para o cumprimento das etapas da pesquisa.

Por fim, meu muito obrigada mais que especial aos amigos da “salinha” de materiais, aos que já seguiram adiante em seus objetivos e aos que ainda hoje dão um suporte essencial no dia à dia, seja com trocas de conhecimento, seja na descontração de um bom bate-papo, seja na confraternização sempre com muita fartura, mas principalmente meu muito obrigada a este grupo de amigos que é capaz de perceber quando algum colega precisa de apoio e demonstra sempre disposição para ajudar, mesmo que isso roube um pouquinho do tempo que nenhum de nós tem. Cada um de vocês tem um lugar no meu coração e a minha eterna gratidão!

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

RESUMO

GUERRA, F. L. **Avaliação da eficiência de nanopartículas de TiO₂ no controle do crescimento de fungos filamentosos deteriorogênicos em argamassas históricas.** 2018. Tese (Doutorado em Engenharia) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Construção e Infraestrutura, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

Este estudo tem por objetivo analisar argamassas típicas de revestimento de edificações históricas (início do século XX) com relação ao fenômeno da biodeterioração por fungos filamentosos, para posterior avaliação da eficiência do fotocatalisador TiO₂ contra isolados fúngicos selecionados. Em uma primeira fase foi definida uma edificação histórica, representativa para o estudo, onde foi realizado o monitoramento microclimático pelo período de 1 ano. Foram extraídas amostras de revestimento de argamassa para caracterização mineralógica, através de Difração de Raios X (DRX), Fluorescência de Raios X (FRX) e Análise Termogravimétrica (TG). Determinou-se o proporcionamento ligante/agregado e distribuição granulométrica. Foi feita a coleta de material biológico para identificação de fungos filamentosos através do método do microcultivo e análise molecular. Estimou-se o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) dos isolados por grama de amostra coletada, através do método de diluição seriada. Com base nas análises realizadas a partir da edificação histórica, foi desenvolvida a segunda fase, onde foram confeccionadas amostras de argamassas de revestimento, com características similares à argamassa da edificação histórica, para inoculação com os fungos isolados mais frequentes. Desta forma, foi avaliada a aplicação superficial do fotocatalisador nanométrico TiO₂ Aeroxide P-25 quanto à sua eficiência autolimpante e potencial biocida, em condições laboratoriais e expostas artificialmente à radiação UVA. As análises da Fase 1 indicaram uma argamassa de revestimento predominantemente de CaCO₃ e/ou MgCO₃ e areia quartzosa, com traços, em massa, entre 1:2,4 e 1:5,4 (ligante:agregado). O monitoramento microclimático indicou umidade relativa (UR) média de 72,92% e média das temperaturas máximas e mínimas de 30,43°C e 9,18°C no interior da edificação, respectivamente. Foram isoladas 59 colônias de fungos filamentosos, sendo 15 identificadas como as mais frequentes nos ambientes analisados. Dentre os fungos identificados, citam-se as espécies: *Aspergillus niger*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium* spp., *Purpureocillium lilacinum*, *Acremonium* sp., *Trichoderma atroviride* e *T. harzianum*. O fotocatalisador, analisado na Fase 2, apresentou um comportamento diferenciado para os diferentes isolados selecionados para esta análise, demonstrando maior efetividade contra o fungo *Aspergillus niger*, quando exposto a períodos prolongados de luz UVA (4h/dia), promovendo a redução no crescimento das colônias. Verificou-se haver, também, a influência da luz UVA, independente do fotocatalisador, principalmente nas amostras inoculadas como consórcio de vários fungos, inibindo o crescimento das colônias.

Palavras-chave: Biodeterioração. Fungos filamentosos. Argamassas históricas. TiO₂

ABSTRACT

GUERRA, F. L. **TiO₂ efficiency evaluation against filamentous fungi normally found in typical historic buildings mortar.** 2018. Thesis (PhD of Science in Civil Engineering) - Postgraduate Program in Civil Engineering: Construction and Infrastructure, Engineering School, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

This study aims to analyze typical mortars of historic buildings (early 20th century), in relation to the phenomenon of biodeterioration by filamentous fungi, for further evaluation of the efficiency of the TiO₂ photocatalyst against selected fungal isolates. In the first phase, a representative historical building was defined for the study, where microclimatic monitoring was carried out for a period of one year. Mortar coating samples were extracted for mineralogical characterization through X-Ray Diffraction (XRD), X-ray Fluorescence (FRX) and Thermogravimetric (TG) analysis. The binder/aggregate and particle size distributions were determined. Biological material was collected to identify filamentous fungi through the microculture method and molecular analysis. The number of Colony Forming Units (CFU) of the isolates per gram of sample was estimated by the serial dilution method. Based on the analyzes developed from the historical building, the second phase was developed, where samples of coating mortars were prepared for inoculation with the most frequent isolated fungi. In this way, the surface application of the TiO₂ Aeroxide P-25 nanocrystalline photocatalyst was evaluated for its self-cleaning efficiency and biocidal potential under laboratory conditions and artificially exposed to UVA radiation. Phase 1 analyzes indicated a predominantly CaCO₃ and/or MgCO₃ coating mortar and quartz sand, with mass traces between 1:2.4 and 1:5.4. The microclimatic monitoring had 72.92% average relative humidity (RH) and average maximum and minimum temperatures of 30.43°C and 9.18°C inside the building, respectively. Fifty-nine filamentous fungi colonies were isolated, of which 15 were identified as the most frequent in the analyzed environments. Among the identified fungi are the following species: *Aspergillus niger*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium* spp., *Purpureocillium lilacinum*, *Acremonium* sp., *Trichoderma atroviride* and *T. harzianum*. The photocatalyst, analyzed in Phase 2, showed a different behavior for the different isolates selected for this analysis, demonstrating greater effectiveness against the fungus *Aspergillus niger*, when exposed to prolonged periods of UVA light (4h/day), promoting a reduction in the growth of colonies. It was also verified the influence of UVA light, independent of the photocatalyst, especially in the samples inoculated as a consortium of several fungi, inhibiting the growth of the colonies.

Keywords: Biodeterioration. Filamentous fungi. Mortar history. TiO₂.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efetividade da fotocatalise em superfície de edificação histórica da UFRGS com crescimento biológico	31
Figura 2 – Representação esquemática do Ciclo da Cal	37
Figura 3 – Desempenho em função do tempo de edificações históricas.	39
Figura 4 – Representação esquemática de metodologia para caracterização de argamassas antigas	43
Figura 5 – Fluxograma de classificação dos organismos quanto as fontes de obtenção de energia e nutrientes	55
Figura 6 – Formação de biofilme por fungos filamentosos	60
Figura 7 – Hifas e esporos de fungo do gênero <i>Cladosporium</i>	63
Figura 8 – Representação esquemática da ação de enzima/substrato	64
Figura 9 – Oxalatos secundários produzidos por diferentes fungos após transformações minerais de silicato de zinco e sulfeto de zinco presentes em amostras: a) Oxalato de cálcio produzido por fungo <i>Beauveria caledonica</i> (50 µm); b) Oxalato de zinco produzido por <i>Aspergillus niger</i> (50 µm); c) Oxalato de zinco	67
Figura 10 – Cristais de oxalato de cálcio produzido pelo crescimento de fungos: a) 100µm; b) 50µm; c) 10µm.....	67
Figura 11 – Micélio de fungos associado a cristais de oxalato de cálcio: a) Micélio hialino de fungo associado a cristais de oxalato de cálcio (microscópio óptico – 75x); b, c) cristais bipiramidais entrelaçados (microscopia eletrônica - 10µm).....	67
Figura 12 – Processo cíclico da PCR	74
Figura 13 – Dois fenômenos simultâneos a partir da fotocatalise.....	79
Figura 14 – Representação esquemática do início da reação em cadeia de peroxidação dos componentes fosfolipídicos.....	81
Figura 15 – Fluxograma do programa experimental	84
Figura 16 – Casa Godoy: a) vista geral da Casa Godoy, Bairro Independência – Porto Alegre – RS Fonte: Acervo pessoal, 2016; b) representação gráfica da fachada principal – Casa Godoy. Fonte: Prefeitura Municipal de Porto Alegre - Secretaria Municipal da Cultura – Coordenação da Memória Cultural.....	86
Figura 17 – Planta de situação da Casa Godoy	87
Figura 18 – Pavimento térreo da Casa Godoy.....	87
Figura 19 – Segundo pavimento Casa Godoy.....	87

Figura 20 – Etapas da Fase 1 da pesquisa	89
Figura 21 – Localização dos sensores – pavimento térreo	90
Figura 22 – Localização dos sensores – pavimento superior	91
Figura 23 – Locais de coleta a) interior do pavimento térreo b) interior do pavimento superior	92
Figura 24 – Locais de coleta nas fachadas: a) Fachada principal; b) Fachada fundos.....	93
Figura 25 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 02..	95
Figura 26 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 04..	96
Figura 27 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 05..	96
Figura 28 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 06..	97
Figura 29 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 08..	98
Figura 30 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície no Pátio interno	100
Figura 31 – Amostras dispostas em recipiente para determinação do teor de umidade	102
Figura 32 – Disposição esquemática dos procedimentos adotados desde à coleta ao microcultivo para as amostras FU1, FU3, 05b e 08d.1	109
Figura 33 – Etapas desenvolvidas na análise por microcultivo: a) placa com um dos isolados analisados; b) aparato autoclavado para crescimento, com lâmina, lamínula, meio nutricional ágar Sabouraud e algodão embebido em água destilada estéril; c) lâminas finalizadas e colorizadas com corante azul de algodão; d) imagem obtida em microscopia do gênero <i>Penicillium</i> a partir do microcultivo	110
Figura 34 – Etapas desenvolvidas para extração do DNA	111
Figura 35 – Dados horários de UR (%) dos quatro ambientes analisados no período de 1 ano	114
Figura 36 – Dados horários de Temperatura (°C) dos quatro ambientes analisados no período de 1 ano	114
Figura 37 – Médias das temperaturas mensais exteriores no ano de 2016 para a cidade de Porto Alegre (RS)	117
Figura 38 – Média dos valores de UR exterior no ano de 2016 para a cidade de Porto Alegre (RS)	117
Figura 39 – Valores médios mensais para UR e Temperatura dos ambientes interiores	119
Figura 40 – Médias das leituras diárias no período de um ano para UR e Temperatura dos ambientes interiores	119
Figura 41 – Monitoramento do microclima para o ensaio de umidade higroscópica.....	122

Figura 42 – Teor de Umidade Higroscópico das amostras ao longo do tempo dos diferentes ambientes.....	123
Figura 43 – Comparação entre teor de umidade natural e higroscópica das amostras	124
Figura 44 – Distribuição dos agregados das amostras utilizadas para o ensaio de Proporcionamento ligante/agregado a) amostra M_02d.1; b) amostra M_02d.2; c) amostra M_04b.1; d) amostra M_04b.2; e) amostra M_05b.1; f) amostra M_05b.2; g) amostra M_06d.1; h) amostra M_06d.2; i) amostra M_08d.1; j) amostra M_08d.2.	126
Figura 45 – Curva granulométrica das amostras.....	127
Figura 46 – Análise de DRX das amostras íntegras (ligante e agregado).....	128
Figura 47 – Análise de DRX das amostras separando ligante do agregado.....	129
Figura 48 – Análise termogravimétrica (TG) e derivada (DTG) a) amostra 02d.1; b) amostra 04b.1; c) amostra 05b.1; d) 06d.1; e) 08d.1	131
Figura 49 – Coleta biológica no Ambiente 2.....	134
Figura 50 – Coleta biológica no Ambiente 4.....	134
Figura 51 – Coleta biológica no Ambiente 5.....	135
Figura 52 – Coleta biológica no Ambiente 6, amostra 6a.1	135
Figura 53 – Coleta biológica no Ambiente 6, amostra 6d.2	136
Figura 54 – Coleta biológica no Ambiente 8, amostra 8d.1	136
Figura 55 – Coleta biológica no Ambiente 8, amostra 8d.2	137
Figura 56 – Coleta biológica no Pátio interno	137
Figura 57 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.1	138
Figura 58 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.2	138
Figura 59 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.3	139
Figura 60 – Coleta biológica na Fachada frontal, amostra FR.1	139
Figura 61 – Coleta biológica na Fachada frontal, amostra FR.2	140
Figura 62 – Estimativa de UFC/mL para cada ponto de coleta nos Ambientes interiores e exteriores	142
Figura 63 – Fluxograma das etapas da Fase 2.....	152
Figura 64 – Preparo do meio nutriente suplementado com TiO₂: a) agitação magnética com aquecimento; b) pipetagem do meio nutriente com TiO₂; c) disposição de 15mL do nutriente em placa de Petri.....	154

Figura 65 – Extração do micélio para disposição na placa com meio nutriente e diferentes teores de TiO ₂ : a) recorte do micélio com ponteira plástica estéril; b) diâmetros de micélio recortados e dispostos nas placas com diferentes teores de TiO ₂	154
Figura 66 – Configuração do experimento para condição de exposição à luz e para condição de escuro	155
Figura 67 – Amostras dispostas em câmara para execução de ensaio na condição de escuro: a) amostras dispostas para execução do ensaio; b) amostras cobertas durante a execução do ensaio	155
Figura 68 – Câmara para avaliação das amostras sob incidência de luz UVA: a) interior da câmara revestido com isopor e vedado com fita <i>Silver Tape</i> ; b) Lâmpada fixada a parte inferior da tampa, conectada à temporizador analógico, disposição de termohigrômetro.....	156
Figura 69 – Preparo de meio nutricional para suspensão de esporos: a) meio em processo de solidificação inclinada na bancada; b) meio pronto para inóculo do isolado.....	159
Figura 70 – Isolados fúngicos para suspensão de esporos: a) <i>Aspergillus niger</i> ; b) <i>Purpureocillium lilacinum</i> ; c) <i>Trichoderma atroviride</i> ; d) <i>Acremonium</i> sp.; e) <i>Cladosporium Sphaerospermum</i> ; f) <i>Cladosporium</i> sp.; g) <i>Fusarium</i> sp.	159
Figura 71 – Câmara de Neubauer e área de contagem considerada na câmara	161
Figura 72 – Matriz das amostras dispostas em condições controladas (BOD).....	162
Figura 73 – Equipamento BOD para experimento com controle de UR, temperatura e luz a) parte externa da BOD b) parte interna do equipamento	163
Figura 74 – Fôrmas acrílicas para moldagem das amostras. a) Imagem das fôrmas; b) graficação tridimensional – projeto; c) Partes desmontáveis da fôrma - projeto	164
Figura 75 – Etapas de mistura da argamassa: a) adição da cal em pasta na betoneira; b) mistura da cal em pasta; c) adição da areia; d) mistura da argamassa	166
Figura 76 – Moldagem das amostras de argamassa: a) amostras em fôrma acrílica e moldadas em corpos de prova 4x4x16cm para caracterização no estado endurecido; b) amostras após desmoldagem e em cura na câmara climatizada	167
Figura 77 – Amostras disposta em câmara de carbonatação	168
Figura 78 – Amostras testadas com fenolftaleína quanto à carbonatação: a) corpo de prova 4x4x16cm; b) amostra de argamassa 4x4x1cm; c) exemplo de amostras de argamassa com o interior não carbonatado	169
Figura 79 – Aplicação do fotocatalisador nas amostras.....	171
Figura 80 – Embalagem acrílica para disposição das amostras a) embalagem com fita dupla face. b) amostra de argamassa fixa na embalagem	172
Figura 81 – Aplicação do meio nutricional nas amostras.....	173

Figura 82 – Amostras dispostas em BOD para aclimação, (a) amostras 4x4x1cm em caixa acrílica, (b) amostras para MEV em placas de Petri (c) reservatório com água destilada, (d) termohigrômetro.....	173
Figura 83 – Amostras dispostas para análise em BOD.....	174
Figura 84 – Amostras inoculadas em aclimação na BOD.....	175
Figura 85 – Sistema de coordenadas espacial L*a*b*.....	176
Figura 86 – Gabarito para medição com espectrofotômetro: a) parte superior para cada uma das condições de inóculo; b) parte inferior com anteparo para fixação das amostras	178
Figura 87 – Representação esquemática do posicionamento do espectrofotômetro para medição nos pontos pré-determinados em uma amostra: a) ordenação dos três pontos de medição, com diâmetro correspondente à abertura da lente para emissão do <i>flash</i> ; b) espectrofotômetro utilizado	179
Figura 88 – Leituras do microclima no interior da câmara onde permaneceram as amostras expostas à luz UVA	182
Figura 89 – ANOVA (fatorial) para o isolado de <i>Aspergillus niger</i> com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO ₂	183
Figura 90 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Aspergillus niger</i> – exposição à luz.....	184
Figura 91 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Aspergillus niger</i> – condição de escuro.....	185
Figura 92 – ANOVA (fatorial) para o isolado de <i>Purpureocillium lilacinum</i> com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO ₂	186
Figura 93 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Purpureocillium lilacinum</i> – exposição à luz	187
Figura 94 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Purpureocillium lilacinum</i> – condição de escuro	188
Figura 95 – ANOVA (fatorial) para o isolado de <i>Cladosporium Sphaerospermum</i> com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO ₂	188
Figura 96 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	189
Figura 97 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	190
Figura 98 – Verificação do comprimento de onda da lâmpada UVA utilizada no experimento	191
Figura 99 – Avaliação do crescimento do fungo <i>Cladosporium</i> sob incidência de luz UVA: a) primeiro ao quarto dia de medição; b) quinto ao oitavo dia de medição.....	192

Figura 100 – Avaliação do crescimento do fungo <i>Penicillium</i> sob incidência de luz UVA: a) primeiro ao quarto dia de medição; b) quinto ao oitavo dia de medição.....	193
Figura 101 – Curva granulométrica da cal hidratada CH-I.....	195
Figura 102 – DRX da cal hidratada utilizada nas moldagens	196
Figura 103 – DRX do TiO ₂ P25.....	197
Figura 104 – MEV por elétrons secundários do TiO ₂ utilizado nas análises: a) aumento de 1000x; b) aumento de 2500x; c) aumento 5000x; d) aumento 10000x	198
Figura 105 – Tensão de cisalhamento x taxa de cisalhamento da argamassa.....	199
Figura 106 – Reologia da dispersão com concentração de 5%: a) tempo zero de ultrassom; b) 30 segundos de ultrassom; c) 60 segundos de ultrassom; d) 120 segundos de ultrassom; e) 180 segundos de ultrassom	202
Figura 107 – Reologia da dispersão com concentração de 10%: a) tempo zero de ultrassom; b) 30 segundos de ultrassom; c) 60 segundos de ultrassom; d) 120 segundos de ultrassom; e) 180 segundos de ultrassom	203
Figura 108 – MEV por elétrons secundários das amostras-teste para dispersão superficial do TiO ₂ : a-b) amostras controle (sem TiO ₂); c-d) amostras com 5% de TiO ₂ e 120 segundo de ultrassom; e-f) amostras com 5% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom; g-h) amostras com 10% de TiO ₂ e 120 segundo de ultrassom; i-j) amostras com 10% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom.	204
Figura 109 – Imagens em lupa estereoscópica das amostras-teste para dispersão superficial do TiO ₂ : a-b) amostras controle (sem TiO ₂); c-d) amostras com 1% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom; e-f) amostras com 2% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom; g-h) amostras com 3% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom; i-j) amostras com 5% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom; k-l) amostras com 10% de TiO ₂ e 180 segundo de ultrassom.	206
Figura 110 – Configuração das amostras dispostas para análise na BOD.....	208
Figura 111 – Cronograma das medições das coordenada L*a*b* com espectrofotômetro ao longo do tempo e condições da amostra e exposição à lâmpada UVA	208
Figura 112 – Monitoramento da UR (%) e temperatura (°C) no interior da BOD durante 1 ano de ensaio	209
Figura 113 – Compilação de dados Isolado 1 com TiO ₂ exposto à luz UVA	210
Figura 114 – Compilação de dados Isolado 1 sem TiO ₂ exposto à luz UVA.....	211
Figura 115 – Compilação de dados Isolado 1 com TiO ₂ condição de escuro.....	212
Figura 116 – Compilação de dados Isolado 1 sem TiO ₂ condição de escuro.....	213
Figura 117 – Imagens da evolução do manchamento fúngico: a) amostra 4 com TiO ₂ e exposto à luz UVA (1 semana); b) amostra 4 com exposição à luz UVA (28 semanas); c) amostra 6 com TiO ₂ e exposto à luz UVA (1 semana); d) amostra 6 com exposição à luz UVA (28 semanas); e)	

amostra 11 sem TiO ₂ e exposto à luz UVA (1 semana); f) amostra 11 com exposição à luz UVA (28 semanas).....	219
Figura 118 – Imagens em lupa estereoscópica do Isolado 1 <i>Aspergillus niger</i> em placa e Petri com meio nutriente ágar Sabouraud e das amostras inoculadas: a) 500µm; b) 200µm.....	220
Figura 119 – Crescimento do Isolado 1 <i>Aspergillus niger</i> na amostra com aplicação do fotocatalisador e exposta	221
Figura 120 – Crescimento do Isolado 1 <i>Aspergillus niger</i> na amostra com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000µm; b) 100µm.....	221
Figura 121 – Crescimento do Isolado 1 <i>Aspergillus niger</i> na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) 500µm; b) 100µm	221
Figura 122 – Crescimento do Isolado 1 <i>Aspergillus niger</i> na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000µm; b) 200µm.....	221
Figura 123 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o Isolado 1 (<i>Aspergillus niger</i>), com condições de exposição à luz e ao escuro	222
Figura 124 – ANOVA comparação entre as médias dos diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para o Isolado 1 (<i>Aspergillus niger</i>).....	223
Figura 125 – Compilação de dados Isolado 2 com TiO ₂ exposto à luz UVA	224
Figura 126 – Compilação de dados Isolado 2 sem TiO ₂ exposto à luz UVA.....	225
Figura 127 – Compilação de dados Isolado 2 com TiO ₂ condição de escuro	226
Figura 128 – Compilação de dados Isolado 2 sem TiO ₂ condição de escuro	227
Figura 129 – Imagens em lupa estereoscópica do Isolado 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i> em placa e Petri com meio nutriente ágar Sabouraud e das amostras inoculadas: a) 100µm; b) 100µm	232
Figura 130 – Crescimento do Isolado 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i> na amostra com aplicação do fotocatalisador e exposta à luz UVA: a) 200µm; b) 1.000µm	233
Figura 131 – Crescimento do Isolado 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i> na amostra com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000µm; b) 500µm.....	233
Figura 132 – Crescimento do Isolado 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i> na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) 1.000µm; b) 100µm	233
Figura 133 – Crescimento do Isolado 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i> na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000µm; b) 100µm	234
Figura 134 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o Isolado 2 (<i>Purpureocillium lilacinum</i>).....	234

Figura 135 – ANOVA comparação entre os diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para o Isolado 2 (<i>Purpureocillium lilacinum</i>)	235
Figura 136 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados com TiO_2 exposto à luz UVA	236
Figura 137 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados sem TiO_2 exposto à luz UVA	237
Figura 138 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados com TiO_2 condição de escuro ..	238
Figura 139 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados sem TiO_2 condição de escuro...	239
Figura 140 – Imagens em lupa estereoscópica dos Isolados inoculados como consórcio em placa de Petri com meio nutriente ágar Sabouraud: a) <i>Fusarium</i> sp., 200 μ m; b) <i>Cladosporium</i> sp., 100 μ m; c) <i>Cladosporium</i> sp., 200 μ m; d) <i>Cladosporium sphaerospermum</i> , 200 μ m; e) <i>Trichoderma atroviride</i> , 200 μ m; f) <i>Acremonium</i> sp, 200 μ m	244
Figura 141 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia com aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) amostra 49, 1.000 μ m; b) amostra 50, 100 μ m; c) amostra 51, 500 μ m d) amostra 52, 200 μ m	245
Figura 142 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) amostra 55, 200 μ m; b) amostra 56, 200 μ m; c) amostra 55, 200 μ m; d) amostra 59, 200 μ m	246
Figura 143 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) amostra 62, 200 μ m; b) amostra 63, 200 μ m; c) amostra 64, 200 μ m; d) amostra 65, 100 μ m	246
Figura 144 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia SEM aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) amostra 67, 100 μ m; b) amostra 69, 200 μ m; c) amostra 70, 200 μ m; d) amostra 71, 200 μ m	247
Figura 145 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o consórcio de 5 isolados	248
Figura 146 – ANOVA comparação entre os diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para os 5 isolados.....	249
Figura 147 – Amostra 4: <i>Aspergillus niger</i> , amostra com TiO_2 e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA.....	250
Figura 148 – Amostra 5: <i>Aspergillus niger</i> , amostra com TiO_2 e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA.....	251
Figura 149 – Amostra 6: <i>Aspergillus niger</i> , amostra com TiO_2 e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA.....	251
Figura 150 – Amostra 16: <i>Aspergillus niger</i> , amostra com TiO_2 e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada	252
Figura 151– Amostra 22: <i>Aspergillus niger</i> , amostra com TiO_2 e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada	252

Figura 152 – Amostra 11: <i>Aspergillus niger</i> , amostra sem TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	253
Figura 153 – Amostra 26: <i>Purpureocillium lilacinum</i> , amostra com TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	254
Figura 154 – Amostra 27: <i>Purpureocillium lilacinum</i> , amostra com TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	254
Figura 155 – Amostra 29: <i>Purpureocillium lilacinum</i> , amostra com TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	255
Figura 156 – Amostra 33: <i>Purpureocillium lilacinum</i> , amostra sem TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	255
Figura 157 – Amostra 38: <i>Purpureocillium lilacinum</i> , amostra com TiO ₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada	256
Figura 158 – Amostra 49: consórcio de fungos, amostra com TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	257
Figura 159 – Amostra 51: consórcio de fungos, amostra com TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	257
Figura 160 – Amostra 55: consórcio de fungos, amostra Sem TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	258
Figura 161 – Amostra 56: consórcio de fungos, amostra Sem TiO ₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA	258
Figura 162 – Amostra 62: consórcio de fungos, amostra com TiO ₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada	259
Figura 163 – Amostra 63: consórcio de fungos, amostra com TiO ₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada	259
Figura 164 – Amostras utilizadas para análise em MEV	261
Figura 165 – Amostras controle sem inóculo de fungos, com ou sem o fotocatalisador: a) com TiO ₂ , magnificação 500x; b) sem TiO ₂ , magnificação 500x; c) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; d) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x; e) com TiO ₂ , magnificação 10.000x; f) sem TiO ₂ , magnificação 10.000x.....	261
Figura 166 – Isolado 1 (<i>Aspergillus niger</i>) com exposição à luz UVA: a) com TiO ₂ , magnificação 500x; b) sem TiO ₂ , magnificação 500x; c) com TiO ₂ , magnificação 2.500x; d) sem TiO ₂ , magnificação 2.500x; e) Com TiO ₂ , magnificação 5.000x; f) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x; g) sem TiO ₂ , magnificação 15.000x.....	262
Figura 167 – Cristais de oxalato de cálcio	264
Figura 168 – Isolado 1 (<i>Aspergillus niger</i>) em condição de escuro: a) com TiO ₂ , magnificação 500x; b) sem TiO ₂ , magnificação 500x; c) com TiO ₂ , magnificação 2.500x; d) sem TiO ₂ , magnificação 2.500x; e) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; f) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x ...	264

Figura 169 – Isolado 2 (<i>Purpureocillium lilacinum</i>) com exposição à luz UVA:	266
Figura 170 – Isolado 2 (<i>Purpureocillium lilacinum</i>) em condição de escuro: a) com TiO ₂ , magnificação 500x; b) sem TiO ₂ , magnificação 500x; c) com TiO ₂ , magnificação 2.500x; d) sem TiO ₂ , magnificação 2.500x; e) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; f) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x; g) sem TiO ₂ , magnificação 3.000x	267
Figura 171 – Consórcio de 5 fungos com exposição à luz UVA: : a) com TiO ₂ , magnificação 100x; b) sem TiO ₂ , magnificação 100x; c) com TiO ₂ , magnificação 500x; d) sem TiO ₂ , magnificação 500x; e) com TiO ₂ , magnificação 2.500x; f) sem TiO ₂ , magnificação 2.500x; g) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; h) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x; i) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; j) sem TiO ₂ , magnificação 10.000x	268
Figura 172 – Consórcio de 5 fungos em condição de escuro: a) com TiO ₂ , magnificação 500x; b) sem TiO ₂ , magnificação 500x; c) com TiO ₂ , magnificação 2.500x; d) sem TiO ₂ , magnificação 2.500x; e) com TiO ₂ , magnificação 5.000x; f) sem TiO ₂ , magnificação 5.000x; g) sem TiO ₂ , magnificação 10.000x	270
Figura 173 – Cristais de diferentes oxalatos produzidos por fungos: a) oxalato de zinco, produzido pelo fungo <i>Serpula himantioides</i> ; b) oxalato de zinco produzido por <i>Aspergillus niger</i>	271

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fungos verificados em alguns trabalhos desenvolvidos no Brasil	69
Tabela 2 – Nomeação das amostras para cada ambiente e ensaios a serem realizados (pavimentos térreo e superior)	94
Tabela 3 – Denominação das amostras para análise de teor de umidade e porosidade	100
Tabela 4 – Dados climáticos para o mês de novembro de 2015 na cidade de Porto Alegre – RS	101
Tabela 5 – Quantidade de material coletado para realização do ensaio de proporcionamento ligante/agregado.....	103
Tabela 6 – Diluições adotadas por ponto de coleta e data de realização	108
Tabela 7 – Soluções para Mix de PCR	112
Tabela 8 – Distribuição dos sensores de medição de UR e temperatura na edificação.....	113
Tabela 9 – Dados microclimáticos do monitoramento – interior da edificação	116
Tabela 10 – valores médios para temperatura máxima, mínima e UR exterior no ano de 2016 na cidade de Porto Alegre (RS).....	118
Tabela 11 – Teor de umidade natural nas amostras.....	120
Tabela 12 – Teor de Umidade higroscópica nas diferentes amostras de argamassa	122
Tabela 13 – Dados obtidos da análise de reconstituição de traço das amostras	124
Tabela 14 – Distribuição granulométrica das mostras.....	127
Tabela 15 – Descrição dos compostos verificados na análise de DRX, apresentados na Figura 47.....	130
Tabela 16 – Composição química da argamassa a partir da análise de Fluorescência de raios X (FRX).....	130
Tabela 17 – Descrição dos dados obtidos na análise termogravimétrica (TGA)	132
Tabela 18 – Estimativa de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) a partir de 1 grama de amostra – Coleta superfícies exteriores e ambientes interiores.....	141
Tabela 19 – Isolados selecionados para identificação através do microcultivo	143
Tabela 20 – Isolados selecionados para identificação através do microcultivo (continuação...)	144
Tabela 21 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas	144

Tabela 22 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas (continuação...)	145
Tabela 23 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas (continuação...)	146
Tabela 24 – Identificação molecular dos isolados fúngicos selecionados	147
Tabela 25 – substratos coletados, propriedades e fungos identificados	148
Tabela 26 – Isolados selecionados para inóculo nas amostras de argamassa	158
Tabela 27 – Ensaio de caracterização dos materiais secos a serem realizados	165
Tabela 28 – Ensaio de caracterização de argamassa no estado fresco e endurecido	168
Tabela 29 – Identificação das amostras encaminhadas para análise em MEV	181
Tabela 30 – Massa unitária e massa específica da Cal hidratada CH-I	194
Tabela 31 – Granulometria a laser da cal hidratada	195
Tabela 32 – Distribuição granulométrica adotada	196
Tabela 33 – Caracterização industrial do TiO ₂ P25	197
Tabela 34 – Caracterização no estado fresco das argamassas	198
Tabela 35 – Massa específica aparente, relação água ligante e índice de consistência das argamassas aos 97 dias	199
Tabela 36 – Massa específica aparente, relação água ligante e índice de consistência das argamassas pós-carbonatação em câmara de CO ₂	199
Tabela 37 – Resistência à compressão axial e tração na flexão (NBR 13.279) das argamassas aos 97 dias	200
Tabela 38 – Resistência à compressão axial e tração na flexão (NBR 13.279) das argamassas pós carbonatação	200
Tabela 39 – Absorção por capilaridade (NBR 15.259) aos 97 dias	200
Tabela 40 – Absorção por capilaridade (NBR 15.259) pós carbonatação	200
Tabela 41 – Módulo de elasticidade dinâmico (NBR 15.630) aos 97 dias	200
Tabela 42 – Módulo de elasticidade dinâmico (NBR 15.630) pós carbonatação	201
Tabela 43 – Percentual de ocorrência das taxas de UR no período de ensaio na BOD	209
Tabela 44 – ΔE para as amostras do Isolado 1 com aplicação do TiO ₂ e expostas à luz	215
Tabela 45 – ΔE para as amostras do Isolado 1 sem aplicação do TiO ₂ e expostas à luz	216

Tabela 46 – ΔE para as amostras do Isolado 1 com aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	217
Tabela 47 – ΔE para as amostras do Isolado 1 sem aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	218
Tabela 48 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o Isolado 1	223
Tabela 49 – ΔE para as amostras do Isolado 2 com aplicação do TiO_2 e expostas à luz	229
Tabela 50 – ΔE para as amostras do Isolado 2 sem aplicação do TiO_2 e expostas à luz.....	230
Tabela 51 – ΔE para as amostras do Isolado 2 com aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	231
Tabela 52 – ΔE para as amostras do Isolado 2 sem aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	232
Tabela 53 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o Isolado 2 (<i>Purpureocillium lilacinum</i>)	235
Tabela 54 – ΔE para as amostras consórcio com aplicação do TiO_2 e expostas à luz	241
Tabela 55 – ΔE para as amostras consórcio sem aplicação do TiO_2 e expostas à luz	242
Tabela 56 – ΔE para as amostras consórcio com aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	243
Tabela 57 – ΔE para as amostras consórcio sem aplicação do TiO_2 e em condição de escuro	244
Tabela 58 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o consórcio de 5 isolados	248

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

a*	coordenada próxima às cores vermelho/verde no espaço tridimensional de cores
a _w	atividade de água
b*	coordenada próxima às cores amarela/azul no espaço tridimensional de cores
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
Ca (OH) ₂	hidróxido de cálcio (cal hidratada) ou Portelândia
CaCO ₃	carbonato de cálcio ou calcita
CaO	óxido de cálcio (cal virgem)
CIENTEC	Fundação de Ciência e Tecnologia
CO ₂	dióxido de carbono (gás carbônico)
CV	Coefficiente de Variação
ΔE	variação de cor, considerando a escala tridimensional de cores e a luminosidade
ΔL	variação de luminosidade
DNA	ácido desoxirribonucleico
DNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados - nucleotídeos do DNA formados pelas bases (Adenina, Citosina, Guanina e Timina)
DP	Desvio Padrão
DRX	Difração de Raios X
DTG	curva da Termografia Derivada
EPS	<i>Extracellular Polymeric Substances</i>
FRX	Fluorescência de Raios X
HCl	ácido clorídrico
HNO ₃	ácido nítrico
ICCROM	<i>International Centre for the Study of the Preservation and Restoration of Cultural Property</i>
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IPT	Instituto de Pesquisas Tecnológicas
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
L*	luminosidade
LNEC	Laboratório Nacional de Engenharia Civil
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Módulo de Finura
Mg(OH) ₂	hidróxido de magnésio
MgCO ₃	carbonato de magnésio (magnesita)
MgO	óxido de magnésio
MPa	Megapascal
NTPR	Núcleo de Tecnologia da Preservação e da Restauração
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	potencial hidrogeniônico
Rc	Resistência à compressão
Rt	Resistência à tração
SMC	Secretaria Municipal de Cultura
TG	Termogravimetria
TiO ₂	dióxido de titânio

UFC	Unidades formadoras de Colônia
UR	Umidade Relativa
URE	Umidade Relativa de Equilíbrio
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
1.1	<i>JUSTIFICATIVA</i>	29
1.2	<i>OBJETIVOS</i>	31
1.2.1	Objetivo Principal	31
1.2.2	Objetivos Específicos	31
1.3	<i>ORIGINALIDADE</i>	32
2	REVISÃO DA LITERATURA	34
2.1	<i>A IMPORTÂNCIA DA CONSERVAÇÃO</i>	34
2.2	<i>AS ARGAMASSAS HISTÓRICAS</i>	36
2.3	<i>DETERIORAÇÃO EM EDIFICAÇÕES HISTÓRICAS</i>	38
2.4	<i>CARACTERIZAÇÃO DE ARGAMASSAS HISTÓRICAS</i>	41
2.4.1	Método de amostragem	42
2.4.2	Método de análise de argamassas históricas	43
2.5	<i>BIODETERIORAÇÃO</i>	48
2.5.1	Agentes biológicos de deterioração – os microrganismos e a formação do biofilme	52
2.5.2	Fungos filamentosos	61
2.6	<i>CARACTERIZAÇÃO DOS AGENTES BIOLÓGICOS</i>	69
2.7	<i>TRATAMENTO DE SUPERFÍCIES HISTÓRICAS QUANTO À BIODETERIORAÇÃO POR MICRORGANISMOS</i>	75
2.7.1	Aplicação de dióxido de titânio como alternativa à recorrência da biodeterioração por fungos	77
3	PROGRAMA EXPERIMENTAL	84
3.1	<i>FASE 1 - ESTUDO DA EDIFICAÇÃO HISTÓRICA - CASA GODOY</i>	85
3.1.1	Caracterização da edificação	89
3.1.2	Análise ambiental – monitoramento das condições microclimáticas	90
3.1.3	Procedimento de coleta e análise dos materiais para caracterização físico-química	91
3.1.3.1	Caracterização do ponto de vista do teor de umidade	100
3.1.3.2	Caracterização da higroscopicidade	102
3.1.3.3	Proporcionamento ligante agregado e distribuição granulométrica	103
3.1.3.4	Difração de raios X (DRX), Fluorescência de raios X (FRX) e Análise Termogravimétrica (TG)	104
3.1.4	Procedimentos de coleta e caracterização dos agentes biológicos	105
3.1.4.1	Prospecção, coleta, estimativa e isolamento dos fungos através do método da Diluição em placas	106
3.1.4.2	Identificação por microcultivo	110
3.1.4.3	Extração de DNA (PCR)	110
3.2	<i>RESULTADOS DA FASE 1</i>	112
3.2.1	Análise ambiental	112
3.2.2	Análise dos materiais	120
3.2.2.1	Teor de umidade	120
3.2.2.2	Proporcionamento ligante / agregado	124
3.2.2.3	Distribuição granulométrica	125
3.2.2.4	Difração de raios X (DRX), Fluorescência de raios X (FRX) e Análise Termogravimétrica (TG)	128

3.2.3	Análise biológica	133
3.2.3.1	Prospecção, estimativa e isolamento por microcultivo	133
3.2.3.2	Identificação morfológica - microcultivo	143
3.2.3.3	Extração de DNA	147
3.3	FASE 2 – ANÁLISE EM LABORATÓRIO A PARTIR DA CARACTERIZAÇÃO DA EDIFICAÇÃO HISTÓRICA (CASA GODOY)	151
3.3.1	Avaliação da toxicidade do fotocatalisador quanto a isolados fúngicos	153
3.3.2	Verificação da influência da luz UVA no crescimento de fungos.....	156
3.3.3	Preparo da suspensão de esporos dos isolados mais frequentes a partir da Fase 1 para inóculo em substrato de argamassa	158
3.3.4	Condições de exposição das amostras	161
3.3.5	Instrumentação da incubadora <i>Biochemical Oxygen Demand</i> (BOD)	162
3.3.6	Moldagem das amostras de argamassa	164
3.3.7	Determinação da concentração e método de dispersão das partículas de TiO ₂	169
3.3.8	Preparo das amostras pós moldagem, cura e aplicação do TiO ₂ para inóculos fúngicos	171
3.3.9	Inoculação e disposição das amostras em BOD.....	174
3.3.10	Análise com espectrofotômetro das coordenadas de cor das amostras em BOD	175
3.3.11	Verificação da influência da fotocatalise heterogênea no crescimento de fungos nos substratos de argamassa	179
3.3.11.1	Análise de imagens fotográficas	179
3.3.11.2	Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	180
3.4	RESULTADOS DA FASE 2	181
3.4.1	Toxicidade do TiO ₂ com isolados fúngicos selecionados	181
3.4.2	Verificação da influência da luz UVA no crescimento de isolados fúngicos	191
3.4.3	Caracterização dos materiais secos	194
3.4.4	Ensaio da argamassa no estado fresco	198
3.4.5	Ensaio em argamassa no estado endurecido.....	199
3.4.6	Verificação da concentração ideal e tempo de ultrassom do TiO ₂ em água deionizada	201
3.4.7	Monitoramento das amostras de argamassa inoculadas	207
3.4.8	Resultados das análises com o software <i>Image J</i>	249
3.4.9	Microscopia Eletrônica de Varredura	260
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	273
4.1	CONCLUSÕES	273
5	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	278
	REFERÊNCIAS	279

1 INTRODUÇÃO

Hueck (1965-1968)¹ apud Allsopp *et al.* (2016) definiu o fenômeno da biodeterioração como “qualquer mudança indesejável nas propriedades de um material causada pelas atividades vitais dos organismos”. Descoloração e desagregação estão entre as principais manifestações relacionadas ao crescimento e atividade de organismos nos materiais das edificações. Tanto as edificações históricas quanto as contemporâneas estão suscetíveis a este tipo de problema (GAYLARDE; GAYLARDE, 2002). Contudo, alterações provocadas aos materiais históricos são, muitas vezes, de difícil recuperação, considerando aspectos de compatibilidade e valores inerentes aos materiais originais, resultando em perdas de valor inestimável.

O estudo da biodeterioração voltado à preservação dos bens históricos de interesse patrimonial, a partir de análises sistemáticas e científicas teve início principalmente na década de 1980. Neste período, segundo Sterflinger *et al.* (2018a), iniciou-se a aplicação de análises microbiológicas em monumentos e obras de arte por pesquisadores considerados pioneiros nesta especialidade, tais como Wolfgang E. Krumbein na Alemanha, Cesareo Saiz-Jiménez na Espanha, Rob Koestler nos Estados Unidos, Michela Monte na Itália, Mayumi Inoue no Japão e Dennis Allsopp na Inglaterra.

No contexto nacional, a pesquisa voltou-se a esta temática principalmente a partir da década de 90, com o desenvolvimento de trabalhos relacionados à biodeterioração em materiais construtivos, tais como os revestimentos de argamassa e o concreto. Citam-se alguns: Gaylarde e Gaylarde (1999); Barrionuevo (2004); Beato Sobrinho (2008); Guerra (2012); Kiel (2005); Shirakawa (1994); Shirakawa *et al.* (1997); Shirakawa *et al.* (2002, 2003, 2009 e 2015); Silva (2009), entre outros. No entanto, a diversidade de agentes biológicos existentes, os mecanismos de deterioração e seus

¹ HUECK, H.J. The biodeterioration of materials as part of hylobiology. **Mater. Org.**, v. 1(1), 5-34, 1965.

HUECK, H. J. The biodeterioration of materials – an appraisal. In **Biodeterioration of Materials**. Eds. Walters, A. H. and Elphick, J.S. Elsevier, London, pp. 6-12, 1968.

efeitos nos variados substratos colonizados, além das diferentes condições climáticas entre as localidades estimulam a necessidade de maiores investigações. Aliado a isto, a disponibilização de ferramentas cada vez mais sofisticadas e eficientes para o estudo da biodeterioração, impulsionam a pesquisa para não só identificar os agentes, mas correlacionar seus mecanismos de deterioração e as efetivas alterações nos diversos substratos, sustentando, assim, um planejamento adequado para a preservação dos materiais.

De acordo com Gaylarde e Gaylarde (2002), os microrganismos formam biofilmes nas superfícies dos materiais pétreos das edificações, bem como nos revestimentos em tinta, resultando em alterações estéticas e danos na estrutura do material. Os autores mencionam como principais organismos responsáveis pela biodeterioração, as bactérias, os fungos e as algas. Para Sterflinger (2010) os fungos são importantes agentes de deterioração do patrimônio cultural, devido a sua intensa atividade enzimática e habilidade de crescimento mesmo quando há reduzida disponibilidade de água. Arroyo (2009) destaca que os fungos são considerados os microrganismos mais ativos neste processo.

No ambiente, os fungos são os principais agentes responsáveis pela decomposição e reciclagem de materiais de natureza orgânica. No ambiente construído, estão associados a danos físicos e estéticos, além de problemas relacionados à saúde humana, tais como alergias e reações tóxicas (STEFANOWSKI; CURLING; ORMONDROYD, 2017). Usuários de ambientes contaminados por fungos podem desenvolver problemas de saúde, tais como, asma, tosse, chiado e infecções do trato respiratório superior, conforme descritos em He *et al.* (2018). Evidências epidemiológicas sugerem que o mofo (esporos fúngicos e seus fragmentos de tecido) aumenta o risco de doenças respiratórias, como rinite alérgica e asma (DE LA TORRE *et al.*, 1991). A contaminação por fungos também pode aumentar a incidência de doenças raras, como alveolite, sinusite crônica e anafilática. Além disso, pode ter efeitos adversos, de caráter psicológico, afetando, inclusive, a eficiência das pessoas no ambiente de trabalho (HE *et al.*, 2018). Fungos filamentosos são descritos com frequência como agentes de deterioração em materiais construtivos, tanto em ambiente interiores quanto exteriores (GAYLARDE *et al.*, 2011; GUTAROWSKA; PIOTROWSKA, 2007; JOHANSSON; SVENSSON; EKSTRAND-TOBIN, 2013;

MANSO *et al.*, 2015; PAOLETTI *et al.*, 2013; SHIRAKAWA *et al.*, 2003; STEFANOWSKI; CURLING; ORMONDROYD, 2017; VERDIER *et al.*, 2014).

Os procedimentos para tratamento e prevenção do crescimento fúngico incluem a utilização de biocidas, frequentemente aplicados na conservação de monumentos históricos. No entanto, o uso recorrente destes produtos pode promover o desenvolvimento de mecanismos de resistência dos agentes biológicos. Outra questão relacionada aos biocidas convencionais remete à sua toxicidade, resultando em possíveis problemas à saúde humana (FONSECA, 2009).

Nas últimas décadas, estudos vêm sendo desenvolvidos com a aplicação de produtos em escala nanométrica, como o fotocatalisador TiO_2 , conferindo propriedades antimicrobianas e autolimpantes aos materiais construtivos, inclusive apresentando compatibilidade com os materiais históricos. Citam-se Fonseca *et al.* (2010); Foster *et al.* (2011); De Filpo *et al.* (2013), Gómez-Ortiz *et al.* (2013); Franzoni (2014), La Russa *et al.* (2014), Barberio *et al.* (2015), Munafò; Goffredo; Quagliarini (2015); Ruffolo *et al.* (2017) entre outros.

Neste contexto, o presente trabalho estuda as manifestações patológicas correlacionadas ao fenômeno da biodeterioração de materiais construtivos, provocadas especialmente por fungos filamentosos. Buscou-se com base no referencial teórico internacional, avaliar estratégias capazes de reduzir a recorrência do problema nos revestimentos de argamassa de edificações históricas com as características locais propostas.

1.1 JUSTIFICATIVA

Conforme Gaylarde; Ribas Silva e Warscheid (2003), os custos associados ao tratamento da deterioração dos materiais de construção por microrganismos são difíceis de estimar, visto que incluem etapas de limpeza, reparo e pintura, sem mencionar custos relativos às intervenções em bens patrimoniais com potenciais riscos de desfiguração e perda de material histórico.

Sedlbauer (2001) e Górnny (2004) afirmam que, em 1996, somente na Alemanha, os custos de investimento para tratamento de edificações afetadas pelo problema

comumente denominado mofo, resultado do crescimento de fungos filamentosos, foi estimado em 200 milhões de euros por ano. Este fato resultou no largo investimento em pesquisas, com vistas a mitigar os danos causados pelo crescimento de fungos nos materiais das edificações. A Alemanha, hoje, é um dos países com maior avanço tecnológico neste tema.

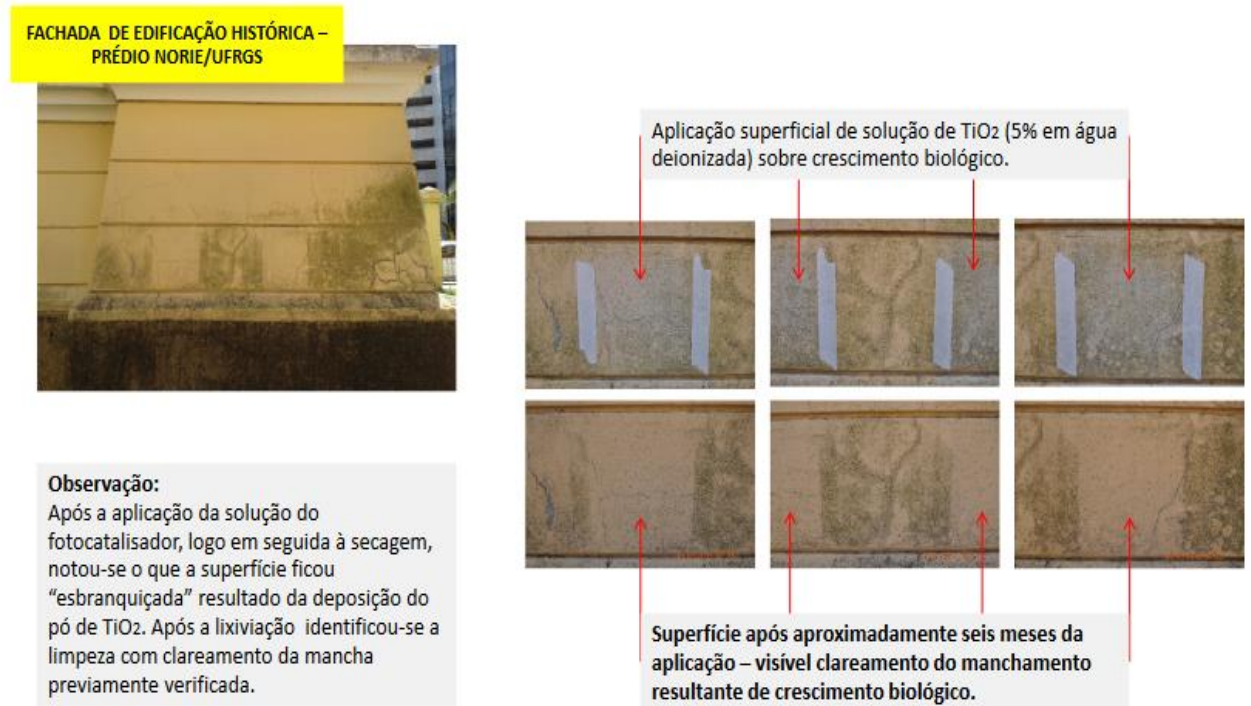
No Brasil, o assunto ainda é relativamente recente, principalmente quando relacionado ao ambiente construído, incluindo os bens patrimoniais. Nota-se que ainda há uma certa dificuldade em avançar além das limitações impostas por estudos interdisciplinares. A diversidade microbiana, a variedade de materiais suscetíveis à biodeterioração, os aspectos microclimáticos, o desenvolvimento tecnológico, dispondo de métodos e ferramentas aprimoradas de análise em cada área de conhecimento, e o uso de novos produtos, como o fotocatalisador TiO_2 , são alguns dos desafios trazidos pela interface entre as diferentes áreas do conhecimento abordadas. Desta forma, a demanda por estudos que possam aprofundar o entendimento da biodeterioração, ampliar a listagem de agentes biológicos já identificados em edificações históricas brasileiras e ainda propor e verificar a eficiência de estratégias para o controle à recorrência, justificam a escolha do tema abordado neste trabalho.

O fotocatalisador TiO_2 usado para o tratamento do crescimento biológico foi escolhido com base em inúmeros artigos internacionais que mencionam a eficiência no combate de fungos e bactérias. No entanto, muitos destes trabalhos destacam que há um comportamento diferenciado com relação aos diferentes microrganismos. Ainda é vigente a discussão sobre as formas de aplicação ao substrato, durabilidade, formas eficientes de ativação da fotocatalise e aplicabilidade aos bens históricos.

Em trabalho expedito, realizado em um trecho da fachada de um dos prédios do conjunto de edificações históricas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), prédio do Núcleo Orientado para Inovação da Edificação (NORIE), em Porto Alegre (MASUERO *et al.*, (2017), mostrado na Figura 1, verificou-se, após cerca de 6 meses de aplicação superficial do fotocatalisador TiO_2 , observou-se a efetiva autolimpeza do revestimento que apresentava um intenso crescimento biológico. Embora não tenha sido realizada a identificação biológica verificada, foi evidente o

resultado observado. A realização deste trabalho reforçou a motivação para o desenvolvimento da presente pesquisa, considerando o uso de TiO_2 contra agentes biológicos de deterioração nas superfícies de edificações históricas.

Figura 1 – Efetividade da fotocatalise em superfície de edificação histórica da UFRGS com crescimento biológico



1.2 OBJETIVOS

Com base no que foi exposto, a seguir são apresentados o objetivo principal e específicos desta pesquisa.

1.2.1 Objetivo Principal

Avaliar a eficiência do fotocatalisador TiO_2 contra fungos filamentosos normalmente encontrados em argamassas de revestimento e isolados a partir de uma edificação histórica.

1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos desta pesquisa são:

- a) caracterizar, através de análises físico-químicas, substratos de argamassa de revestimento em uma edificação histórica representativa do início do século XX;
- b) monitorar o microclima interior, umidade relativa e temperatura, da edificação em análise;
- c) identificar os fungos filamentosos mais frequentes nos substratos da edificação histórica selecionada;
- d) Avaliar a eficiência da fotocatalise nas amostras de argamassa inoculadas com os fungos selecionados mais frequentes, sob condições controladas de temperatura, umidade relativa e incidência lumínica.

1.3 ORIGINALIDADE

No Brasil, desde a década de 90 são desenvolvidas pesquisas relacionadas à biodeterioração de materiais construtivos. Shirakawa (1994) avaliou a biodeterioração do concreto a partir de amostras ambientais. Além disso, a suscetibilidade de argamassas ao crescimento de fungos isolados de revestimentos em processo de biodeterioração (SHIRAKAWA *et al.*, 1997); o desenvolvimento de um teste acelerado para avaliar a bioreceptividade de argamassas ao crescimento de fungos (SHIRAKAWA; CINCOTTO; GAMBALE, 1999); o efeito de uma fórmula com biocida quanto ao crescimento de fungos em pintura de duas fachadas (SHIRAKAWA *et al.*, 2002); a influência de aditivos em argamassas de revestimento com pintura no crescimento de fungos em condições de ciclos de molhagem e secagem (SHIRAKAWA *et al.*, 2009); e o tratamento de painéis de gesso com nanopartículas de prata para inibição de crescimento do fungo *Cladosporium* (SHIRAKAWA *et al.*, 2013).

Pinheiro (2003) analisou o impacto do desenvolvimento do fungo *Cladosporium sphaerospermum* sobre a fase argamassa do concreto. Crispim (2003) estudou cianobactérias em biofilmes de fachadas de prédios históricos em Porto Alegre. Barrionuevo (2004) investigou o biofilme formado por fungos e cianobactérias nas ruínas jesuítas da região das missões no Rio Grande do Sul. Kiel (2005) avaliou a diversidade bacteriana em fachadas de edificações históricas de Porto Alegre. Silva

(2009) analisou a biodeterioração de tinta látex com e sem biocida quando exposta ao meio exterior e em experimento acelerado. Santos (2011) pesquisou a aplicação de biocidas na população microbiana de biofilmes em monumentos históricos da Bahia. Pereira (2012) realizou a análise da biodeterioração na biblioteca central da Universidade Federal de Santa Maria. Guerra (2012) verificou o crescimento de fungos filamentosos em Conjunto Histórico do final do século XIX em Pelotas.

Os referenciais verificados quanto à pesquisa nacional relacionados à análise de agentes microbiológicos de deterioração foram, de um modo geral, desenvolvidos com base nos métodos tradicionais de microcultivo, tendo, alguns, utilizado de modo complementar a biologia molecular. No entanto verificou-se que estes trabalhos, em sua maioria, voltaram-se ao estudo das superfícies exteriores das edificações ou em materiais de base cimentícia.

Neste trabalho buscou-se aprofundar o estudo dos fungos filamentosos com relação às argamassas históricas de revestimento à base de cal, considerando o microclima local da cidade de Porto Alegre. Os métodos aplicados são o de identificação por microcultivo e método molecular, visando a identificação em nível de espécie.

Com base na identificação e isolamento dos fungos filamentosos mais frequentes foi conduzida a verificação da eficiência do fotocatalisador TiO_2 quanto à sua propriedade antimicrobiana na aplicação em substratos de argamassas à base de cal. Além disso, não se encontram pesquisas nacionais que avaliem a eficiência do fotocatalisador com relação às argamassas históricas, considerando diversidade fúngica e microclima típico para a região sul do Brasil.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo serão abordadas questões referentes à importância da intervenção em edificações históricas com vista à sua conservação, os fenômenos de deterioração, a composição das argamassas de revestimento, bem como métodos relevantes à análise de tais materiais. Além disso, será discutida a biodeterioração por fungos filamentosos e a fotocatalise heterogênea do Dióxido de Titânio e suas propriedades autolimpantes.

Consideram-se estes, aspectos importantes na fundamentação do estudo proposto.

2.1 A IMPORTÂNCIA DA CONSERVAÇÃO

A intervenção em edificações históricas, sob uma perspectiva contemporânea, busca o embasamento técnico-científico como suporte à tomada de decisões para preservação dos bens patrimoniais. Além da tentativa de superar as limitações impostas por questões políticas e econômicas, percebe-se uma atuação mais crítica por parte dos profissionais com o objetivo não somente de recuperar fisicamente tais edificações, mas avaliar possíveis estratégias preventivas capazes de conter a recorrência dos problemas, a denominada “Conservação preventiva”. Há, ainda, a importante preocupação quanto à inserção de tais edificações em uma dinâmica contemporânea, adequando-as, sempre que possível, às necessidades atuais de uso, bem como o atendimento às solicitações impostas pelas condições do ambiente urbano atual.

Desta forma, destaca-se o tema das intervenções em edificações históricas, visto que a preocupação em preservá-las vai muito além dos indiscutíveis valores arquitetônicos, artísticos, de memória, de história, mas visa, também, ao aproveitamento das pré-existências sob uma ótica sustentável, reutilizando materiais e estruturas ainda em condições de recuperação e funcionalidade (LERSCH, 2003).

A ciência, assim, volta-se à análise dos fenômenos de deterioração correlacionados ao estudo das propriedades dos materiais históricos servindo de embasamento

fundamental para a proposição de estratégias conservativas eficientes, dando espaço, inclusive, para adoção de novas práticas.

Levando em conta o contexto deste estudo, segundo Lersch (2003), as edificações construídas na primeira metade do século XIX, na região de Porto Alegre – RS apresentam, ainda, muitas características da arquitetura luso-brasileira com relação aos sistemas construtivos e materiais. Com a abertura dos portos em 1808, foi intensificada a importação de materiais e equipamentos do exterior, permitindo a execução de edificações mais elaboradas e com acabamentos refinados.

Sendo assim, as edificações construídas no período anterior tiveram suas características modificadas para corresponder ao estilo internacional, principalmente europeu. No entanto, suas paredes e fundações permaneceram com as técnicas originais. O principal desenvolvimento correspondeu ao aperfeiçoamento dos acabamentos. Características relacionadas às alvenarias de tijolo, bem como os revestimentos de argamassa à base de cal e areia, pintados com motivos de caráter decorativos, foram, portanto, mantidos em muitas edificações (LERSCH, 2003). Estas características podem ser verificadas em muitos remanescentes em várias cidades do Rio Grande do Sul, assim como em muitas outras cidades do restante do país.

Muitas destas edificações que foram mantidas apresentam, portanto, características e materiais construtivos semelhantes, o que estimula o desenvolvimento de estudos que conduzam à compreensão dos fenômenos e à proposição de estratégias aplicáveis a um conjunto importante de edificações ainda existentes.

Os bens históricos edificados são o suporte físico da memória de uma época, refletindo hábitos, costumes, formas de habitar e construir. Sua conservação é justificada, assim, por ser uma importante herança a ser transmitida às gerações futuras.

A seguir serão descritos aspectos importantes com relação à composição das argamassas, com ênfase nos materiais históricos.

2.2 AS ARGAMASSAS HISTÓRICAS

De acordo com Carasek (2007), as argamassas são materiais de construção com propriedades de aderência e endurecimento, obtidos a partir da mistura homogênea de um ou mais ligantes, agregado miúdo (areia) e água, podendo conter ainda aditivos e adições minerais. São materiais amplamente utilizados no assentamento de alvenarias, nas etapas de revestimento (emboço, reboco ou camada única) de paredes e tetos, além de contrapisos e assentamento e rejuntamento de revestimentos cerâmicos e pedras.

Conforme Cincotto *et al.* (2007), a cal é, certamente, o ligante mais antigo utilizado pela humanidade para a composição de argamassas. Até a invenção do cimento Portland em 1824, era o único ligante utilizado nas construções expostas a intempéries.

Durante milênios e até meados do século XX, portanto, as argamassas eram constituídas basicamente da mistura de cal e agregado miúdo, geralmente de proveniência local, utilizadas tanto em revestimentos interiores quanto exteriores (VEIGA *et al.*, 2004 e RECENA, 2011).

A cal é obtida essencialmente a partir da calcinação de rochas calcárias ou, em alguns casos bem particulares, a partir de calcários marinhos (MARQUES, 2005). É um ligante inorgânico composto basicamente de cálcio e magnésio, apresentando-se na forma de um pó fino (CINCOTTO *et al.*, 2007).

Conforme Cincotto (1985) são matérias primas para a cal os calcários e os dolomitos, constituídos predominantemente dos minerais calcita e dolomita, respectivamente. Estes carbonatos são representados pelas fórmulas:

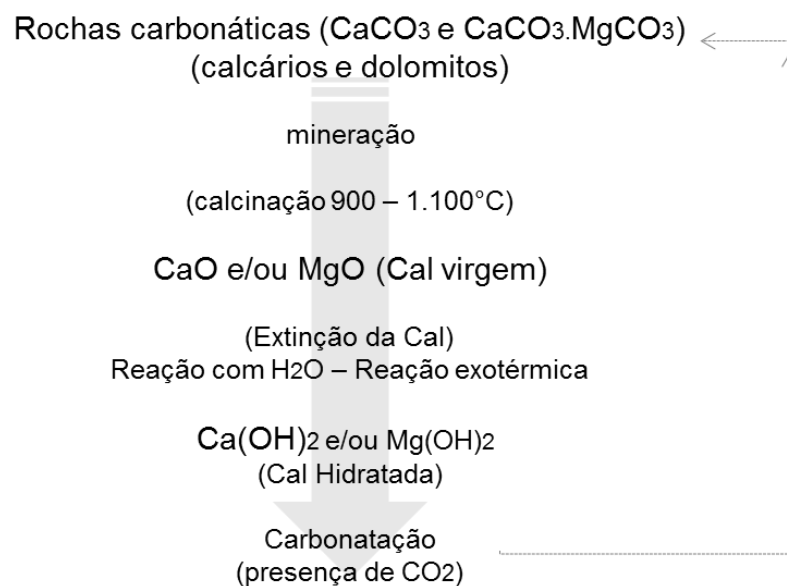
-CaCO₃: calcita ou carbonato de cálcio;

-(Mg, Ca) (CO₃)₂: dolomita ou carbonato de cálcio e magnésio.

De acordo com Cincotto *et al.* (2007) o processo de produção da cal inicia-se com a mineração e transformação das rochas carbonáticas (calcários e dolomitos), em óxidos (cal virgem) e anidrido carbônico (CO₂). Nesta etapa, os minerais são

calcinados entre 900°C e 1.110°C, liberando o CO₂ presente no carbonato. Os óxidos produzidos são instáveis, reagindo espontaneamente com a água ou com a umidade presente no ar, formando os hidróxidos (cal hidratada). Esta reação libera energia em forma de calor de hidratação e provoca expansão com aumento de volume significativo. Os hidróxidos produzidos reagem espontaneamente com o CO₂ presente no ar, gerando carbonato, produto mais estável. Essas reações compõem o denominado “ciclo da cal” representado esquematicamente na Figura 2.

Figura 2 – Representação esquemática do Ciclo da Cal



Fonte: a partir de Cincotto *et al.* (2007)

Conforme Baía e Sabbatini (2008), o revestimento em argamassa de uma superfície em edificações convencionais pode ser executado em uma única camada, denominado massa única, ou em duas camadas, denominado emboço e reboco. Nos revestimentos de duas camadas, o emboço comporta-se como uma camada de regularização da base e o reboco como acabamento. No revestimento de uma única camada, este cumpre ambas as funções, regularização e acabamento.

De acordo com Veiga e Tavares (2002), os revestimentos antigos geralmente possuíam mais de uma camada. As camadas de regularização e proteção eram constituídas por argamassas de cal e areia. Normalmente as mais internas tinham granulometria com maiores diâmetros de agregado que as externas e a deformação e porosidade tendiam a serem maiores no exterior com relação ao interior,

proporcionando um bom comportamento quanto às deformações estruturais e à água. Cada uma das camadas poderia possuir outras subcamadas. Sobre a camada de regularização e proteção era executada a de acabamento e decoração, podendo ser constituídas de argamassa de cal e areia fina. Por vezes, também era executada em várias subcamadas, com finura crescente das mais interiores para as mais exteriores. Estas, além da função de acabamento, eram muito importantes para a proteção do reboco. A coloração das superfícies poderia ser feita pela incorporação de pigmentos minerais ou por camadas posteriores de pintura, em geral, à base de cal com a adição destes mesmos pigmentos, podendo haver outras adições.

2.3 DETERIORAÇÃO EM EDIFICAÇÕES HISTÓRICAS

Os materiais construtivos estão frequentemente expostos aos diversos fatores de deterioração que tendem a atuar de forma dinâmica e muitas vezes sinérgica. Com relação aos materiais históricos, esta interação demonstra-se ainda mais complexa, principalmente pelo tempo em que estão expostas a estes fatores, bem como às mudanças ocorridas quanto ao seu uso, entorno e intervenções sofridas.

A deterioração de materiais porosos, tais como as argamassas históricas, é causada por processos mecânicos, físicos, químicos e biológicos. Com frequência estes diferentes processos ocorrem ao mesmo tempo ou em sequência, desta forma, quando o material apresenta indícios de deterioração, a identificação nem sempre é fácil, necessitando de análises interdisciplinares (TORRACA, 2009).

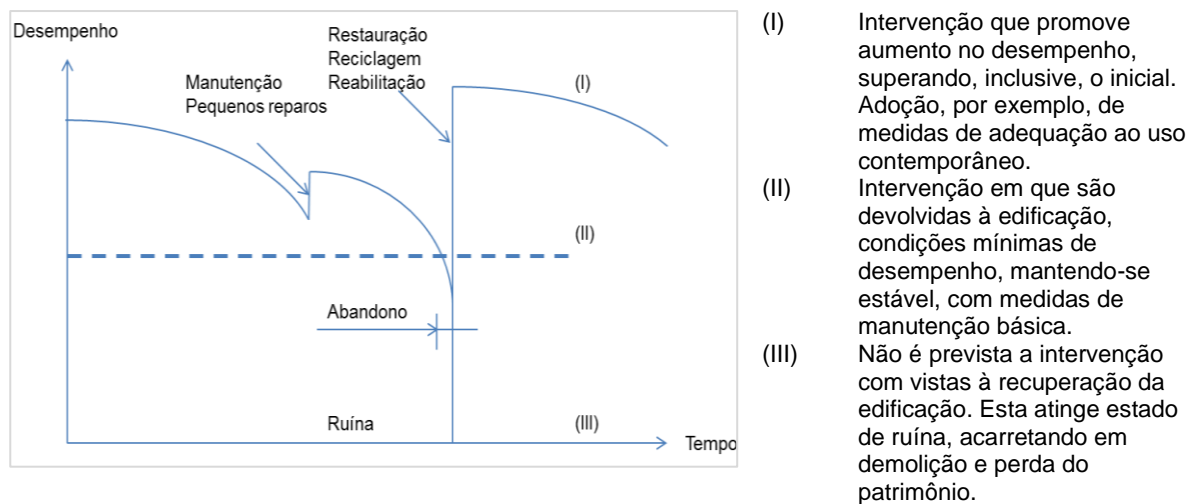
A deterioração mecânica pode ser ocasionada por tensões estruturais, expansões térmicas, expansões por corrosão de elementos metálicos, aumento de vibração no entorno, devido à elevação de tráfego de veículos, resultando na fissuração e ruptura de elementos de argamassa de revestimento.

A deterioração através de processos físicos envolve, em muitos casos a presença de água, em seus diferentes estados físicos. A porosidade e hidrofiliabilidade da maioria dos materiais históricos favorece a infiltração de água e aumento da umidade nos materiais, resultando no agravamento de danos quando associada ao fenômeno de gelo e degelo, cristalização de sais solúveis e principalmente no favorecimento do crescimento de agentes biológicos.

A deterioração química pode ser explicada pela reação entre compostos presentes na matriz das argamassas e poluentes químicos presentes no ar, resultando em incrustações e solubilização de componentes, em princípio insolúveis, como o carbonato de cálcio (CaCO_3) comumente presente nas argamassas históricas.

Com relação ao desempenho e vida útil das edificações históricas, Lersch (2003) faz uma adaptação do esquema de desempenho ao longo do tempo, exposto na Figura 3.

Figura 3 – Desempenho em função do tempo de edificações históricas.



Fonte: Lersch (2003), p.37

De acordo com a Figura 3, as intervenções nas edificações históricas, quando bem-sucedidas e responsáveis, são capazes de elevar o nível de desempenho a patamares acima, inclusive, da sua constituição original, visto que, especificam medidas que atendem também as exigências atuais de uso, compatibilizando-as com os aspectos históricos e originais.

A ausência de um planejamento de manutenção contínua, com a realização de pequenos reparos, pode conduzir a edificação à perda do desempenho mínimo. Em última instância a não reabilitação, restauração ou reciclagem, conduzirá a edificação à ruína. Quanto mais a edificação aproxima-se deste cenário, maiores os custos envolvidos para a recuperação dos materiais.

Dentre os principais problemas relacionados aos revestimentos de argamassa das edificações históricas, a ação química e mecânica da água é apontada como uma das maiores causas de deterioração, estando diretamente relacionada à permeabilidade dos revestimentos (MARQUES, 2005).

De acordo com Baía e Sabbatini (2008), a permeabilidade está relacionada à passagem de água pelas camadas de argamassa, sendo este um material poroso que permite a percolação da água tanto no estado líquido quanto de vapor. Esta propriedade é bastante influenciada pelo conjunto base-revestimento. O revestimento, portanto, para garantir uma maior durabilidade, deve ser estanque à água, impedindo ao máximo sua percolação, porém deve ser permeável ao vapor para permitir a secagem da umidade que eventualmente infiltra nas superfícies, proveniente de diversas fontes (condensação, infiltração, ascensional, entre outras).

A umidade em excesso nos revestimentos é responsável primeiramente por alterações estéticas (manchas), contudo sua capacidade de dissolução e transporte de substâncias, tais como poluentes presentes no ar e sais solúveis, intensificam seu efeito destrutivo (SOUSA; PEREIRA; BRITO, 2005). Além disso, a disponibilidade de água é pressuposto básico para o desenvolvimento de qualquer tipo de microrganismo nos diversos substratos (CANEVA *et al.*, 2000).

As argamassas de revestimento são substratos propícios ao desenvolvimento de diversas comunidades de seres vivos. A atividade biológica na superfície dos revestimentos resulta na formação de biofilmes, manifestando-se como manchas coloridas, incrustações e presença de estruturas de reprodução e crescimento. As atividades metabólicas destes organismos (principalmente com a produção de polímeros extracelulares), a produção e liberação de oxidantes e ácidos orgânicos e/ou inorgânicos, associados à presença de pigmentos coloridos e às pressões mecânicas resultantes do crescimento de suas estruturas, induzem a diferentes tipos de danos, de ordem física, química e estética. (SOUSA; PEREIRA; BRITO, 2005).

A partir da descrição geral das características construtivas das edificações da época a ser estudada, bem como da abordagem geral quanto aos principais fenômenos de deterioração, as seguir serão expostos aspectos quanto à caracterização das argamassas de revestimento das edificações históricas.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE ARGAMASSAS HISTÓRICAS

As argamassas, dependendo da época e local de construção, podem ser constituídas de diferentes ligantes. Portanto, para sua caracterização, é importante determinar primeiramente o tipo de ligante utilizado. Os ligantes à base de cal são quimicamente compostos de carbonato de cálcio (CaCO_3) ou também de carbonato de magnésio (MgCO_3). Em seguida, é importante identificar uma aproximação do traço desta argamassa.

A caracterização dos agregados também é importante, já que suas características irão influenciar em propriedades como textura, porosidade e coloração. Os parâmetros importantes a serem considerados são: a determinação do tipo de agregado, tamanho e distribuição granulométrica, além da cor e forma dos grãos.

Quanto à resistência mecânica, geralmente só pode ser estimada, em função de que as amostras, geralmente, só podem ser extraídas em tamanho reduzido. Pode-se no entanto, avaliar de um modo geral, esta característica, a partir de outros parâmetros relativos à sua composição, densidade aparente, distribuição e tamanho dos grãos de areia.

Uma última característica, também muito importante, refere-se à porosidade. Esta está correlacionada à higroscopicidade dos materiais (propriedade relativa ao transporte de água em estado líquido ou gasoso), aos mecanismos de desgaste (pressão de cristalização dos sais solúveis), à resistência (à compressão e flexão) e durabilidade das argamassas. Esta propriedade controla o conteúdo de água, relativos à retenção e evaporação da umidade, bem como penetração do ar nas estruturas, estando, portanto, também correlacionada ao processo de carbonatação do hidróxido de cálcio.

Sendo assim, para que seja possível a caracterização de argamassas históricas é preciso seguir uma metodologia de análise, a partir da adequada obtenção de amostras, representativas dos materiais a serem verificados, assunto, este, abordado a seguir.

2.4.1 Método de amostragem

Primeiramente, é importante destacar que na escolha de uma metodologia a ser adotada para obtenção de amostras, deve-se ter em mente o claro objetivo das análises a serem desenvolvidas. Além disso, deve-se considerar a limitação imposta por tratar-se da retirada de materiais originais, cuja substituição nem sempre é simples. Desta forma deve-se procurar descaracterizar o quanto menos os locais a serem analisados.

Kanan (2008) descreve alguns procedimentos a serem adotados para o desenvolvimento das análises:

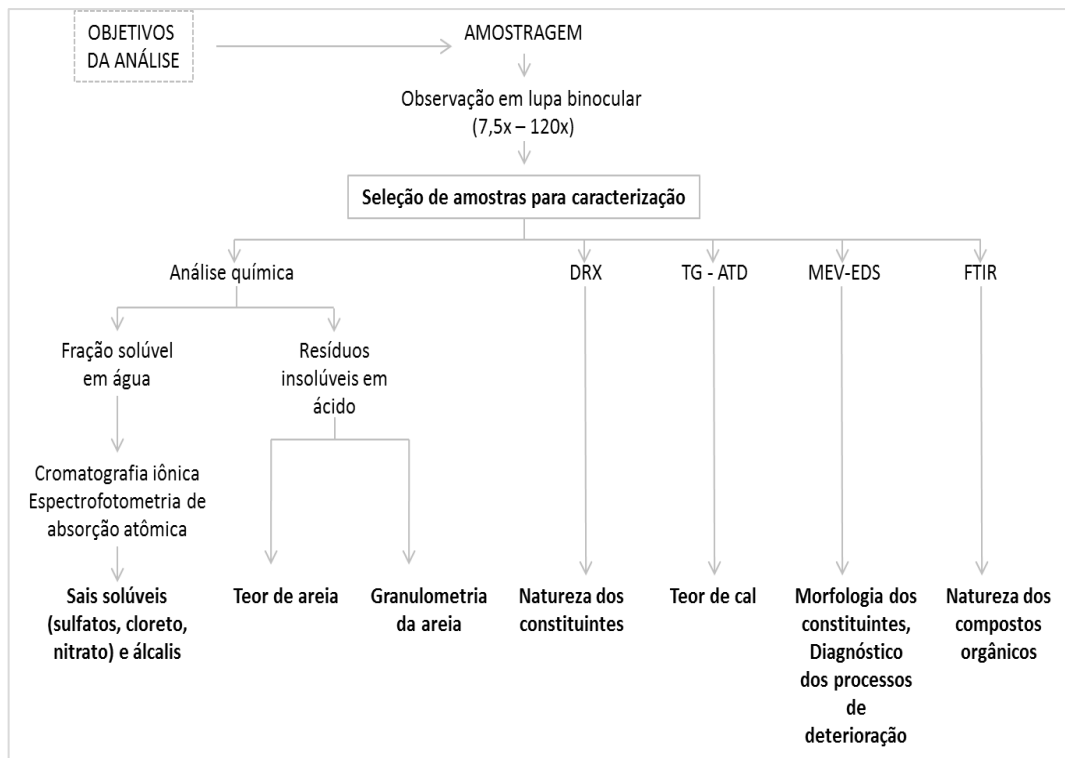
- a) Definição do objetivo: definir as análises a serem realizadas, limitando o número de amostras necessárias, bem como definindo a quantidade mínima indispensável, assegurando a representatividade das amostras.
- b) Completa documentação do edifício: informações sobre a localização, data da construção, reparos, intervenções anteriores, assim como condições físicas das áreas de análise, tais como pontos visíveis de deterioração, presença de manchas de umidade, indícios de eflorescência e biodeterioração, etc.
- c) Correta quantificação das amostras: devem variar entre 20 e 300 gramas. A autora destaca que com cerca de 150g já é possível realizar uma série de análises.
- d) Equipamentos adequados: as amostras podem ser retiradas com um pequeno cinzel (cortador, estilete, talhadeira) e um martelo, e guardadas em sacos plásticos selados ou recipientes com tampa hermética, limpos e secos. As embalagens contendo as amostras devem ser rotuladas indicando-se o número da amostra, identificação do edifício, local da retirada, data de coleta e nome do responsável. No registro das amostras, deve-se tomar nota também da hora da coleta e das condições climáticas.

A seguir são descritos os principais métodos de análise utilizados para a caracterização de argamassas, considerados de relevante avaliação para o desenvolvimento deste estudo.

2.4.2 Método de análise de argamassas históricas

Geralmente, o passo inicial de qualquer exame em uma argamassa antiga, seja em campo ou em laboratório, é a observação visual e a descrição das características do material (KANAN, 2008). A partir desta primeira observação e considerando-se os objetivos da análise a ser desenvolvida, podem ser determinados os principais ensaios, bem como o número e a massa das amostras. A Figura 4 mostra esquematicamente os principais ensaios de caracterização das argamassas antigas a partir de metodologia adotada pelo Laboratório Nacional de Engenharia Civil (LNEC), em Lisboa (Portugal), descrito em Veiga *et al.* (2004).

Figura 4 – Representação esquemática de metodologia para caracterização de argamassas antigas



Fonte: Método LNEC (VEIGA *et al.*, 2004)

A utilização de microscopia óptica pode ser considerada uma das mais importantes técnicas utilizadas para caracterização de argamassas antigas (VEIGA *et al.*, 2004). Logo que extraídas, as amostras podem ser observadas em lupa binocular, equipamento que permite a observação em baixas ampliações, geralmente menores que 100x. Esta análise inicial permite detectar aspectos particulares das amostras, dimensão geral de poros, heterogeneidade da constituição, diferenciação das

diferentes camadas de pintura de um revestimento, permite inclusive verificação da presença de alguns microrganismos.

A análise química envolve principalmente ensaios de caracterização do proporcionamento entre ligante e agregado, presença de sais solúveis e caracterização dos agregados. Este ensaio de proporcionamento permite uma relação aproximada entre o ligante e os agregados de natureza não calcária em uma amostra. Genericamente baseia-se em um ataque com ácido, normalmente o ácido clorídrico (HCl) ou ácido nítrico (HNO₃). O ligante, sendo basicamente composto de CaCO₃, é definido a partir do material solúvel no ácido, e os agregados a partir do material insolúvel. Há ainda um terceiro componente a ser considerado, correspondendo a uma fração de compostos solúveis, sem produção de dióxido de carbono, e que pode ser interpretado pela maior ou menor quantidade de compostos hidráulicos formados na argamassa. Uma limitação a esta técnica é a sua aplicação em argamassas históricas cuja composição dos agregados seja de natureza calcária, visto que estes materiais seriam conjuntamente atacados pelo ácido.

Com base nesta análise, para aplicação em argamassas históricas, são descritos os dois métodos frequentemente utilizados: o método desenvolvido pela Fundação de Ciência e Tecnologia (CIENTEC), Porto Alegre (RS) e o método desenvolvido por Teutonico (1988) no *International Centre for the study of the Preservations and Restoration of Cultural Property* (ICCROM), em Roma, adotado pelo Núcleo de Tecnologia da Preservação e da Restauração da Universidade Federal da Bahia (NTPR-UFBA).

O método desenvolvido pela CIENTEC é descrito em Fonseca (2011). A análise consiste na calcinação das amostras (em Forno Mufla à 700°C por 4 horas). Em seguida as amostras são pesadas e atacadas com solução de cloreto de amônia saturada. As amostras são deixadas em contato com esta solução por seis dias. Esta etapa tem por objetivo provocar uma reação de troca catiônica, visto que esta solução é capaz de transformar componentes de uma pasta cimentícia em produtos altamente solúveis. As amostras são, então, lavadas e depois atacadas com uma solução de ácido clorídrico (HCl) para dissolução do ligante. O material é lavado com uma peneira de malha quadrada com abertura 0,075mm, considerando que o material passante

nesta peneira tem propriedades ligantes. O material retido na peneira (agregado) e os finos passantes são secos em estufa a $100^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ até constância de massa. Por fim, é feita a pesagem final correlacionando a massa de finos e de agregados com a massa inicial da amostra, sendo a diferença, considerada a massa de ligante (consumida pelo ácido).

O método desenvolvido por Teutonico (1988), adotado pelo NTPR-UFBA permite determinar as proporções dos três principais componentes das argamassas históricas, o ligante (basicamente CaCO_3), parte solúvel em ácido, os finos (insolúveis) e a porção de agregados (insolúveis).

O método constitui-se da coleta de amostras (40-50g, aproximadamente), exame quanto à coloração, textura e características gerais. Em seguida a amostra é dividida em duas porções, em torno de 20-25g, sendo uma delas armazenada para outras análises. A amostra é pulverizada e seca em estufa à 75°C por 24h. Em seguida é pesada em uma balança de precisão (0,01g). A amostra é disposta em um Becker de 600mL e misturada com água deionizada. À amostra umedecida é disposta uma solução de ácido clorídrico para dissolução do ligante.

Logo após a dissolução em ácido é feita a separação e filtragem com auxílio de papel filtro disposto em um funil. Para certificar-se de que todo o ligante foi consumido, é preciso agitar a solução e adicionar pequenas quantidades da solução do ácido até que se verifique que não ocorre mais efervescência. Lentamente adiciona-se água no Béquero e inicia-se a filtragem cuidando para que os finos fiquem retidos no papel e os agregados no fundo do Béquero. Esta etapa é repetida até que a água contida no Béquero com os agregados apresente coloração clara. Os finos retidos no papel filtro são secos em estufa por 24h e em seguida pesados. Os grãos de agregado também são secos e em seguida pesados. Por fim, faz-se a ponderação da quantidade de areia com relação ao total da massa da amostra inicial, o mesmo é feito para os finos. A porcentagem de ligante é expressa subtraindo-se o percentual de finos e agregados do total de 100%.

Do agregado resultante desta análise, embora em muitos casos, em porções bastante reduzidas, pode-se realizar o ensaio de granulometria, identificando, de um modo geral, características quanto à distribuição dos grãos e módulo de finura. Além disto,

esta amostragem permite uma verificação mais precisa quanto ao formato dos grãos e coloração.

Além da análise química, as análises microestruturais são bastante importantes quanto à caracterização dos constituintes das argamassas históricas. Dentre as principais análises, destacam-se o uso da Difractometria de Raios X (DRX), a Termogravimetria (TG), a Fluorescência de Raios X (FRX), a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e a Porosimetria por intrusão de mercúrio. Estas análises serão descritas brevemente:

a) DRX: este método de análise é o mais indicado na determinação das fases cristalinas presentes em materiais. Esta análise permite, inclusive, a verificação da presença exclusiva de carbonatos ou se há presença de cimento na constituição da argamassa. Na maioria dos sólidos, os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distância da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda dos raios X. Desta forma, quando um feixe de raios X incide em um cristal, interage com os átomos presentes, resultando na difração dos raios. Aplicando-se a Lei de Bragg (Equação 1) é estabelecida uma relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram, sendo estes característicos para cada fase cristalina (Dal Molin, 2007).

$$N\lambda=2d \text{ sen}\Theta \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

- (IV) N: número inteiro;
- (V) λ : comprimento de onda dos raios X incidentes;
- (VI) d: distância interplanar;
- (VII) Θ : ângulo de difração

Desta forma, o padrão de DRX de uma substância cristalina pode ser associado à sua “impressão digital”, visto que cada material cristalino, dentro de certos limites, possui um único padrão de difração.

b) TG: a análise termogravimétrica é uma técnica na qual a massa de uma substância é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada da temperatura. Utiliza-se uma termobalança para medir a variação de massa de uma amostra em relação à temperatura. O registro é

uma curva TG ou termogravimétrica, que relaciona a massa com a temperatura ou o tempo. Dispõe, assim, de informação sobre a estabilidade térmica da amostra, velocidades de reação, bem como a sua composição. A partir da curva TG, é registrada a curva da termografia derivada (DTG), sendo possível obter um resultado mais detalhado do comportamento da amostra, indicando com precisão, por exemplo, a temperatura em que a velocidade de perda de massa é máxima (Dal Molin, 2007).

c) FRX: a espectrometria de fluorescência de raios X é uma técnica não destrutiva que permite identificar qualitativamente os elementos químicos presentes em uma amostra, bem como estabelecer a proporção (concentração) em que cada elemento se encontra presente na amostra. É feito o correto preparo de amostras sólidas ou líquidas, a seguir expostas a um feixe de radiação para excitação e detecção da radiação fluorescente resultante da interação da radiação com o material da amostra. Ocorre o deslocamento de um elétron da camada mais interna do átomo, sendo substituído por outro elétron mais externo. Este fenômeno provoca a liberação de energia em forma de raios-X fluorescentes, emitidos em comprimentos de onda específicos de cada elemento e de intensidade proporcional à concentração (SANTOS *et al.*, 2013).

d) MEV: a microscopia eletrônica de varredura permite a obtenção de informações estruturais e químicas de amostras diversas. O aumento máximo situa-se entre o do microscópio óptico (MO) e o microscópio eletrônico de transmissão (MET). Dependendo da amostra a ser analisada, o MEV permite aumentos de até 900.000 vezes, mas normalmente, para obtenção de boas imagens, o aumento máximo é da ordem de 10.000 vezes. Ao microscópio eletrônico de varredura pode ser acoplado o sistema de EDS (*Energy Dispersive Spectroscopy*). Esta análise permite a determinação da composição qualitativa e semiquantitativa das amostras, a partir da emissão de raios X característicos. É possível identificar a composição de regiões com até 1µm de diâmetro (Dal Molin, 2007).

Os métodos de análise descritos servirão de embasamento para o desenvolvimento da metodologia a ser adotada neste trabalho.

No subcapítulo a seguir será abordado o tema da biodeterioração, correlacionando aspectos deste fenômeno aos materiais históricos em estudo.

2.5 BIODETERIORAÇÃO

A biodeterioração pode ser definida como uma alteração indesejável nos materiais, ocasionada pela atividade vital de organismos (Hueck, 1965² *apud* Allsopp *et al.*, 2016). Quando esta alteração ocorre nos materiais históricos, as perdas são muito mais importantes, considerando outros valores, tais como, os estéticos, os históricos, os artísticos e os econômicos também, visto que qualquer intervenção em bens históricos envolve um complexo processo de projeto junto a um oneroso investimento.

Os materiais construtivos, incluindo os bens históricos patrimoniais, estão continuamente expostos aos efeitos de diferentes fatores, tais como os físicos, os químicos e os biológicos (ETTENAUER *et al.*, 2014). Ainda mais grave que o efeito destes fatores isolados, é a sua interação, quase sempre corrente.

O fenômeno da biodeterioração pode ocorrer em diversos tipos de materiais, de acordo com a interação de diferentes variáveis, tais como a natureza e a característica do substrato, os organismos envolvidos e, sobretudo, as condições ambientais. A interação dos microrganismos com minerais sólidos é considerada um fator chave na compreensão de alterações de características físico-químicas dos materiais (GADD, 2010; NG; KUMAR; CAO, 2016). Os fatores ambientais podem comportar-se como fatores limitantes, condicionando ou inibindo a presença de espécies biológicas. Em geral, qualquer parâmetro ambiental, tais como, água, temperatura, luz, pH e salinidade, pode se converter em um fator limitante se seus valores estiverem próximos aos limites de tolerância de uma espécie.

Além dos fatores ambientais, a disponibilidade nutricional, igualmente, pode comporta-se como um fator limitante aos processos de biodeterioração. Quando há disponibilidade abaixo do mínimo ou quando aparece em quantidades demasiado elevadas pode prejudicar o desenvolvimento biológico.

Caneva *et al.* (2000) destacam que de acordo com a composição química dos diferentes materiais, é possível que ocorram distintas formas de biodeterioração. Os organismos se subdividem em vários grupos de nutrição, por exemplo, se exigem ou

²HUECK, H.J. The biodeterioration of materials as part of hylobiology. **Mater. Org.**, v. 1(1), 5-34, 1965.

não a presença de substância orgânica, por consequência, a natureza do substrato favorece mais o desenvolvimento de alguns agentes de biodeterioração em detrimento a outros. Alguns processos metabólicos são característicos de todos os organismos, como a produção de CO₂ na respiração. No entanto, alguns organismos especializados apresentam exigências específicas para o seu metabolismo, o que condicionará a possibilidade, ou não, de utilizar determinado substrato como fonte de nutrientes.

Outras características dos materiais, como por exemplo, o pH, o conteúdo de água e a presença de impurezas, condicionam o desenvolvimento dos microrganismos. Um determinado pH pode favorecer o crescimento de uma microflora acidófila ou basófila. As características de um material relacionadas à higroscopicidade e, por consequência, seu teor de umidade, são fatores fortemente condicionantes. Destaca-se que os materiais orgânicos são, em geral, muito mais higroscópicos que os inorgânicos. Da mesma forma, impurezas de naturezas diversas podem se depositar no substrato e facilitar a ocorrência do processo de biodeterioração, por aumentar a disponibilidade de nutrientes.

Com base em classificação proposta por Allsopp *et al.* (2016), é possível diferenciar os processos de biodeterioração em diferentes formas de ação:

- a) **BIODETERIORAÇÃO FÍSICA OU MECÂNICA:** neste tipo de processo, os organismos causam a ruptura ou distorção do material pelo seu crescimento ou movimento, não utilizando o substrato diretamente como fonte de nutrientes; é o caso do crescimento de raízes de vegetais superiores, por exemplo, que interpenetram elementos das edificações, ou mesmo filamentos de microrganismos como os fungos;
- b) **SUJIDADE (BIODETERIORAÇÃO ESTÉTICA):** neste caso, a simples presença do organismo ou de restos de sua estrutura morta resulta em manchas na superfície. Pode também ser causada pela excreção de produtos metabólicos de organismos. Microrganismos, como fungos e algas podem ser encontrados crescendo em materiais ilesos, utilizando-se da sujeira e detritos presentes. Nesse caso, o desempenho dos materiais não é afetado, mas resulta em uma aparência geralmente desagradável;

c) **BIODETERIORAÇÃO ASSIMILATÓRIA:** corresponde ao processo em que o organismo utiliza o próprio material como fonte de energia ou alimento. Por exemplo, enzimas microbianas que quebram a celulose para obtenção de nutrientes, causando a destruição do material;

d) **BIODETERIORAÇÃO DESASSIMILATÓRIA:** neste tipo de degradação, o material sofre alterações de natureza química, mas não como resultado direto da ingestão de nutrientes pelo organismo. Muitos organismos excretam resíduos, como componentes pigmentados ou ácidos, que desfiguram ou danificam os materiais. Esse tipo de biodeterioração está, por vezes, associada à biodeterioração por assimilação química e o desenvolvimento de biofilmes, podendo tornar-se difícil sua diferenciação.

A biodeterioração de argamassas, foco desta pesquisa, está relacionada com a alteração física ou mecânica, estética (sujidade) e ação bioquímica (MIHAJLOVSKI *et al.*, 2014). Para Lech; Ziembinska-Buczynska; Krupa (2015), este processo pode ser entendido como a consequência da atividade de um grupo de organismos ou microrganismos presentes em um determinado substrato e não apenas como a atividade de uma espécie individualizada, geralmente compondo um biofilme.

A formação de biofilme nos substratos de edificações é um fenômeno bastante importante e recorrente, sendo abordado com maior profundidade em item específico neste trabalho.

Durante muito tempo, de certa forma, a extensão e intensidade de danos provocados pelo crescimento de microrganismos foi negligenciada. Os processos físicos e químicos resultantes do estabelecimento de comunidade microbianas em materiais construtivos são fatores dominantes na deterioração desses materiais. Desta forma, atualmente, acredita-se que, principalmente fungos e bactérias, não somente causem sérias alterações estéticas, mas que sejam capazes de penetrar em diferentes materiais, provocando perdas, resultantes da corrosão por ácidos, degradação enzimática e alterações mecânicas (STERFLINGER E PIÑAR, 2013).

Conforme Sterflinger e Piñar (2013), o fenômeno da biodeterioração observado nos materiais históricos são determinados principalmente pelos seguintes fatores:

-Composição química e natureza dos materiais;

-Condições climáticas a que estão expostos os materiais;

-O modo e frequência com que são limpas as superfícies dos materiais, considerando, ainda, aspectos como rugosidade superficial.

De outro modo, Warscheid e Braams (2000) complementam que a avaliação da contribuição biológica para a deterioração dos materiais inicia com a descrição do tipo de material, bem como das condições de exposição dos materiais com relação à presença de água (umidade ascensional, problemas quanto à drenagem das águas pluviais, umidade de condensação, umidade proveniente de rupturas acidentais em tubulações) e à disponibilidade nutricional (compostos naturais ou antropogênicos de natureza orgânica e inorgânica).

Os fatores ambientais, determinantes ao crescimento biológico, conforme Caneva *et al.* (2000), estão relacionados aos fatores edáficos (relacionados ao substrato), à água, aos fatores atmosféricos e aos contaminantes.

Para os organismos, os fatores edáficos são potenciais fontes nutritivas, substâncias que proporcionam energia (nutrientes e fontes de carbono) e elementos necessários para as reações biossintéticas ou catabólicas. Sendo assim, é importante a distinção entre os materiais de natureza orgânica (contém carbono em forma hidrogenada) e os materiais de natureza inorgânica (carbono em forma absoluta). Esta diferenciação está relacionada às exigências nutricionais dos organismos (CANEVA *et al.*, 2000).

A água, sob um ponto de vista fisiológico, é necessária ao metabolismo de todas as espécies vivas, constituindo cerca de 70 a 90% do seu peso total. Os organismos utilizam a água a partir do substrato ou presente no ar, sendo, portanto, características importantes dos materiais, a porosidade e a higroscopicidade. No entanto, mais importante do que o teor de umidade total em determinado substrato, em se tratando de crescimento biológico, o conceito de atividade de água (a_w) é o que está mais corretamente relacionado às propriedades microbianas, químicas e físicas nos materiais (CHIRIFE, J.; FONTANA JR., A. J., 2007). O conceito de atividade de água é derivado a partir da termodinâmica, definido como a razão, a uma determinada

temperatura, entre a fugacidade³ (f) da água na amostra e a fugacidade da água pura. A fugacidade equivale à pressão (p) de vapor (LEWIS e RANDALL, 1961). Pode ainda ser correlacionado à umidade relativa de equilíbrio (URE), onde $a_w = \text{URE}/100\%$.

Nos materiais de construção, o transporte de umidade é condicionado por mecanismos bastante complexos. O transporte em forma de vapor resulta da difusão e de movimentos convectivos, já a capilaridade, gravidade e o efeito do gradiente de pressão controlam a transferência de umidade em fase líquida. Tanto o transporte de umidade em forma de vapor como em forma líquida, dependem das condições de temperatura, umidade relativa, precipitação, radiação solar e pressão dos ventos. Desta forma, sob o ponto de vista físico, pode se considerar três mecanismos fundamentais de fixação de umidade: higroscopicidade, condensação e capilaridade. Estes três mecanismos podem explicar, de um modo geral, a variação de umidade no interior dos materiais de construção com estrutura porosa (FREITAS, V. P.; TORRES, M. I.; GUIMARÃES, 2008).

Quanto aos fatores atmosféricos, Caneva *et al.* (2000), descrevem a composição química do ar, o clima, a temperatura, a umidade e a luz como importantes fatores de influência no crescimento biológico. Para os autores, os contaminantes, presentes no ar, podem produzir efeitos diretos ou indiretos sobre o crescimento biológico, quando, por exemplo, há o desenvolvimento de espécies resistentes, em ausência de competição, formam populações específicas, ou quando ocorre o fenômeno da eutrofização, relacionada ao enriquecimento dos substratos com substâncias orgânicas, favorecendo o desenvolvimento de espécies heterótrofas, como fungos e algumas bactérias.

2.5.1 Agentes biológicos de deterioração – os microrganismos e a formação do biofilme

Segundo Gadd (2010), os microrganismos são importantes agentes geoativos da biosfera, particularmente no que diz respeito às biotransformações e aos ciclos biogeoquímicos, incluindo a transformação de metais e minerais, a decomposição da

³Fugacidade é a tendência de fuga de uma substância, podendo ser equiparado à pressão de vapor (p), desde que o vapor se comporte como um gás ideal (REID, D. S., 2007)

matéria e a formação do solo e sedimentos. Todos os tipos de microrganismos, incluindo os procariontes e eucariontes⁴ e suas associações simbióticas, tanto entre si quanto com organismos superiores, podem contribuir ativamente com estes processos.

Portanto, sob o aspecto positivo, os microrganismos são agentes essenciais nos processos naturais da biosfera, proporcionando consequências benéficas e vitais aos seres humanos.

Sob o ponto de vista dos fenômenos de deterioração, o crescimento e a proliferação de tais agentes pode provocar alteração, desgaste e destruição, tanto nos materiais naturais quanto nos sintéticos, tais como as rochas e materiais de construção em geral, proporcionando perdas quanto aos aspectos econômico, estético e social, este último relacionado à salubridade ambiental (GADD, 2010).

Conforme Caneva *et al.* (2000), os organismos vivos apresentam-se com uma infinidade de formas e funções, no entanto, quanto à sua estrutura celular, composição química e metabolismo básico, são, de um modo geral, parecidos. Os componentes essenciais aos organismos podem ser diferenciados em três classes:

- a) **ELEMENTOS PLÁSTICOS:** são responsáveis pela estrutura fundamental da biomassa. Entre estes estão o carbono (C), o oxigênio (O), o hidrogênio (H) e o nitrogênio (N) como os principais constituintes. Além destes, o fósforo (P), presente nos ácidos nucleicos e lipídios, e o enxofre (S), que faz parte na composição das proteínas;
- b) **ELEMENTOS MINERAIS:** óxidos e sais minerais, por exemplo, sódio (Na), potássio (K), magnésio (Mg), cálcio (Ca) e o cloro (Cl);
- c) **OLIGOELEMENTOS:** participam na catálise das reações químicas, sendo necessários em quantidades muito baixas. São eles: ferro (Fe), manganês (Mn),

⁴ Procariontes: Organismos onde sua estrutura celular é bastante simples, não dispendo de núcleo verdadeiro. Ex. de organismos: bactérias, incluindo cianobactérias e actinomicetos.

Eucariontes: Organismos constituídos de células com núcleo e citoplasma delimitados respectivamente por suas membranas, sendo a unidade básica de plantas, animais, fungos, protozoários e algas (CANEVA, G.; NUGARI; SALVADORI, 2000).

cobalto (Co), cobre (Cu), zinco (Zn), boro (B), alumínio (Al), vanádio (V), molibdênio (Mo), iodo (I) e silício (Si).

Estes elementos são nutrientes para os organismos, dividindo-se em macro e micronutrientes, de acordo com as quantidades necessárias para o metabolismo.

Com respeito à composição molecular, as substâncias fundamentais que constituem as células são:

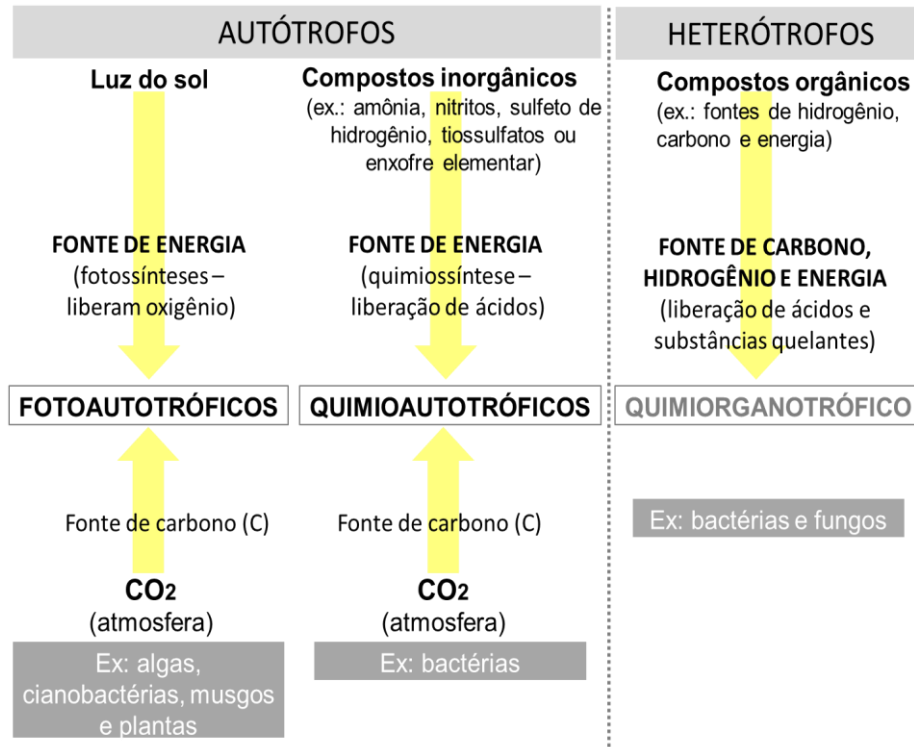
- a) **ÁGUA**: principal componente das formas vivas;
- b) **CARBOIDRATOS** (contendo C, H e O): também denominados açúcares, formando cadeias de polissacarídeos. Os principais são o amido e o glicogênio, como substâncias de reserva, e a celulose e a quitina, como componentes estruturais;
- c) **LIPÍDIOS** (compostos de C, H e O): incluem os óleos, as gorduras e as ceras. Insolúveis em água. Podem ser tanto componentes estruturais (por exemplo, fosfolípidios das membranas) como componentes de reserva;
- d) **PROTEÍNAS**: longas cadeias de distintos aminoácidos, os polipeptídeos. Podem funcionar como material estrutural (ex., proteínas fibrosas) ou como catalisadores específicos de reações bioquímicas (enzimas);
- e) **ÁCIDOS NUCLEÍCOS**: cadeias formadas por quatro nucleotídeos diferentes que se unem entre si em sequências variadas. Cada nucleotídeo é formado por um açúcar de cinco átomos de C (ribose no RNA e desoxirribose no DNA). A informação genética que permite a codificação das diferentes proteínas está contida no DNA, sendo transmitida e decodificada graças aos distintos tipos de RNA.

O metabolismo de um organismo corresponde a um conjunto de atividades bioquímicas, tendo por finalidade a liberação de energia. Todas as reações se produzem pela presença de enzimas específicas, sendo estas proteínas que funcionam como catalisadoras, ou seja, aceleram a velocidades das reações sem serem consumidas. Cada enzima possui um lugar específico de reconhecimento do substrato, denominado sítio ativo (CANEVA *et al.*, 2000).

Caneva *et al.* (2000) retomam, ainda, que os organismos podem então, em função da forma química como assimilam os compostos de carbono, serem classificados em autótrofos e heterótrofos. Os primeiros utilizam o anidrido carbônico, transformando-o em substâncias orgânicas, sendo, portanto, capazes de nutrir-se a si mesmos. Já os heterótrofos precisam assimilar as substâncias orgânicas do exterior. Estes últimos dividem-se em: saprófitas (utilizam substância orgânica da matéria morta ou decomposição), parasitas (vivem à custa de outros organismos vivos) e simbióticos (desenvolvem-se juntos a outros organismos, como por exemplo, associação de algas e fungos, compondo os líquens).

Warscheid e Braams (2000) classificam os microrganismos considerando estes aspectos quanto à obtenção de energia para o seu metabolismo, bem como as fontes de carbono essenciais para seu desenvolvimento. O fluxograma da Figura 5 mostra esquematicamente a classificação dos microrganismos a partir da forma de obtenção de energia e nutrientes.

Figura 5 – Fluxograma de classificação dos organismos quanto as fontes de obtenção de energia e nutrientes



Fonte: desenvolvido a partir de Warscheid e Braams (2000)

Com base na Figura 5, verifica-se, portanto, um grupo de organismos que é dependente da luz solar, tais organismos realizam fotossíntese, liberando oxigênio ao ambiente e obtendo sua fonte de carbono a partir do CO₂ presente no ar, por exemplo, as algas, as cianobactérias, os musgos e as plantas (fotoautotróficos). Um segundo grupo, composto principalmente por bactérias, usam compostos inorgânicos para obtenção de energia através de sua oxidação e fixação do CO₂ da atmosfera. Para isto, algumas espécies liberam ácido nitroso (ex.: *Nitrossomonas*), outras, ácido nítrico (*Nitrobacter*) ou ainda ácido sulfúrico (*Thiobacillus*). Estes organismos são identificados como quimioautotróficos. Por fim, o grupo dos organismos quimiorganotróficos, que precisam, necessariamente, de uma fonte de matéria orgânica para obtenção de energia e nutrientes essenciais ao seu metabolismo. Neste grupo estão presentes algumas bactérias heterótrofas e os fungos filamentosos, em análise neste estudo.

Para que ocorra a colonização e o estabelecimento de comunidades biológicas nos materiais, sendo estes de natureza orgânica ou inorgânica, é preciso que as condições relacionadas à composição dos materiais, seu estado de conservação, condições ambientais, bem como fatores climáticos (temperatura, umidade, chuva e outras precipitações, exposição à radiação solar, poluentes orgânicos e inorgânicos) sejam atendidos em condições adequadas (URZÌ; LEO, 2001).

Dentre os diferentes microrganismos capazes de provocar alterações e danos aos materiais, os fungos podem ser identificados como os microrganismos mais ativos neste processo. Quando colonizam um suporte orgânico, utilizam o próprio material como fonte nutricional, quando em suportes inorgânicos são capazes de intensas alterações ocasionadas por seus diversos metabólitos que, ao serem excretados, podem reagir com o suporte de diferentes maneiras (ARROYO, 2009).

Sendo assim, embora de acordo com sua exigência nutricional, os substratos inorgânicos não bastem em si para suportar o crescimento de fungos, a associação com os demais fatores normalmente disponibilizados nos ambientes, principalmente relacionados à higroscopicidade dos materiais, depósitos superficiais (fontes nutricionais), microclima favorável, possível presença de bactérias quimioautotróficas, entre outros, são atendidas as condições adequadas ao início do desenvolvimento de

fungos, cuja fenomenologia de alteração é bastante intensa e visivelmente deteriorante.

Com relação às bactérias quimioautotróficas, possíveis precursoras ao crescimento de fungos em materiais de natureza inorgânica, quando é restrita ou mesmo ausente a disponibilidade de matéria orgânica, segundo (SOUSA; PEREIRA; BRITO, 2005), estas, são estruturas orgânicas mais simples, encontradas na maioria dos ambientes naturais. São células esféricas ou em forma de bastonetes curtos com tamanhos variados. Os revestimentos de argamassa também constituem um meio propício para o seu desenvolvimento, principalmente após ocorrer a carbonatação da cal, acompanhada da redução do pH (no início da carbonatação o pH é tão elevado que desfavorece o desenvolvimento de seres vivos, apresentando uma certa propriedade biocida inicial).

Conforme Sousa, Pereira e Brito (2005), os microrganismos fotoautotróficos, quimioautotróficos e os líquens (associação de algas e fungos) constituem as comunidades pioneiras em superfícies de composição estritamente mineral, sem a presença de qualquer matéria orgânica. O desenvolvimento e a morte de sucessivas gerações de microrganismos, associados à deposição de compostos de amônia e fósforo transportado pelo vento, ou mesmo pela acumulação de fezes de animais, em se tratando principalmente de ambientes exteriores, fornecem a matéria orgânica necessária que, em condições microclimáticas ideais, vai permitir o desenvolvimento dos demais organismos, tais como as bactérias heterótrofas, actinomicetos (bactérias de organização filamentosa) e também os fungos.

Nos ambientes interiores, a diversidade microbiana fica limitada às condições que favorecem o desenvolvimento de organismos adaptáveis a condições mais restritas, tais como, menor disponibilidade de água (quando a UR do ar for a única fonte de umidade), pouca ou nenhuma incidência solar, depósitos nutricionais provavelmente mais escassos, etc. Estas condições, embora, muitas vezes limitantes, é suficiente para o desenvolvimento de várias espécies de fungos.

A porosidade do substrato está relacionada com a penetração e retenção de água, afetando diretamente o crescimento biológico. As algas, por exemplo, são mais frequentes quando há maior retenção de umidade, preferindo, portanto, substratos de

base cimentícia, em ambientes exteriores, onde ocorre maior retenção, o que se deve também ao diâmetro dos poros, em geral menores e em maior quantidade (CRISPIM; GAYLARDE; GAYLARDE, 2003).

É bastante comum, tanto no ambiente natural, quanto em substratos materiais do ambiente construído, a coexistência de diferentes microrganismos. As interações destes agentes biológicos com os sólidos minerais destes substratos têm-se revelado como o fator-chave na alteração das características físico-químicas dos materiais, sendo considerado o maior contribuinte quanto à deterioração de bens culturais, como as edificações históricas (NG; KUMAR; CAO, 2016). A produção de substâncias poliméricas extracelulares (*Extracellular Polymeric Substances* – EPS) em conjunção com a diversidade microbiana que se estabelece, compõe o denominado biofilme. A partir da consolidação de um biofilme em determinado substrato, correlacionado a condições ambientais favoráveis, é possível a extração de nutrientes inorgânicos diretamente de materiais de composição mineral (COSTERTON *et al.*, 1995).

Os biofilmes podem ser definidos como comunidades complexas de microrganismos associados a variadas superfícies ou interfaces (CRISPIM, 2003). Como qualquer superfície, os materiais construtivos são substratos potenciais para sua formação logo que iniciado o crescimento de microrganismos (KSONTINI *et al.*, 2013).

Nos biofilmes de superfícies exteriores de edificações históricas, verifica-se a prevalência de algas, cianobactérias, bactérias e fungos, e sua colonização é influenciada tanto pelas características do substrato, quanto pelo clima local (CRISPIM *et al.*, 2003).

Donlan e Costerton (2002) e Harding *et al.* (2009) definem, assim, biofilme, como uma comunidade microbiana caracterizada por células que são irreversivelmente aderidas a um substrato ou interface, ou ainda aderidas entre si, estando incorporadas à uma matriz polimérica de substâncias extracelulares, produzidas por estes microrganismos, exibindo um fenótipo alterado com relação à taxa de crescimento e transcrição genética.

Harding *et al.* (2009) destacam que dentre os diferentes microrganismos, os fungos são especialmente adaptados para o crescimento sobre diferentes superfícies,

principalmente por sua forma de obtenção de nutrientes, através da absorção; sua capacidade de secreção de enzimas extracelulares capazes de digerir moléculas complexas e por fim, seu crescimento apical, através de filamentos (hifas). Desta forma, os fungos são excelentes candidatos para a formação de biofilmes, considerando, no entanto, que este aspecto é, ainda, pouco explorado.

Jones (1994), descreve cinco fases de desenvolvimento para formação do biofilme bacteriano, considerando este um tipo de biofilme largamente estudado na bibliografia: (1) adsorção, ou associação inicial de fixação de unidades celulares na superfície (interação físico-química de microrganismos com o substrato); (2) adesão (agrupamentos de célula com excreção de polissacarídeos); (3) formação de microcolônias (multiplicação celular, agregação entre células, aumento da produção de polissacarídeos, formação de multicamadas sobrepostas e agregadas); (4) maturação (espessura máxima das colônias e cobertura da superfície, presença de canais de comunicação para entrada de água); (5) dispersão de novas células para início de novo crescimento, completando o ciclo do biofilme.

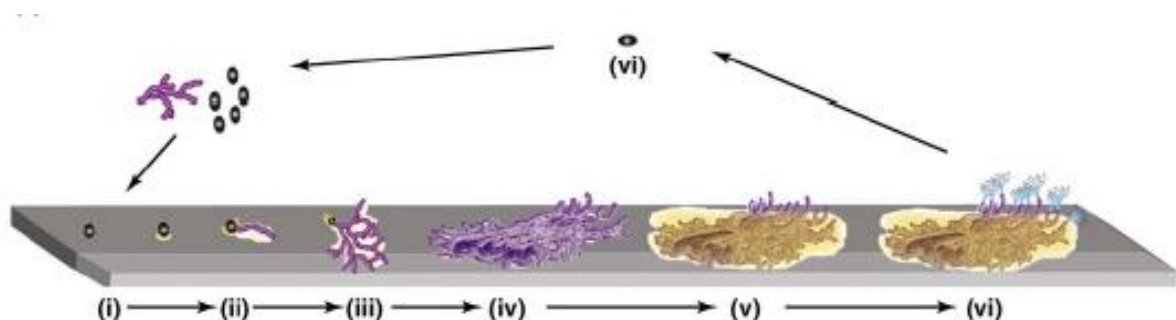
Similar ao modelo bacteriano de formação de biofilme, Harding *et al.* (2009) descreveram um modelo de formação de biofilme por leveduras (fungos unicelulares). De acordo com os autores, existem poucos trabalhos publicados quanto à formação de biofilmes formados por fungos filamentosos, provavelmente por existir algumas restrições que impossibilitam sua descrição com base nos biofilmes compostos por bactérias, estes sim, amplamente estudados, ou mesmo com base no ciclo de leveduras. Desta forma, adotando como referência a formação de biofilme por leveduras, a formação de biofilme bacteriano descrita por Gareth Jones, E.B. (1994), além de outros autores, como Dogget, M.S. (2000); Burford, E.R. *et al.* (2003) e Gorbushina *et al.* (2004), Harding *et al.* (2009) propuseram um modelo de formação de biofilme por fungos filamentosos, descrito nas etapas a seguir:

- 1) ADSORÇÃO DE CÉLULAS: deposição de esporos ou fragmentos de hifas através do contato físico das estruturas com a superfície;
- 2) FIXAÇÃO NA SUPERFÍCIE: secreção de substâncias adesivas para a germinação dos esporos;

- 3) **FORMAÇÃO DE MICROCOLÔNIAS I:** envolve o alongamento apical das hifas e sua ramificação, explorando o substrato. Sua ramificação nesta fase ainda é como uma monocamada já com a produção de uma matriz polimérica que permite o crescimento da colônia fortemente aderida ao substrato.
- 4) **FORMAÇÃO DE MICROCOLÔNIAS II, OU MATURAÇÃO INICIAL:** envolve a formação de redes de hifas compactadas ou micélios. Inicia-se a formação de camadas ou feixes de hifas aderidas entre si por substâncias poliméricas secretadas. Além disso, inicia-se a formação de canais para penetração de água, sendo estes formados a partir da repulsão hidrofóbica entre as próprias hifas dos fungos.
- 5) **MATURAÇÃO OU DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO:** formação dos corpos de frutificação ou conidióforos e outras estruturas de reprodução. Inicia-se o crescimento aéreo das estruturas reprodutivas com a dispersão de novos esporos.
- 6) **FASE DE DISPERSÃO:** dispersão de esporos ou fragmentos do biofilme. As células que se desprendem podem fixar-se em novo ponto do substrato ou em outras superfícies, reiniciando o ciclo.

A Figura 6 mostra esquematicamente a formação do biofilme, destacando as etapas descritas anteriormente.

Figura 6 – Formação de biofilme por fungos filamentosos



Fonte: Harding *et al.* (2009)

De acordo com Burford *et al.* (2003), os fungos compõem a maior biota presente em solos e substratos minerais sob determinadas condições ambientais, como por exemplo, baixos valores de pH. Apresentam-se como um grupo dominante quando

comparado a outros microrganismos como as bactérias. Substratos inorgânicos não são necessariamente favoráveis ao crescimento de fungos, no entanto na presença de resíduos orgânicos e inorgânicos nas superfícies minerais ou, considerando fissuras no interior do material podem encorajar seu desenvolvimento e de outros microrganismos.

2.5.2 Fungos filamentosos

De acordo com Tortora *et al.* (2012), em 1978 foi desenvolvido por Carl Woese um sistema de classificação dos seres vivos, com base na organização celular dos organismos. Sendo assim, os seres vivos foram agrupados em três domínios: *Bacteria*, *Archae* e *Eukaria*.

Os fungos são microrganismos que possuem um reino a parte (Reino Fungi), dentro do domínio *Eukaria*⁵, o que demonstra a dimensão de sua diversidade. Seu ambiente natural são as plantas mortas presentes no solo, porém seus esporos (células reprodutivas) podem ser detectados em todos os lugares, em qualquer estação do ano (SEDLBAUER, 2001).

Emprega-se de modo comum, os termos genéricos “mofo” ou “bolor” para descrever-se colonizações de populações de fungos filamentosos, considerando diferentes substratos, incluindo desde alimentos até os mais diversos materiais, como as argamassas de natureza inorgânica (SHIRAKAWA *et al.*, 1995).

São microrganismos eucariontes, ou seja possuem um núcleo celular definido, onde está contido o material genético (DNA), envolto por um envelope especial, a membrana nuclear. Podem ser unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (fungos filamentosos). Os fungos têm parede celular composta principalmente por uma substância chamada quitina. Os fungos mais típicos são os bolores ou fungos filamentosos. Os bolores formam massas visíveis, o micélio, sendo este composto de longos filamentos (hifas). Estas hifas possuem, muitas vezes, divisões formando unidades celulares, de paredes transversais, denominadas septos. Estes septos possuem poros que permitem o movimento do citoplasma e até mesmo de organelas

⁵ Domínio em que os organismos possuem o núcleo celular delimitado por membrana.

entre as células. Os fungos são organismos que obtêm energia por meio da absorção de soluções de matéria orgânica presentes no ambiente (TORTORA *et al.*, 2012; SAMARANAYAKE, 2012). Possuem tamanhos e estruturas de natureza variável, de acordo com os diferentes gêneros. Sendo os fungos microrganismos heterotróficos, a disponibilidade de luz não é essencial ao seu crescimento, sendo encontrados crescendo intensamente em locais com total ausência de luz (SAMARANAYAKE, 2012).

Conforme Sedlbauer (2001), em contraste com microrganismos como algas e líquens, os fungos são capazes de se desenvolver em condições ambientais pouco favoráveis, inclusive com pouca disponibilidade nutricional e baixa umidade disponível.

Para Garg *et al.* (1995), UR, temperatura e disponibilidade nutricional são considerados os três fatores mais importantes na determinação do crescimento biológico. Exposições prolongadas a valores de UR a partir de 65% são considerados suficientes para suportar o crescimento de fungos. Os autores afirmam ainda, que UR entre 75% e 95% conduzem à germinação dos esporos de fungos compondo o micélio. Se a UR for mantida inalterada, as hifas de fungos são capazes de produzir novos esporos em um período ente 48-72 horas.

O processo de crescimento invasivo das hifas, resultante de pressões hidrostáticas (elasticidade no corpo das hifas) condiciona que adquiram os nutrientes que necessitam a partir de diversos materiais sólidos. Em substratos pétreos, inicialmente, as hifas aderem diretamente à superfície a partir de estruturas denominadas apressórios, então, hifas de penetração fina se estendem para o interior do material, através de discontinuidades entre os cristais (zonas mais fracas). A penetração continua percorrendo fissuras e cavidades internas, onde novas colônias se desenvolvem. Progressivamente ocorre perda de material devido à penetração mais profunda (STERFLINGER, 2000; BURFORD *et al.*, 2003). Fungos que se desenvolvem em substratos pétreos podem, com frequência, ser melanizados (possuem melanina como pigmento) e potencialmente patogênicos aos seres humanos (ex.: *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus sp.*, *Exophiala sp.*, *Phialophora sp.*, *Cladosporium cladosporioides*) (HORRE, R.; HOOG, G.S., 1999).

Conforme mencionado por Caneva *et al.* (2000), as hifas dos fungos possuem diâmetros entre $1,5-2\mu$ e $10-12\mu$. A Figura 7 mostra um exemplo de fungo com hifas septadas.

Figura 7 – Hifas e esporos de fungo do gênero *Cladosporium*



Fonte: GUERRA (2012)

Caneva *et al.* (2000) e Shirakawa *et al.* (1995) destacam, ainda, que os fungos podem ser claramente diferenciados dos organismos vegetais por serem metabolicamente definidos como heterótrofos, ou seja, são incapazes de realizar fotossíntese. Sendo assim, só podem obter energia para o seu metabolismo através da disponibilidade de fontes nutricionais, seja por meio da decomposição de nutrientes (comportando-se como saprófitas), parasitando outros organismos vivos, ou correlacionando-se com outras formas vivas para garantir sua manutenção (simbiose).

Sua reprodução ocorre mediante a produção de esporos por via sexuada ou assexuada. Na reprodução assexuada, em alguns fungos inferiores, todas as hifas podem se transformar em órgãos reprodutores, denominando-se talo holocárpico. Deste órgão reprodutor, denominado conidióforo, são liberados os esporos ou conídios (esporulação). Estas células são dispersas no ar e quando encontram um substrato favorável podem germinar com o conseguinte desenvolvimento radial de micélio. Se as condições ambientais forem adequadas, sua reprodução pode ser imediata. Caso contrário, podem ser retardadas até que sejam atingidas as condições mínimas (SHIRAKAWA *et al.*, 1995; SAMARANAYAKE, 2012).

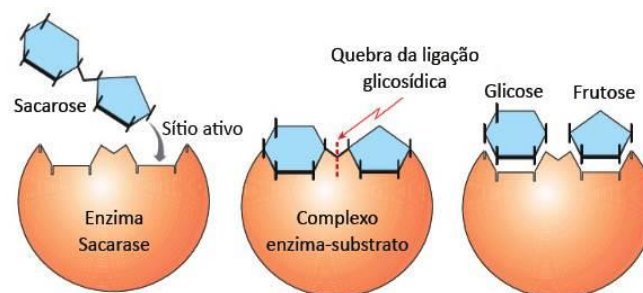
Arroyo (2009) menciona que além da disponibilidade nutricional, os fungos necessitam para o seu desenvolvimento do atendimento de parâmetros relativos às condições

ambientais, tais como umidade e temperatura. Contudo, se estas condições são adversas para a necessidade dos fungos, eles podem adequar seu desenvolvimento a condições limite, permanecendo em estado latente até que estas condições se tornem favoráveis e seja possível a retomada de seu crescimento.

Para Sterflinger (2010), nos ambientes externos os fungos e os líquens são os mais importantes agentes de deterioração em monumentos históricos e esculturas feitas em pedra, argamassa ou gesso. Os fungos são capazes de produzir uma grande diversidade de exoenzimas, tais como, celulases, glucanases, lacases, fenolases, queratinases, mono-oxigenases, entre outras.

As enzimas são altamente específicas tanto na reação catalisada como na escolha do substrato. Cada enzima contém um sítio ativo, parte da molécula na qual ocorre a combinação com o substrato. A atividade enzimática ocorre em duas etapas, onde, na primeira, o sítio ativo da enzima combina com o substrato para formar um complexo enzima-substrato, que em seguida rompe-se para formar os produtos e uma enzima livre, a qual reage novamente. De acordo com essa teoria, o substrato deve ajustar-se ao sítio ativo da enzima, por isso a especificidade desta (SACKHEIM e LEHMAN, 2001). A Figura 8 mostra esquematicamente a ação da enzima sacarase quebrando uma molécula de sacarose.

Figura 8 – Representação esquemática da ação de enzima/substrato



Fonte: <<http://dicionariosaude.com/sacarase/>>

Os fungos são considerados importantes agentes de deterioração em minerais carbonáticos (BURFORD *et al.* 2003). Considerando as argamassas históricas (até o início do século XX), que possuem como ligantes principais carbonatos de cálcio e magnésio, este tipo de substrato pode estar suscetível a ação bioquímica de fungos.

Em materiais pétreos das edificações, principalmente quando expostos ao meio ambiente, os fungos podem ser os mais importantes organismos biodeteriorativos devido a sua capacidade de erosão. Dependendo das propriedades físicas dos materiais, os fungos podem penetrar no interior de materiais pétreos, como os revestimentos em argamassa (SHEERER *et al.*, 2009).

Experimentos desenvolvidos por Gómez-Alarcón e de La Torre (1994)⁶, mencionados por Garg *et al.* (1995) constataram a formação de sais, tais como oxalatos de cálcio, ferro, magnésio, etc., utilizando ácidos produzidos por fungos em conjunção com arenitos, pedras calcárias e granitos.

O dióxido de carbono (CO₂), produzido durante a respiração de todos organismos aeróbios, incluindo os fungos, como resultado da respiração, na presença de água, ou mesmo, elevada umidade ambiental, pode converter-se em ácido carbônico. Esse ácido carbônico é capaz de dissolver o cálcio e o magnésio dos carbonatos (matriz compositiva das argamassas históricas), intensificando a deterioração dos revestimentos em argamassa (GARG *et al.*, 1995).

Em seu ambiente natural, os fungos utilizam partículas trazidas pelo vento, chuva ou do próprio substrato como fontes de cálcio para precipitação de oxalatos (ORTEGA-MORALES *et al.*, 2013). O metabolismo destes organismos secreta ácido oxálico (H₂C₂O₄). Este ácido pode reagir com a calcita (CaCO₃), principal constituinte em argamassas históricas, resultando na produção de oxalatos de cálcio (CaC₂O₄), em diferentes estados de hidratação, tais como a *whewellite* (CaC₂O₂.H₂O) e a *weddellite* (CaC₂O₄.2H₂O), muito insolúveis, mas que conduzem à formação de eflorescência e consequente deterioração das superfícies. A formação de oxalatos pode estar relacionada a um mecanismo de defesa dos fungos, em situações onde há excesso de cálcio presente, prevenindo, assim, contra a toxicidade capaz de afetar suas células (PINNA, 1993; ROSADO *et al.*, 2013). A excreção de ácido oxálico para formação de oxalato de cálcio, resulta na dissolução das paredes dos poros internos da matriz calcária, resultando na produção de soluções enriquecidas em carbonatos livres (BURFORD *et al.*, 2003).

⁶ Gómez-Alarcón, G. and De la Torre, M.A. The effect of filamentous fungi on stone monuments – the Spanish experience. In: J. Singh (Ed.), *Building Mycology*, E & FN Spon, London, p. 295-309, 1994.

De acordo com Pinna (1993), filmes extensos, uniformes e de coloração amarela e marrom, observadas em muitos revestimentos, possuem como composição, predominantemente o oxalato de cálcio.

O oxalato pode ser considerado o metabólito chave de significativa importância nas transformações de metais e minerais a partir do desenvolvimento de fungos. O ácido oxálico é produzido por uma vasta variedade de fungos, incluindo os saprófitas, os simbióticos e as espécies patogênicas. Este ácido, ou mais comumente os sais de oxalato, podem ser encontrados nas plantas, animais e microrganismos, assim como nos solos e rochas, bem como nos artefatos culturais constituídos de minerais e nos materiais de construção (GADD *et al.*, 2014).

Conforme Gadd *et al.* (2014), a produção de oxalatos está envolvida na biodeterioração de rochas e substratos minerais, materiais constituídos de lignina e celulose, como as madeiras, bem como na alteração e deterioração de materiais históricos.

A biossíntese do ácido oxálico e a formação de oxalatos, especialmente o de cálcio, é uma propriedade de várias formas de fungos. O oxalato de cálcio pode estar associado com as estruturas fúngicas, tais como as hifas, com seus corpos de frutificação, talos de líquens, sistemas micorrízicos⁷ no solo, decomposição de biomassa vegetal e de rochas, bem como, no ambiente construído, principalmente em edificações históricas, quando compostas de rochas minerais naturais ou artificiais (ARNOTT, 1982; WHITNEY e ARNOTT, 1987; BIRKBY e PREECE, 1988; LAPEYRIE, 1988; ASCASO *et al.*, 1990; JONES *et al.*, 1992; YANG *et al.*, 1993; HORNER *et al.*, 1995; OYARBIDE *et al.*, 2001; BJELLAND, 2002; SCHILLING e JELLISON, 2007; PINZARI *et al.*, 2013). A Figura 9 e Figura 10 mostram exemplos de cristais de oxalatos produzidos por fungos.

⁷ Micorriza é uma associação mutualista não patogênica entre certos fungos do solo e as raízes da planta. A planta, através da fotossíntese, fornece energia e carbono para a sobrevivência e multiplicação dos fungos, enquanto estes absorvem nutrientes minerais e água do solo, transferindo-os para as raízes da planta, estabelecendo uma simbiose (ANTONIOLLI e KAMINSKI 1991).

Figura 9 – Oxalatos secundários produzidos por diferentes fungos após transformações minerais de silicato de zinco e sulfeto de zinco presentes em amostras: a) Oxalato de cálcio produzido por fungo *Beauveria caledonica* (50 μm); b) Oxalato de zinco produzido por *Aspergillus niger* (50 μm); c) Oxalato de zinco produzido por *Serpula Himantioides* (20 μm)

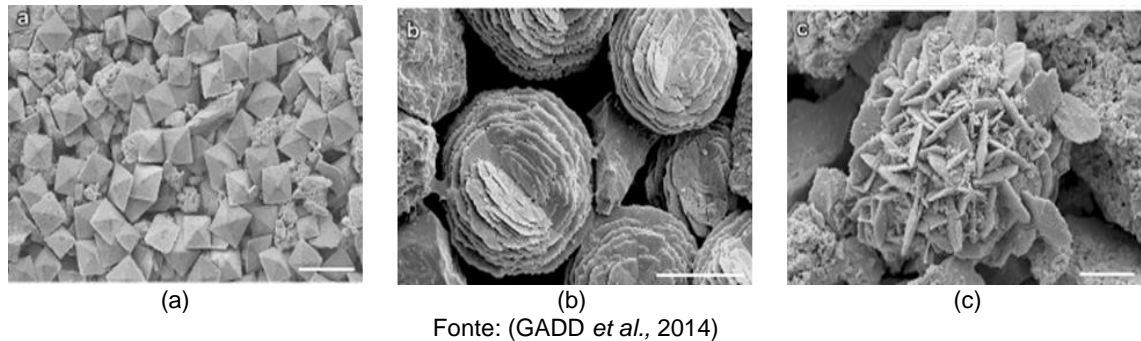
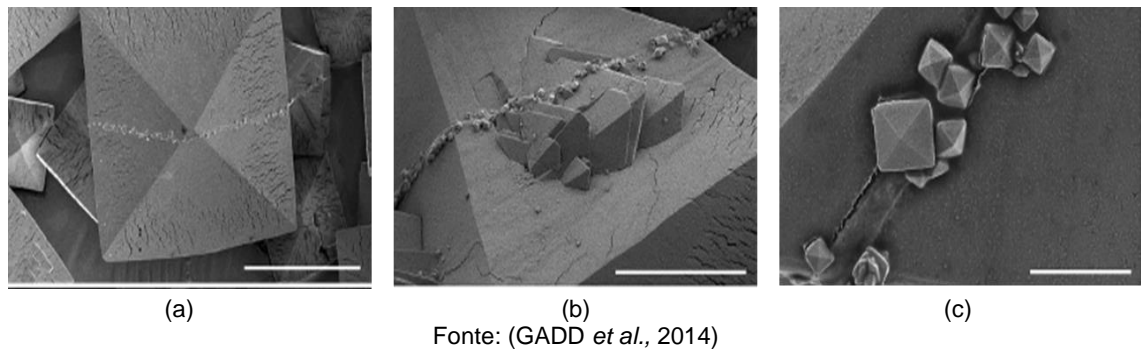


Figura 10 – Cristais de oxalato de cálcio produzido pelo crescimento de fungos: a) 100 μm ; b) 50 μm ; c) 10 μm



A Figura 11 mostra imagens, em microscopia óptica de luz polarizada, da presença de micélio associado a cristais de oxalato de cálcio em amostras de madeira do tipo acácia.

Figura 11 – Micélio de fungos associado a cristais de oxalato de cálcio: a) Micélio hialino de fungo associado a cristais de oxalato de cálcio (microscópio óptico – 75x); b, c) cristais bipiramidais entrelaçados (microscopia eletrônica - 10 μm)



Na Figura 11(a) é possível visualizar os cristais associados a um micélio hialino. Na Figura 11(b), alguns cristais individualizados, depositados sobre as estruturas

filamentosas do fungo (hifas) e na Figura 11(c), rosetas, formadas pela intersecção dos cristais de oxalatos. Estas análises foram desenvolvidas por Oyarbide *et al.*, (2001).

Sedlbauer (2001) realizou um extenso trabalho para investigar as espécies de fungos recorrentes em materiais construtivos na Alemanha. Em seu trabalho, dispõe de uma relação, onde foram prospectadas e identificadas cerca de 200 espécies. Nesta relação foram considerados fungos identificados por diferentes autores, bem como apontado, dentro de uma classificação, o nível de risco com relação à saúde de pessoas expostas a estes microrganismos.

No Brasil, vários fungos já foram identificados em trabalhos desenvolvidos em diferentes regiões do país, em diferentes materiais construtivos, tanto em ambientes exteriores quanto interiores. No entanto, a grande maioria dos trabalhos utilizou o método de coleta superficial com isolamento em microcultivo. Este método permite identificar fungos presentes nas superfícies ou ambientes analisados e possibilita o acompanhamento do crescimento das diferentes espécies, mas não necessariamente permite correlacionar as alterações presentes no material com os microrganismos identificados na mencionada metodologia.

Dos fungos identificados nos trabalhos nacionais, sob um ponto de vista qualitativo, sem considerar o local de incidência (interior e exterior) ou características climáticas, percebe-se a ocorrência frequente dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Estes também são fungos frequentemente mencionados na literatura (GAYLARDE e GAYLARDE, 2005; STERFLINGER, 2010; JOHANSSON *et al.*, 2012; MICHAELSEN *et al.*, 2013), entre outros.

A norma internacional ASTM D3273 indica, para a avaliação da resistência de materiais construtivos ao crescimento de fungos, a utilização dos fungos *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium*. No entanto, é preciso considerar que as variações microclimáticas e ambientais são fortes condicionantes à diversidade fúngica. Sendo assim, é sempre importante realizar a caracterização e identificação da microbiota local. Desta forma, embora, exista a indicação por norma da utilização destes três fungos, é necessário considerar os microrganismos característicos de cada localidade.

A Tabela 1 apresenta uma relação dos principais gêneros de fungos identificados na pesquisa nacional.

Tabela 1 – Fungos verificados em alguns trabalhos desenvolvidos no Brasil

GÊNEROS DE FUNGOS	REFERÊNCIA							
	SILVA (2009) Santa Maria - RS	PEREIRA (2012) Santa Maria - RS	SOBRINHO (2008) Pitangueiras - SP	SANTOS (2011) Salvador - BA	SHIRAKAWA <i>et al.</i> (1997) São Paulo - SP	SHIRAKAWA <i>et al.</i> (1999) São Bernardo do campo - SP	SHIRAKAWA <i>et al.</i> (2002) São Paulo - SP	GUERRA (2012) Pelotas - RS
<i>Acremonium</i>								
<i>Alternaria</i>								
<i>Arthrinium</i>								
<i>Aspergillus</i>								
<i>Candida</i>								
<i>Cladosporium</i>								
<i>Curvularia</i>								
<i>Fusarium</i>								
<i>Geotrichum</i>								
<i>Helminthosporium</i>								
<i>Monascus</i>								
<i>Penicillium</i>								
<i>Paecilomyces</i>								
<i>Papularia</i>								
<i>Peyronellaea</i>								
<i>Pithomyces</i>								
<i>Phialophora</i>								
<i>Phoma sp</i>								
<i>Tripospermum</i>								
<i>Trichoderma</i>								
<i>Epicoccum</i>								
<i>Aureobasidium</i>								
<i>Ulocladium</i>								
<i>Nigrospora</i>								
<i>Rhizopus</i>								
<i>Syncephalastrum</i>								

2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS AGENTES BIOLÓGICOS

A identificação dos microrganismos envolvidos na biodeterioração dos materiais é o primeiro passo para o entendimento dos efeitos resultantes deste processo. Em um segundo momento, faz-se necessário verificar a quantidade e extensão do

crescimento, bem como a atividade vital dos organismos envolvidos. O terceiro momento envolve utilizar estas informações de modo a formular estratégias para a conservação e proteção dos materiais (ETTENAUER *et al.*, 2014; MIHAJLOVSKI *et al.*, 2014).

A caracterização dos agentes biológicos, portanto, envolve não apenas a identificação dos microrganismos, mas a análise do fenômeno com um todo, correlacionando seu crescimento, os produtos de seu metabolismo em interação com o substrato e os fatores exteriores envolvidos, resultando na biodeterioração.

Existe uma variedade de técnicas que podem ser utilizadas para quantificar e identificar as comunidades microbianas que colonizam materiais pétreos (sendo estes naturais, ou fabricados pelo homem, tais como argamassas e concretos).

Primeiramente deve ser definido o método de coleta das amostras, considerando o tipo de análise a ser realizada. Alguns métodos não destrutivos correspondem à raspagem ou a coleta superficial, com auxílio de *swab*⁸ ou fita adesiva, do crescimento no material contaminado para posterior cultivo, isolamento e identificação. Os métodos destrutivos envolvem a coleta de pequenos fragmentos do material, feito de modo asséptico, para posterior fragmentação e crescimento em meio nutricional. Estas amostras também podem ser utilizadas para observação em microscópio eletrônico, além de outras análises (MIHAJLOVSKI *et al.*, 2014).

A metodologia tradicionalmente utilizada para identificação de fungos que colonizam os materiais consiste no microcultivo e identificação através da microscopia. Este método proporciona muitas vantagens sob o ponto de vista da investigação fisiológica do fenômeno, bem como pode permitir uma análise qualitativa e aproximação quantitativa dos microrganismos no material investigado (ARROYO, 2009).

Para Pinzari *et al.* (2011), o exame direto de superfícies com o auxílio de microscópios, ou a análise de fitas adesivas usadas para obtenção de amostras em áreas afetadas, podem algumas vezes fornecer informações prévias importantes. A correta identificação e caracterização dos microrganismos podem, em determinadas

⁸ Haste flexível com algodão

circunstâncias, ajudar a identificar, inclusive, a origem do problema e, portanto, direcionar medidas eficientes de controle.

De modo relativamente recente, em se tratando de análise de materiais construtivos, se passou a verificar que a melhor resposta para a questão da identificação dos agentes causadores do fenômeno da biodeterioração pode vir de métodos de diagnóstico com base na biologia molecular. A análise da etiologia e a identificação do agente responsável por quaisquer danos observados em materiais podem ser proporcionadas diretamente por extração e análise da informação genética dos organismos nocivos (PINZARI *et al.*, 2011).

O método tradicional do microcultivo consiste basicamente na coleta de amostras, isolamento e incubação em meios de cultura devidamente selecionados de acordo com o agente a que se quer identificar e disposição em ambiente climatizado com condições ideais de umidade relativa e temperatura por tempo determinado. Visualizado o crescimento, são realizadas análises para identificação utilizando a caracterização morfológica e a microscopia, principalmente. Este método permite o desenvolvimento de uma análise qualitativa, através da identificação de diferentes colônias de fungos.

Também é possível realizar uma estimativa aplicada aos organismos cultiváveis. Em microbiologia, existem algumas técnicas bastante usuais, tais como, a técnica de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de material ou por unidade de volume. A Norma Técnica da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, CETESB L5.201 (2006), baseia-se no princípio de que, em condições adequadas de nutrição, temperatura e tempo de incubação, os organismos heterótrofos viáveis presentes na amostra, com capacidade de desenvolvimento em tais condições, formam colônias observáveis após o período de incubação. Sendo assim, são inoculados em placas de Petri, volumes decimais adequados da amostra a analisar, adicionando-se, a seguir, meio nutricional próprio para fungos ou bactérias, por exemplo. Após o período adequado de incubação é feita a contagem com o auxílio de um contador de colônias. Realizada a contagem o cálculo final será expresso em UFC/g ou mL, levando-se em conta a diluição adotada na amostragem.

Esta quantificação permite avaliar o nível de infestação tanto com relação ao potencial degenerativo de determinados substratos quanto pode indicar o nível de contaminação do ar em ambientes, revelando se há ou não algum risco à saúde de seus habitantes.

Na Europa, o limite proposto para ambientes públicos com relação à UFC/m³ é determinada em 5000 UFC/m³ para a concentração total no ar, tanto para fungos quanto para bactérias. Levando em consideração a contaminação em materiais, principalmente coleções e acervos, na França, autores sugerem que esta concentração não deveria exceder 100-120 UFC/m³ (KARBOWSKA-BERENT *et al.*, 2011).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução – RE n°9 de janeiro de 2003, recomenda que o valor máximo para contaminação microbiológica em ambientes climatizados de uso público e coletivo deve ser menor ou igual a 750 UFC/m³ de fungos, com uma relação I/E (quantidade de fungos no ambiente interior/exterior) menor ou igual a 1,5.

Com relação à contaminação de materiais construtivos, no Brasil, verificou-se a existência da norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 14941 (ABNT, 2011) que descreve um método de avaliação para a resistência de tintas e vernizes quanto ao crescimento em específico do fungo *Aspergillus niger*, podendo ser estendida para análise de outras espécies de fungos. A norma baseia-se na inoculação controlada de esporos e verificação visual do crescimento em amostras incubadas em tempo pré-determinado.

Shirakawa; Cincotto; Gambale (1999) propuseram a padronização de um teste acelerado para avaliação da resistência de argamassas de revestimento de interiores ao crescimento de fungos. A partir do isolamento de fungos em revestimentos e inoculação em amostras moldadas em laboratório, expostas às condições microclimáticas ideais, é avaliada a pré-disposição ou resistência do substrato ao crescimento.

Para o desenvolvimento de análises de microrganismos através do cultivo e posterior identificação e quantificação faz-se necessária a seleção de um meio nutricional

compatível com a análise a ser realizada. Existem inúmeros meios nutricionais indicados pela bibliografia e aplicados em diversas pesquisas para investigação de diferentes microrganismos. Tais como Malt Extract Agar (MEA) para fungos (POLIZZI *et al.*, 2011); (STERFLINGER, 2010); Dichloran 18% glycerol (DG18) e o Dichloran Rose Bengal Chlortetracycline (DRBC) para fungos (STERFLINGER, 2010); Blood trypticase soy agar (blood TSA) para bactérias (KARBOWSKA-BERENT *et al.*, 2011); Meio Knop Modificado (MKM) para bactérias e fungos (BARRIONUEVO, 2004; KIEL, 2005; SHIRAKAWA *et al.*, 2002; KURTH, 2008); Thornton (Th) para bactérias (KIEL, 2005; SHIRAKAWA *et al.*, 2002; KURTH, 2008); Potato Dextrose para fungos (KURTH, 2008); Sabouraud Dextrose Ágar para fungos (SANTOS, 2008; SOBRINHO, 2008; LONGO *et al.*, 2013, SHIRAKAWA *et al.*, 2010).

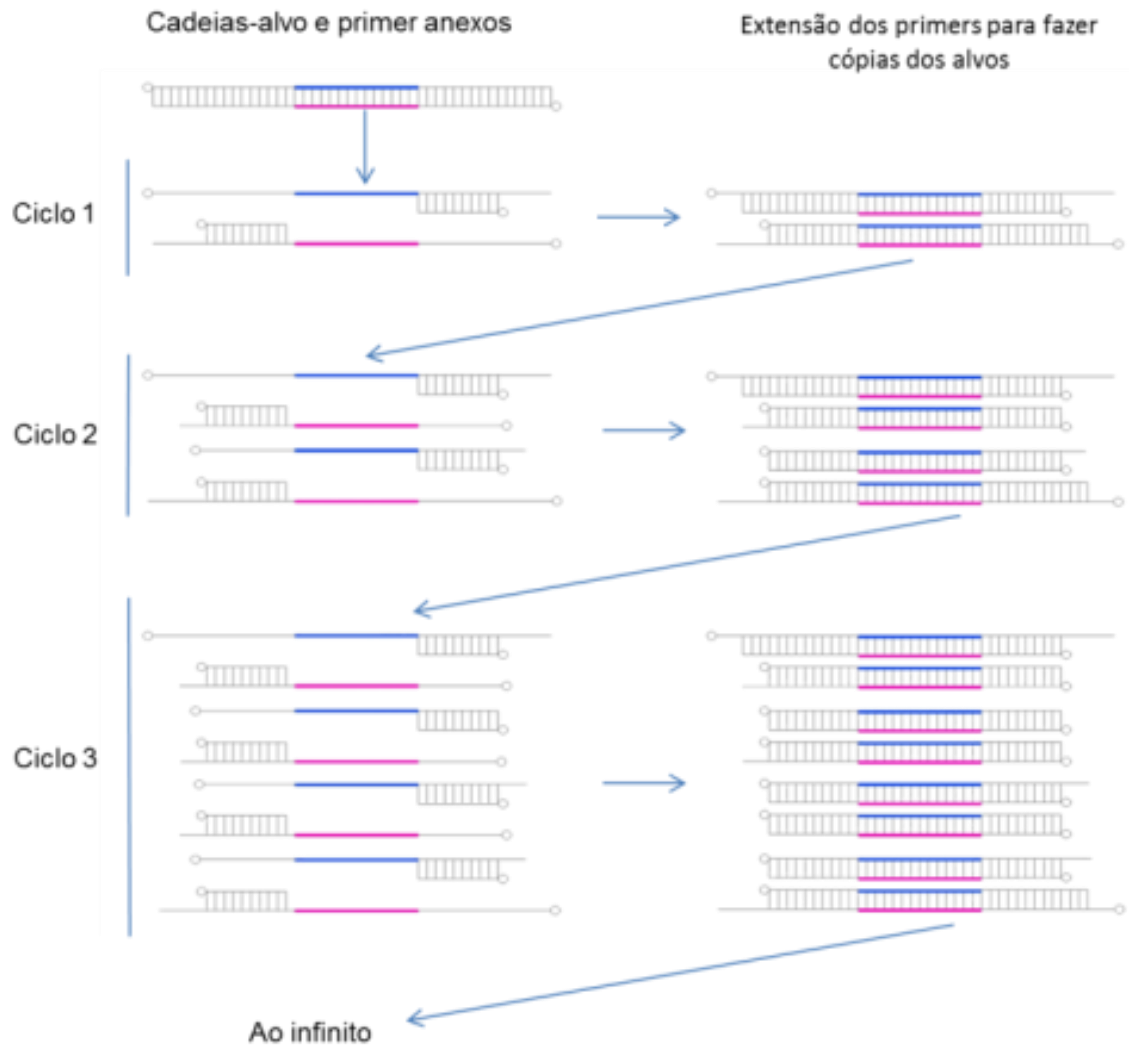
Complementar ao método tradicional do microcultivo, demonstra-se importante o uso de métodos moleculares de análise. O advento da biologia molecular consolidou-se no século XX. A Reação de Cadeia de Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) foi desenvolvida nos anos 80 por Kary Mullis, que recebeu em 1994 o prêmio Nobel e sua descoberta resultou em enormes benefícios para o meio científico. O PCR, através da utilização da enzima DNA-polimerase, possibilita a síntese de fragmentos de DNA⁹. Esta enzima é a mesma que participa da replicação do material genético nas células e é capaz de sintetizar uma sequência complementar no ponto escolhido para o início da síntese (Figura 12).

Esta é uma técnica simples de cópia de partes de DNA em laboratório, com a utilização de reagentes. O número de cópias a partir de um fragmento cresce exponencialmente, sendo possível obter 100 bilhões de cópias em apenas algumas horas (MULLIS, 1990). Após a amplificação das cadeias por PCR é possível o sequenciamento genético e identificação de espécies por comparação em banco de dados de organismos já descobertos e descritos.

⁹ Ácido Desoxirribonucleico – *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), cadeia composta de quatro desoxinucleotídeos: desoxiguanosina (A), Desoxitimidina (T), Desoxiguanosina (G) e Desoxicitosina (C). O sequenciamento destas bases codifica a informação genética de cada ser vivo (MULLIS, 1990).

Esta replicação é possível desde que um pequeno fragmento, denominado iniciador, ou, do inglês *primer*, já esteja ligado a uma das cadeias do DNA (NOVAIS e PIRES-ALVES, 2004).

Figura 12 – Processo cíclico da PCR



Fonte: Traduzido de Mullis (1990)

Com base na Figura 12 verifica-se o processo cíclico de quebra das cadeias-alvo de DNA, através do uso de primer específico e sua extensão, realizando cópias dos alvos.

Complementar à mencionada metodologia tradicional, o método molecular vem sendo aplicado à investigação de materiais sujeitos à biodeterioração. As técnicas moleculares possuem como vantagem a especificidade proveniente do sequenciamento de ácidos nucleicos para a identificação de microrganismos. Técnicas com base em reação em PCR e genotipagem vêm sendo desenvolvidas e

adaptadas para o reconhecimento e identificação de comunidades microbianas, inclusive, em materiais históricos (ETTENAUER *et al.*, 2014).

Com base na utilização de métodos considerados tradicionais, sabe-se que apenas cerca de 10% da população fúngica presente na natureza pode ser cultivável. Desta forma, técnicas moleculares podem ser aplicadas com o objetivo de identificação de organismos sem a necessidade de cultivo, permitindo a extração de DNA diretamente das amostras. A eficiência do método envolve a lise celular, quantidade e qualidade dos ácidos nucleicos extraídos, bem como a pureza do DNA. Considerando como substrato para análise os materiais construtivos, estes podem ser comparáveis aos solos e sedimentos devido à complexidade de sua composição. Estes substratos contêm várias substâncias que são extraídas conjuntamente com o DNA, tais como metais pesados, pigmentos, ácidos e aditivos químicos. A remoção destas substâncias é um dos passos críticos para uma extração de DNA bem-sucedida e depende de kits específicos, sendo ainda aplicada de modo bastante restrito aos materiais de construção (ETTENAUER, J. D, *et al.*, 2012). Este método permite a extração global dos microrganismos presentes nas amostras. Posteriormente é seguido um protocolo específico para realização do PCR, com a amplificação de regiões específicas para fungos, bactérias ou outros microrganismos, permitindo sua identificação através do sequenciamento genético.

2.7 TRATAMENTO DE SUPERFÍCIES HISTÓRICAS QUANTO À BIODETERIORAÇÃO POR MICRORGANISMOS

De acordo com La Russa *et al.*, (2014), no processo de intervenção para a conservação dos materiais históricos, é comum a aplicação de ações estratégicas que envolvem basicamente: a remoção de alterações, tais como depósitos, incrustações, agentes biológicos, entre outros; a consolidação de elementos através da aplicação de produtos de natureza orgânica ou inorgânica; a selagem de fissuras com materiais compatíveis de modo a não comprometer a estabilidade e a aparência estética; e por último, a aplicação de biocidas, com ou sem associação com agentes protetivos e consolidantes com o objetivo de prevenir futuras colonizações.

O uso de biocidas vem sendo largamente discutido no âmbito da pesquisa. Pesquisas em diferentes áreas do conhecimento, observam que aspectos como, tipo de biocida, espectro de abrangência de microrganismos, forma de aplicação, bem como a concentração utilizada, afetam diretamente o desempenho esperado.

Segundo (HARDING, 2009) verifica-se, ainda, uma baixa eficiência dos biocidas e antibióticos contra os microrganismos quando estes estão sob forma de biofilme.

Santos (2011) avaliou a eficácia de dois biocidas tradicionalmente aplicados em edificações históricas, *Timol*¹⁰ e *Preventol BP*¹¹ e uma mistura de biocidas na proporção 1:1 de sulfato de cobre com sulfato de zinco contra bactérias e fungos em monumentos históricos na Bahia. O autor concluiu a eficácia dos três biocidas, contudo apontou restrições relativas à toxicidade ao ser humano, descrevendo sintomas como irritação nos olhos e no nariz durante a manipulação dos produtos, além do forte odor. Além disso, mencionou questões referentes ao elevado custo dos produtos, bem como a necessidade de verificação quanto à compatibilidade com os materiais históricos. Foi retomada ainda a questão referente ao controle dos fatores que favorecem o desenvolvimento microbiológico, considerando que embora possuam efeito residual, a manutenção preventiva não pode ser dispensada.

Kiel (2005) destaca que o uso de biocidas pode, ainda, agir prejudicando os objetos ou materiais a serem preservados, além do fato de sua ação ser restrita a alguns microrganismos, permitindo que os que não foram destruídos se desenvolvam de forma acentuada. Há, ainda, uma restrição com relação a contaminações ambientais.

Portanto, os métodos tradicionalmente reconhecidos para o tratamento da biodeterioração apresentam algumas limitações, tais como mencionados, tempo limitado de ação, dificuldade de abrangência, visto que é bastante comum a ocorrência de diversos microrganismos envolvidos no fenômeno, além das questões de toxicidade ao ser humano.

¹⁰ Timol: isopropil-meta-cresol. Cristais brancos, solúveis em álcool, éter e clorofórmio. Ligeiramente solúvel em água. Antioxidante. Moderadamente tóxico. Ação fungicida (CALVO, 1997).

¹¹ Composto à base de sal de amônio quaternário – composto orgânico nitrogenado, empregue como desinfetante e fungicida (CALVO, 1997).

2.7.1 Aplicação de dióxido de titânio como alternativa à recorrência da biodeterioração por fungos

Tendo em vista a frequente recorrência e dificuldade de controle de manifestações patológicas, como as relacionadas ao crescimento biológico, novas pesquisas voltam-se ao desenvolvimento tecnológico de produtos capazes de promover maior resistência aos materiais quanto à biodeterioração, prevenindo e poupando-os de desgastes constantes com limpezas ou mesmo remoções.

Principalmente a partir da última década, a pesquisa vem estudando o uso da nanotecnologia aplicada em diferentes áreas relacionadas à conservação do patrimônio cultural, em nível mundial (DEI; SALVADORI, 2006; PARAMÉS, 2008; LIU *et al.*, 2009; RUFFOLO *et al.*, 2010; DI SIMONI, 2012; GUTAROWSKA *et al.*, 2012; LUCAS *et al.*, 2013; SHIRAKAWA *et al.*, 2013; MUNAFÒ *et al.*, 2014), entre outros.

O termo *nano* se refere aos materiais que apresentam dimensões inferiores a 100nm. Estes materiais, em função da sua reduzida dimensão, apresentam elevada área superficial com relação ao volume de material. Esta característica favorece a ocorrência de uma gama de atividades relacionadas à sua superfície, tais como adsorção, taxa de reações e condutividade elétrica, quando comparadas a outros sistemas de mesma massa (DE FILPO *et al.*, 2013).

O desenvolvimento dos nanomateriais têm aberto grandes possibilidades em diferentes áreas científicas, desde a física, química, biologia, geologia, medicina ou engenharia, fornecendo aos materiais novas propriedades, tanto em nível funcional quanto estrutural. Nas últimas décadas intensificou-se a pesquisa com esta temática, inicialmente limitada aos setores aeroespaciais e biomédicos, passando em seguida a ser amplamente estudada quanto sua aplicação aos materiais das edificações, principalmente em nível internacional (DI SIMONI, 2012).

Ainda de acordo com Di Simoni (2012), também no campo da restauração, as aplicações de nanomateriais são numerosas, demonstrando-se como novos produtos capazes de melhorar as propriedades de proteção e consolidação dos materiais, com vantagens, inclusive, muito superiores aos tratamentos tradicionais. A utilização de partículas nanométricas, através de suas características químicas e estruturais,

especificamente quando em contato com as superfícies, são capazes de produzir reações com os constituintes dos próprios materiais, modificando-os. A nanotecnologia proporciona, assim, a possibilidade de aplicação como tratamentos específicos nos materiais históricos, podendo melhorar a penetração, favorecer a hidrorrepelência dos materiais, aumentar a coesão de seus componentes, evitar a colonização de microrganismos e, por fim, aumentar a durabilidade ou capacidade de resistência quanto aos agentes de deterioração.

O uso de fotocatalisadores nanométricos, como o TiO_2 , vem despertando o interesse científico a várias décadas. Conforme Fujishima; Zhang; Tryk (2008), a fotocatalise é compreendida, de um modo geral, como a catálise de reações fotoquímicas em uma superfície sólida, usualmente um semicondutor. Neste processo, há, pelo menos, a ocorrência de duas reações simultâneas, a oxidação, através da geração de lacunas, e a segunda, envolvendo a redução, através da fotogeração de elétrons.

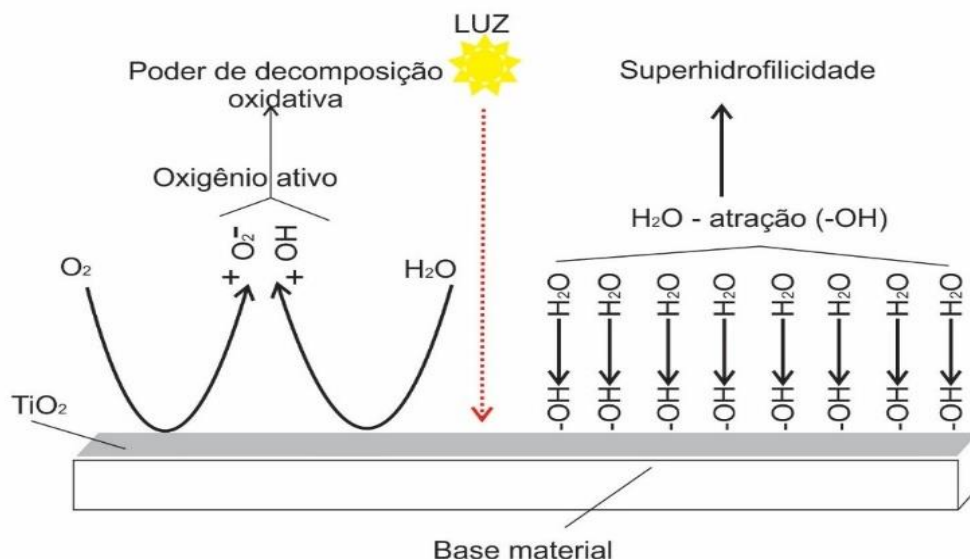
Revestimentos com propriedades fotocatalíticas podem apresentar uma série de funcionalidades, tais como, autolimpeza, ação biocida e de purificação do ar. Existem muitos fotocatalisadores, como por exemplo, Óxido de zinco (ZnO), Sulfeto de cádmio (CdS) e Trióxido de tungstênio (WO_3). No entanto, o TiO_2 destaca-se como um dos mais estudados na atualidade devido a vantagens como estabilidade química, relativo baixo custo e baixa toxicidade (VICENT *et al.*, 2011).

Ramirez e De Belie (2011) destacam que em 1996 foram desenvolvidos, em laboratório, os primeiros experimentos com a utilização do TiO_2 em materiais cimentícios para aquisição de propriedades autolimpantes. Tal estudo visava a avaliação da habilidade autolimpante em um projeto para a igreja “Dives in Misericordia” (Roma, Itália). Os resultados promissores impulsionaram outros pesquisadores a desenvolver novas pesquisas, resultando na aplicação do TiO_2 em algumas outras edificações, principalmente na Europa e Ásia. No entanto, os autores afirmam que mesmo sendo a Europa pioneira neste tipo de análise com os bons resultados da utilização do TiO_2 em revestimentos cimentícios das edificações, esta tecnologia ainda é pouco popular. Com relação à sua efetividade contra ao desenvolvimento de microrganismos, salientam que, considerando a magnitude do crescimento biológico em muitos materiais construtivos e a já comprovada efetividade

do TiO_2 contra espécies de algas e bactérias, ainda são poucos os trabalhos desenvolvidos considerando os materiais construtivos e outros diversos agentes biológicos.

A fotocatalise, através do TiO_2 , induz a ocorrência simultânea de dois fenômenos, a decomposição oxidativa dos depósitos orgânicos e a superhidrofilicidade, conforme Figura 13 (OHAMA e VAN GEMERT, 2011). A superhidrofilicidade traduz-se como a capacidade de reduzir o ângulo de contato entre uma gota d'água e uma superfície, formando um filme protetor (LA RUSSA *et al.*, 2014).

Figura 13 – Dois fenômenos simultâneos a partir da fotocatalise



Fonte: Traduzido a partir de Ohama e Van Gemert (2011)

De acordo com a Figura 13, o poder de decomposição oxidativa através da fotocatalise devido ao oxigênio ativo consiste do forte efeito de decomposição da matéria orgânica a partir dos radicais hidroxila (OH^*) e íons superóxidos (O_2^*). A superhidrofilicidade fotoinduzida é devido à atratividade entre a água e os grupos hidroxila.

Feltrin *et al.* (2013) explicam que no TiO_2 , cada átomo de titânio está rodeado por 6 átomos de oxigênio e cada átomo de oxigênio por três átomos de titânio. Sendo assim, cada átomo de titânio é envolvido por um octaedro distorcido de oxigênio. Os elétrons presentes nas órbitas mais externas dos átomos são denominados elétrons de valência. A órbita do elétron mais distante do núcleo configura, portanto, a banda de valência, sendo a que contém maior nível de energia. A banda exterior à esta é

referida como banda de condução. A energia existente entre a banda de condução e a banda de valência, chamada de o *bandgap*, comporta-se como uma barreira a ser transposta pelos elétrons, permitindo que saltem de uma banda à outra. A quantidade necessária para que ocorra o salto de elétrons é denominada energia de *bandgap* (E_{bg}).

A fase rutilo possui um menor *bandgap* (3,0eV), correspondendo a um comprimento de onda de $\lambda=413\text{nm}$. Já a fase anatase possui um maior *bandgap* de ativação, 3,2eV, com comprimento de onda $\lambda=388\text{nm}$ (FELTRIN *et al.*, 2013). Ambas as fases possuem *bandgaps* próximos aos limites de comprimentos de onda para radiação UVA (320-400nm) e luz visível (400-700nm), os valores para λ e E_{bg} são inversamente proporcionais, sendo assim, se for elevado o valor de comprimento de onda ocorrerá uma redução da energia de *bandgap*. Desta forma, comprimentos de onda menores que 388nm são os mais indicados para a ativação do TiO_2 . Conforme Foster *et al.* (2011), aproximadamente 385nm.

De acordo com Longo *et al.* (2013), a fase anatase exibe alta estabilidade e alta atividade fotocatalítica, sendo, portanto, a mais utilizada para este fim. Ocorrendo o *bandgap* no momento em que saltam os elétrons da banda de valência, formam-se lacunas (do inglês, *holes*), com carga positiva, correspondendo ao número de elétrons que saltaram para a banda de condução. Para Feltrin *et al.* (2013), o TiO_2 , diferente de outros semicondutores, embora fotoexcitado, mantém-se altamente estável, razão que o torna um excelente fotocatalisador.

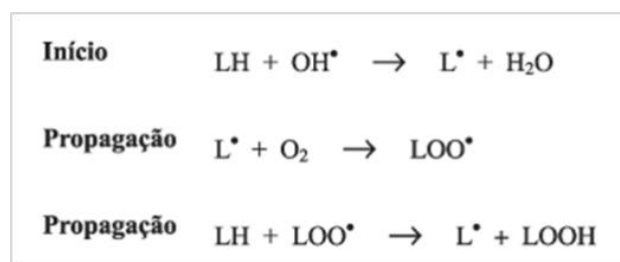
Para La Russa *et al.* (2014), além da oxi-redução de compostos orgânicos, o TiO_2 pode ser utilizado contra diversos microrganismos, dentre eles bactérias, fungos e, até mesmo vírus.

A fotocatalise, assim, caracteriza-se como um processo oxidativo avançado (POA), apresentando diversas aplicações devido à geração de espécies oxidantes fortes. Sua utilização vai além da aplicação em superfícies para promoção de autolimpeza, sendo largamente utilizada para descontaminação de água, degradação de corantes e poluentes em efluentes líquidos, purificação do ar, entre outros (FELTRIN *et al.*, 2013).

De acordo com La Russa *et al.* (2014), a eficiência com relação aos microrganismos se dá pela competição entre a recombinação (nano-segundos) de cargas carregadas, foto-excitadas e elétrons e a transferência destes para o interior das células.

Longo *et al.* (2013) relatam que as pesquisas relacionadas ao potencial antimicrobiano do TiO₂ sempre associam ao radical OH• a ação tóxica contra os microrganismos. No entanto, mencionam que ainda há muitas dúvidas com relação a esta afirmação, visto que nas reações de fotocatalise, além do OH•, são geradas outras espécies de oxigênio ativo, tais como, ânions superóxido (O₂•⁻), radical perhidroxila (HOO•) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), formados na superfície do fotocatalisador. Estas espécies são bem conhecidas pela sua interação com agentes biológicos e decomposição de moléculas orgânicas. Reconhecendo que os organismos são muito mais do que simples moléculas, os efeitos antimicrobianos dos fotocatalisadores envolvem um longo espectro de interações com estes microrganismos. A produção de oxigênio reativo é responsável pela peroxidação dos componentes fosfolipídicos que compõem a membrana celular dos organismos. A peroxidação do lipídio (exemplificada com o radical OH•) é representada esquematicamente na Figura 14. O aumento da permeabilidade celular, provocada por esta reação, permite a saída de componentes do interior da célula, resultando, assim, na morte celular.

Figura 14 – Representação esquemática do início da reação em cadeia de peroxidação dos componentes fosfolipídicos



Fonte: (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007)

De acordo com o esquema da Figura 14, a reação inicia com o “sequestro” de hidrogênio do ácido graxo polinsaturado (LH) da membrana celular. Este “sequestro” pode ser realizado pelo OH•, com a formação de L• (radical lipídico). Na primeira reação de propagação, o L• reage rapidamente com o O₂, resultando em LOO• (radical peroxila), que por sua vez, sequestra novo hidrogênio do ácido graxo polinsaturado, formando novamente L• na segunda reação de propagação. O término da

lipoperoxidação ocorre quando os radicais (L^{\bullet} e LOO^{\bullet}) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até destruírem a si próprios, resultando na morte celular.

No caso dos fungos filamentosos, em análise neste estudo, sabe-se que além da membrana celular, estes possuem uma parede celular, composta por quitina. A interação entre a reação de fotocatalise e as células de fungos, ainda não foi suficientemente investigada. Giannantonio *et al.* (2009) verificou a inibição do crescimento de fungos em amostras cimentícias compostas com TiO_2 , entretanto notou que uma espécie de fungo, o *Trichoderma asperellum*, foi capaz de sobreviver e recolonizar a amostra, o que demonstra que a efetividade do fotocatalisador pode ter diferentes comportamentos perante às diferentes espécies e seus mecanismos de defesa nos diversos substratos.

A atividade antimicrobiana do TiO_2 ativado por incidência de luz UVA, segundo Foster *et al.* (2011), foi demonstrada de modo pioneiro por Matsunaga e colaboradores na década de 80 (Matsunaga *et al.*, 1985). A partir deste momento, outros trabalhos relataram o uso da fotocatalise para destruição de bactérias, fungos, algas, protozoários e vírus, bem como toxinas microbianas (FOSTER *et al.*, 2011).

Fonseca *et al.* (2010) realizaram testes com TiO_2 na forma nanocristalina anatase, partículas com 20nm, aproximadamente, em comparação com dois biocidas tradicionais, Biotin T¹² e Anios¹³. Foram desenvolvidas duas etapas, uma em laboratório, através da aplicação do produto como revestimento ou misturada na pasta de argamassa. As amostras foram inoculadas com cianobactérias. A segunda etapa correspondeu à aplicação direta em fachadas de edificações com a ocorrência de biodeterioração. Os autores verificaram que para as duas análises, laboratorial e *in situ*, o TiO_2 é mais eficiente como agente biocida que os dois outros produtos convencionais. O experimento foi realizado com duração entorno de quatro meses.

¹² Biocida comercial que possui alkyl-benzyl-dimethyl-ammonium chloride e isopropyl alcohol como princípio ativo (FONSECA *et al.*, 2010).

¹³ Mistura de n,n-didecyl-n-methyl-poly(oxyethyl) ammonium propionate com alkyl-propylene-diamineguanidium acetate (FONSECA *et al.*, 2010).

Di Simoni (2012) destaca a ação antimicrobiana do TiO₂ através da eliminação de bactérias e depósitos de natureza orgânica. A autora avaliou também a propriedade antifúngica do fotocatalisador sobre substratos de mármore e pedra natural calcária contra o fungo *Aspergillus niger*, observando que o tratamento superficial com o fotocatalisador, exposto ao ambiente natural, inibiu o crescimento deste fungo.

Em trabalho desenvolvido por Markowska-Szczupak *et al.* (2015) verificou-se a efetividade do fotocatalisador TiO₂ como antifúngico, testado em inóculos de *S. apiospermum* (ZUT11), *P. ellipsoidea* (ZUT12), *S. aurantiacum* (ZUT4), *A. flavus* (ZUT2), *P. boydii* (ZUT25) e *A. versicolor* (ZUT130) em placas de Petri. Os dois últimos fungos, em comparação com os demais, mostraram maior resistência ao produto. Este estudo demonstrou a variabilidade da eficácia do fotocatalisador com relação aos diferentes agentes, reforçando a importância da verificação de sua eficiência quanto ao maior universo possível de microrganismos capazes de provocar a biodeterioração.

Considerando, portanto, o que menciona o referencial teórico quanto aos diferentes níveis de efetividade do TiO₂ com relação à diversidade fúngica e que os estudos mencionam sua eficiência principalmente contra bactérias, sendo ainda poucos os trabalhos desenvolvidos com relação aos fungos, a seguir serão descritos os principais métodos de análise adotados nesta pesquisa para a caracterização dos materiais históricos, bem como dos fungos filamentosos a serem identificados e sua interação com o fotocatalisador TiO₂.

O trabalho foi estruturado em duas fases. Em um primeiro momento foi feita a caracterização físico-química de revestimentos em argamassas de uma edificação histórica, bem como a prospecção, identificação e estimativa de fungos filamentosos presentes nos substratos analisados.

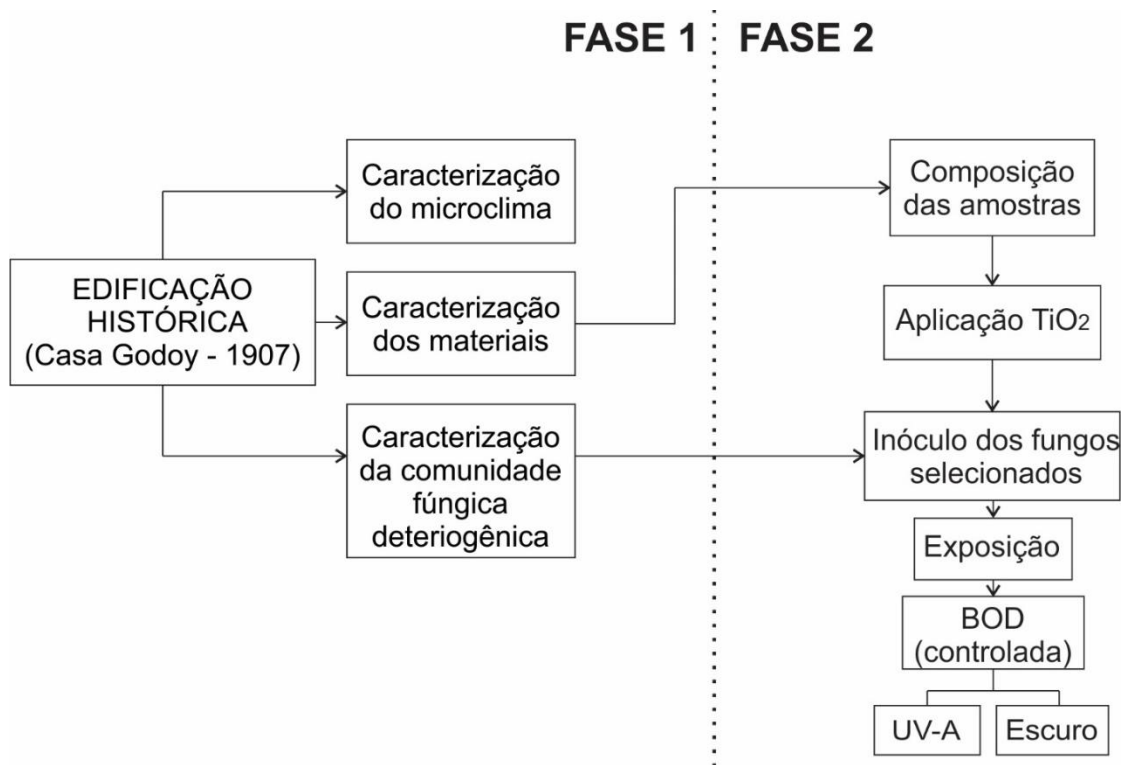
Em uma segunda fase foram desenvolvidas análises em condições controladas, a partir de amostras confeccionadas em laboratório, considerando os dados obtidos e os fungos isolados na primeira etapa para avaliação da eficiência do fotocatalisador com relação ao crescimento biológico.

3 PROGRAMA EXPERIMENTAL

Considerando os objetivos da presente pesquisa, o programa experimental deste trabalho foi estruturado em duas fases principais. Em um primeiro momento foi feita a seleção de uma edificação histórica representativa do estudo. A partir do estudo desta edificação, da análise ambiental, da caracterização das argamassas de revestimento, do isolamento e identificação dos fungos filamentosos mais frequentes, foi realizada a Fase 1. Nesta segunda etapa foram moldadas amostras de argamassas com propriedades e características semelhantes às verificadas na Fase 1. As amostras foram inoculadas com os fungos filamentosos isolados e selecionados na edificação histórica para verificação da eficiência do fotocatalisador em estudo, o TiO_2 . Cada uma das etapas envolvidas nas duas fases propostas é detalhadamente apresentada nos subcapítulos a seguir.

A Figura 15 mostra esquematicamente a estruturação das duas fases apresentadas.

Figura 15 – Fluxograma do programa experimental



3.1 FASE 1 - ESTUDO DA EDIFICAÇÃO HISTÓRICA - CASA GODOY

A Fase 1 deste trabalho envolveu a seleção e estudo de uma edificação histórica para caracterização e análise microclimática, biológica e dos materiais (argamassa de revestimento).

Para definição da edificação a ser analisada, adotou-se como critérios: a escolha de uma edificação de valor histórico/patrimonial; cujos revestimentos fossem em argamassa de constituição original; que apresentasse manifestações patológicas relacionadas ao crescimento de agentes biológicos; e que, por fim, fosse acessível para o desenvolvimento das análises, viabilizando a obtenção de um número representativo de amostras de material.

Foi possível o acesso em cerca de cinco edificações no Centro histórico e Bairro Independência na cidade de Porto Alegre – RS (Brasil). Dentre estas, a edificação selecionada para o desenvolvimento do trabalho foi a Casa Godoy, construída em 1907 e localizada na Avenida Independência, nº456, coordenadas (30°01'45''S; 51°13'00,77''O), mostrada na Figura 16.

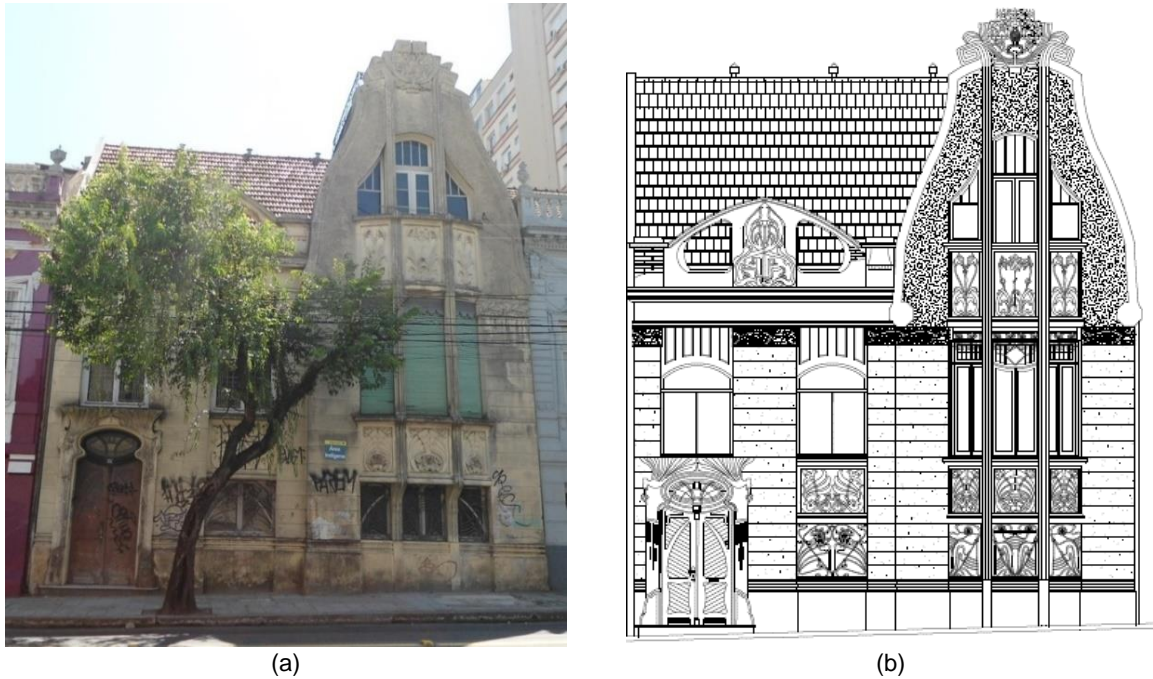
As demais edificações foram desconsideradas ou por já terem sofrido alterações importantes no revestimento, por dificuldade de acesso ou impossibilidade de obtenção de número considerável de amostras.

O Bairro Independência se consolidou no segundo quartel do século XVIII, e ainda hoje possui muitos remanescentes do mencionado período. A Avenida Independência, onde se localiza a edificação, é o eixo principal do bairro. Surgiu espontaneamente no passado como uma das saídas da Vila de Porto Alegre, como era conhecida a cidade, para a Aldeia dos Anjos, atualmente a cidade de Gravataí (Centro de Pesquisa Histórica vinculada à Coordenação de Memória Cultural da Secretaria Municipal de Cultura)¹⁴.

¹⁴ Disponível em:

<http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/observatorio/usu_doc/historia_dos_bairros_de_porto_alegre.pdf>

Figura 16 – Casa Godoy: a) vista geral da Casa Godoy, Bairro Independência – Porto Alegre – RS Fonte: Acervo pessoal, 2016; b) representação gráfica da fachada principal – Casa Godoy. Fonte: Prefeitura Municipal de Porto Alegre - Secretaria Municipal da Cultura – Coordenação da Memória Cultural.

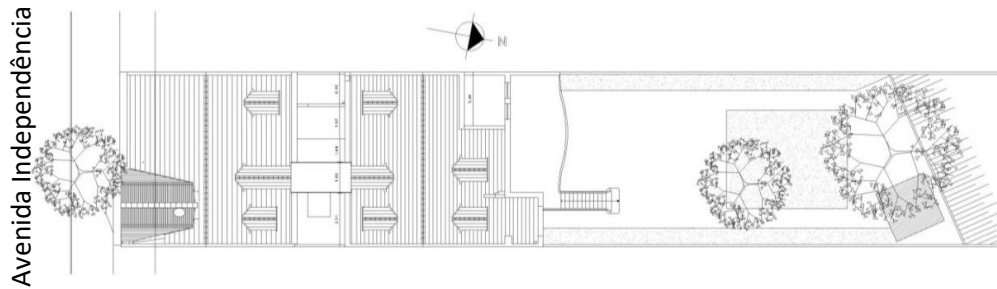


A Casa Godoy é considerada um marco referencial do patrimônio arquitetônico regional, por ser um dos raros exemplares do estilo *Art Nouveau*, estilo internacional de ornamentação, muito apreciado no final do século XIX, início do XX, com a representação estilizada de elementos da natureza, principalmente expressos em linhas curvas (PEVSNER, 2005).

A edificação possui 719,39m² de área construída, tendo sido seu projeto assinado pelo arquiteto alemão Hermann Otto Menchen¹⁵. Foi tombada em 1996 pela Secretaria Municipal de Cultura (SMC) e adquirida pela Prefeitura de Porto Alegre no mesmo ano. A casa possui três pavimentos, correspondendo ao térreo, segundo piso e um sótão. Está dividida em dois blocos interligados por um pátio interno, parcialmente coberto por um passadiço do pavimento superior. A fachada principal está disposta sobre o alinhamento predial. Não possui recuos laterais, estando diretamente ligada às edificações dos lotes vizinhos. A Figura 17 mostra a planta de situação da edificação.

¹⁵ Arquiteto alemão radicado em Porto Alegre, também responsável pelo projeto da nova Alfândega (pós-guerra), projeto original da Faculdade de direito da UFRGS, entre outros (WEIMER, 1994).

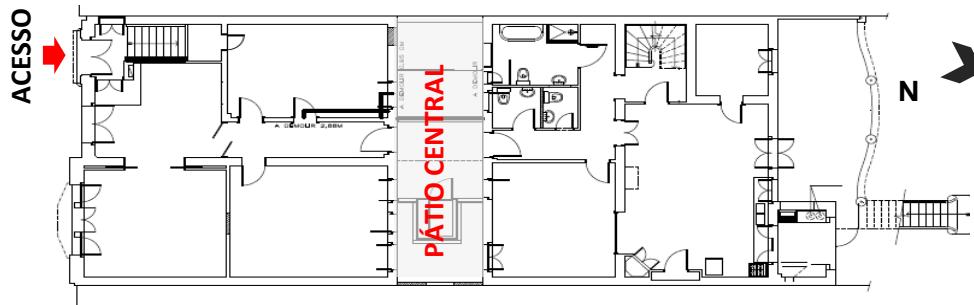
Figura 17 – Planta de situação da Casa Godoy



Fonte: Prefeitura Municipal de Porto Alegre - Secretaria Municipal da Cultura – Coordenação da Memória Cultural.

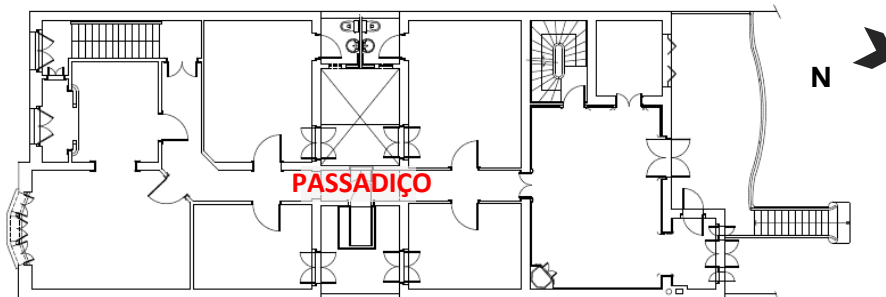
A Figura 18 e a Figura 19 mostram as plantas baixas do primeiro e segundo pavimentos, respectivamente.

Figura 18 – Pavimento térreo da Casa Godoy



Fonte: Prefeitura Municipal de Porto Alegre - Secretaria Municipal da Cultura – Coordenação da Memória Cultural.

Figura 19 – Segundo pavimento Casa Godoy



Fonte: Prefeitura Municipal de Porto Alegre - Secretaria Municipal da Cultura – Coordenação da Memória Cultural.

A Casa Godoy possui estrutura e paredes em alvenaria de tijolos. Possui divisórias internas construídas em estuque. Nesta edificação, a técnica consiste em uma estrutura leve de madeira com tramas transversais em fibras de coco, preenchida internamente com barro e revestida com reboco à base de cal, conforme dados

obtidos no material do levantamento técnico da Secretaria Municipal da Cultura (SMC) de Porto Alegre e verificado *in loco*.

No pavimento térreo, não há presença de porão, sendo os materiais dos pisos, cerâmica, tacos em madeira, mármore ou ladrilho hidráulico. O entrepiso é de madeira, revestido com assoalho, encaixe tipo “macho-fêmea”, e piso cerâmico nos banheiros. Os forros dos pavimentos superiores são também em madeira.

Segundo a SMC¹⁶, originalmente, a casa pertenceu ao médico Jacintho Godoy. No pavimento térreo, as salas eram utilizadas como consultórios, interligadas à parte posterior da edificação, onde estão dispostas a cozinha, uma sala anexa, banheiro e pátio dos fundos.

No pavimento superior, um corredor de distribuição liga os quatro antigos dormitórios. Há, ainda, um gabinete e sala de visitas com frente voltada para a Avenida Independência. Na parte dos fundos do pavimento superior, encontram-se o que originalmente correspondiam à sala de jantar e uma saleta, possivelmente utilizada como “sala para fumar”, além de uma terceira sala. Estas salas se abrem para uma varanda com balaustrada em ferro trabalhado e com uma escada para acesso ao pátio dos fundos. As paredes do gabinete, sala de visitas e sala de jantar são revestidas com uma pintura mural de refinado acabamento.

A partir de 1998, passou a ser ocupada pela Coordenação da Memória Cultural da Secretaria Municipal de Cultura e Equipe do Patrimônio Histórico e Cultural, após este período permaneceu fechada, sendo novamente ocupada, em 2018, pela mesma secretaria. Permanece parcialmente ocupada, aguardando financiamento para execução de projeto de restauração, realizado em 2002.

O estado de conservação da edificação, quando do desenvolvimento das análises, era precário. Falhas provavelmente relacionadas ao sistema de calhas e escoamento da água da cobertura, principalmente nas paredes voltadas ao pátio interno e divisa com as edificações vizinhas, podem estar prejudicando o escoamento da água das chuvas para o sistema de coleta pluvial, encharcando o terreno, fazendo com que a

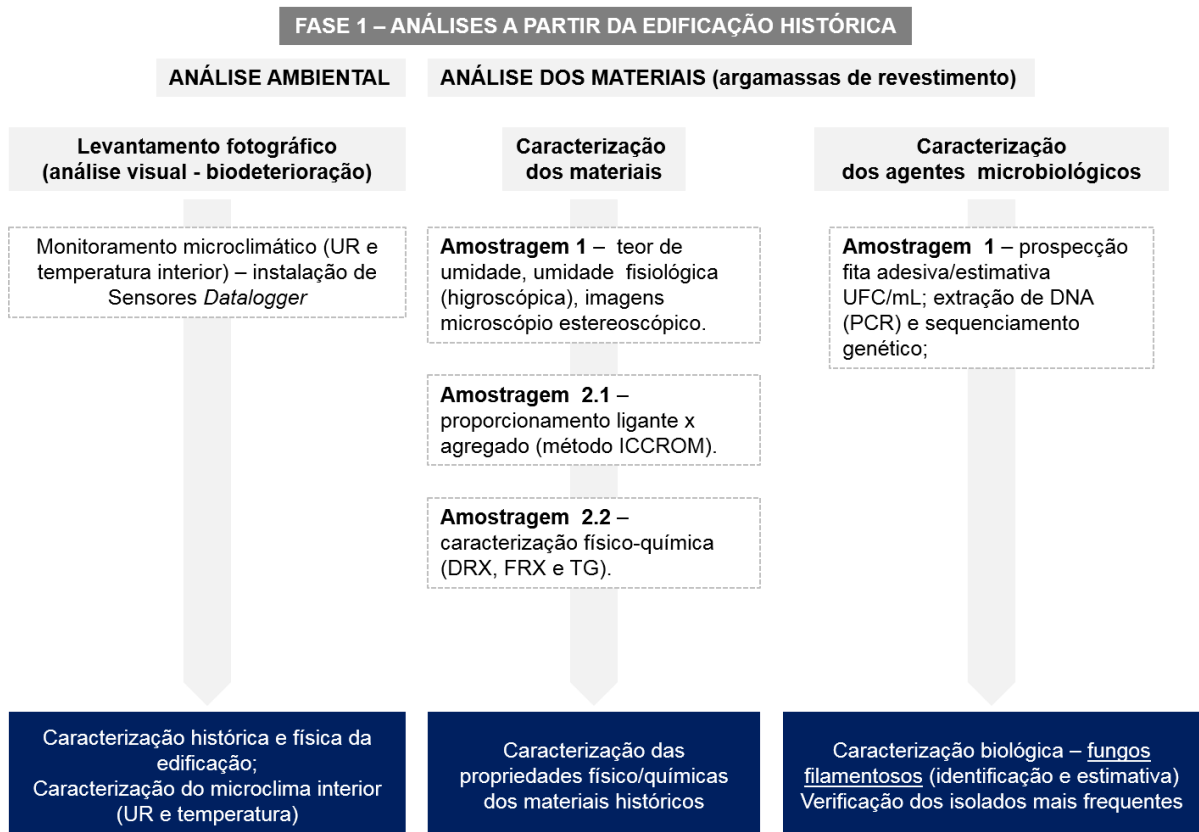
¹⁶ Disponível em: <http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/smc/usu_doc/historico_casa_godoy1.pdf>

água migre de modo ascensional para os pisos e paredes do pavimento térreo. Esta observação é reforçada pelo fato de verificar-se o aumento da umidade logo após a ocorrência de chuvas. Além disso, no pavimento superior também há ocorrência de infiltração através de falhas em pontos da cobertura. Verificou-se, inicialmente, em inspeção visual, o crescimento biológico nos revestimentos de vários ambientes, observando-se uma maior intensidade quanto à biodeterioração nos pontos com maior retenção de umidade, conforme já seria esperado.

3.1.1 Caracterização da edificação

As etapas da Fase 1, forma estruturadas conforme mostrado esquematicamente na Figura 20.

Figura 20 – Etapas da Fase 1 da pesquisa



Para as análises desenvolvidas a partir dos materiais da edificação histórica, foi feita uma seleção dos ambientes, considerando os aspectos de constituição dos revestimentos, possibilidade de obtenção de amostras, bem como diferentes fenomenologias de alteração provocadas por agentes biológicos, indicando diferentes

fontes de umidade, tais como condensação e infiltração, considerando estas as principais observadas nesta edificação. Esta seleção considerou, portanto, as análises a serem desenvolvidas tanto para caracterização das propriedades dos materiais, quanto para a caracterização biológica.

Cada uma das etapas desenvolvidas na Fase 1 é descrita nos itens a seguir.

3.1.2 Análise ambiental – monitoramento das condições microclimáticas

Para a verificação das condições climáticas, quanto à UR e à temperatura no interior da edificação, foram instalados quatro sensores *Hobo Data Logger UX100-003 ONSET*. Os sensores possuem precisão de $\pm 0,21^{\circ}\text{C}$ para temperatura e $\pm 3,5\%$ para UR.

Os sensores foram distribuídos, um em cada bloco dos pavimentos térreo e superior, conforme Figura 21 e Figura 22, a uma altura aproximada de 1,80m do nível do piso. Foi realizada a configuração para coleta horária de dados. As medições foram iniciadas em janeiro de 2016 e finalizadas em janeiro de 2017, completando, portanto, mais de um ano de monitoramento.

Os sensores possuem ímãs na parte posterior, o que permitiu sua fixação e retirada para descarregamento dos dados. Pequenas placas metálicas foram fixadas às paredes nos pontos selecionados, utilizando-se fita estrutural dupla face. A coleta de dados foi realizada com periodicidade aproximada de dois meses.

Figura 21 – Localização dos sensores – pavimento térreo

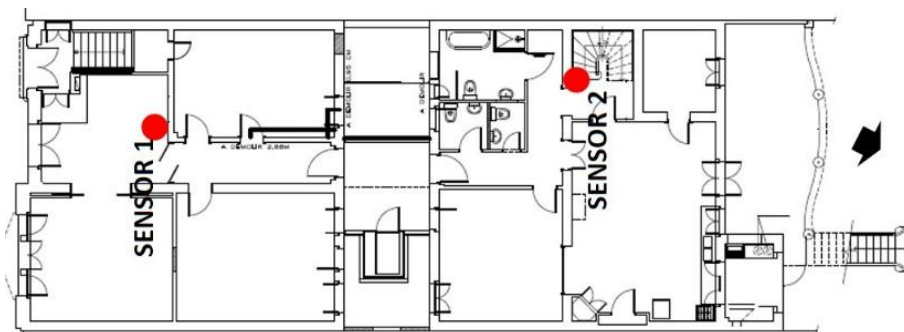
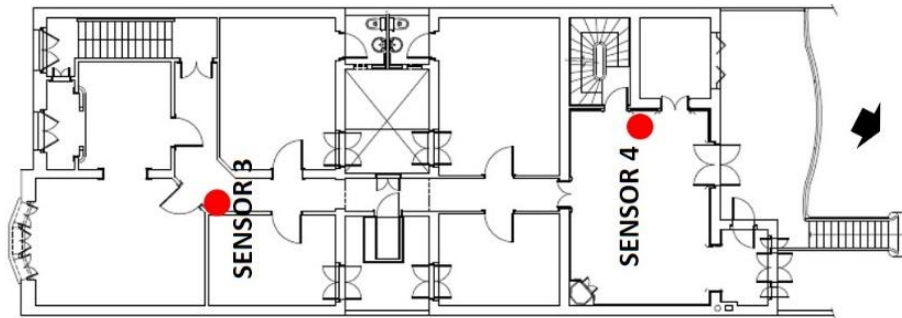


Figura 22 – Localização dos sensores – pavimento superior



A verificação das condições microclimáticas no interior da edificação mostrou-se relevante para posterior correlação com o crescimento biológico para as condições analisadas.

3.1.3 Procedimento de coleta e análise dos materiais para caracterização físico-química

Para o desenvolvimento da análise dos materiais, tanto sob o aspecto da caracterização e determinação de suas propriedades, quanto sob o ponto de vista da caracterização dos agentes biológicos de deterioração, foi feita uma inspeção prévia em cada um dos ambientes da edificação para definição dos locais de extração.

A obtenção de amostras para realização de análises em materiais de edificações históricas apresenta algumas limitações, principalmente quanto ao número e localização de pontos possíveis de extração. Os materiais originais são frequentemente de difícil substituição por questões de compatibilidade e de insubstituível valor quanto aos aspectos históricos e artísticos.

Veiga *et al.* (2004) destacam que a extração de amostras é sempre algo destrutivo, pelo qual é necessário limitar a retirada de amostras à menor quantidade possível, mas realizá-la em quantidade suficiente para permitir a obtenção dos resultados desejados. Desta forma é importante, previamente, estudar as formas de extração, de modo a danificar minimamente os elementos construtivos, bem como ter cuidado com o armazenamento para que não haja contaminação entre amostras. Destacam ainda, que deve ser aplicado o princípio da destruição mínima, definindo limites claros para extração.

Neste trabalho, considerando se tratar de uma edificação protegida pelo órgão de preservação municipal, adotou-se como critério para obtenção de amostras, locais próximos a pontos de visível desagregação ou alteração de difícil recuperação, onde já ocorreria necessariamente a remoção do material.

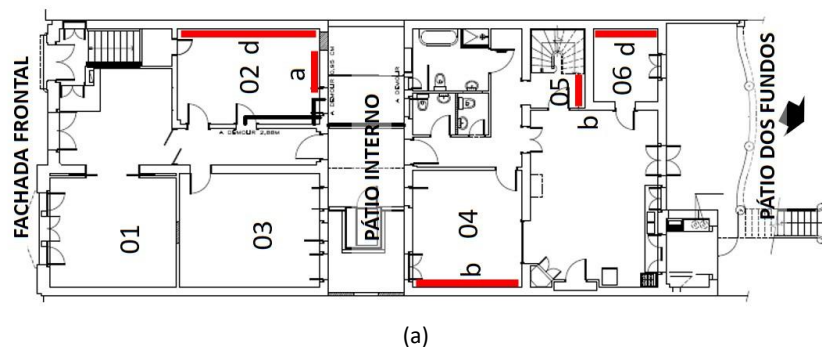
Para a análise e caracterização dos materiais, foram extraídas pequenas amostras da argamassa de revestimento. No interior da edificação foram extraídas amostras a partir de 6 pontos dos cinco ambientes selecionados. Das fachadas e pátio interno não foi possível a obtenção de amostras para a caracterização físico-química, visto a integridade dos materiais de revestimento, com risco de descaracterização dos elementos.

Com base na avaliação prévia dos ambientes, foram selecionados os locais para a coleta, considerando os seguintes critérios:

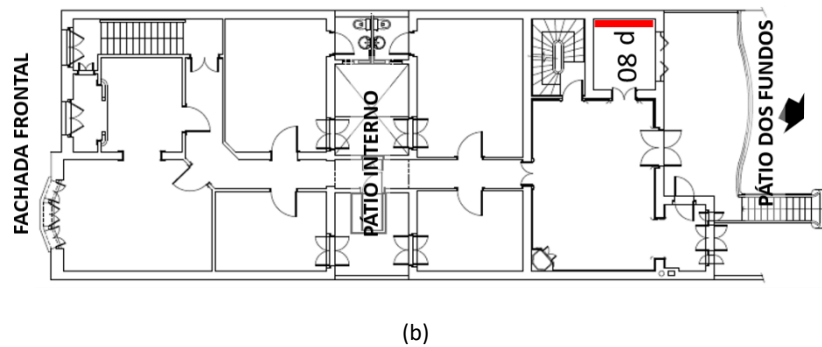
- a) ser revestimento de argamassa original;
- b) apresentar indícios de crescimento biológico (para posterior caracterização);
- c) ter permissão dos órgãos de preservação patrimonial para extração de quantidade mínima de amostras¹⁷.

A Figura 23 destaca as superfícies selecionadas nos ambientes interiores para obtenção das amostras, tanto para análise biológica (raspagem superficial) quanto para caracterização de materiais (extração de fragmentos de argamassa).

Figura 23 – Locais de coleta a) interior do pavimento térreo b) interior do pavimento superior

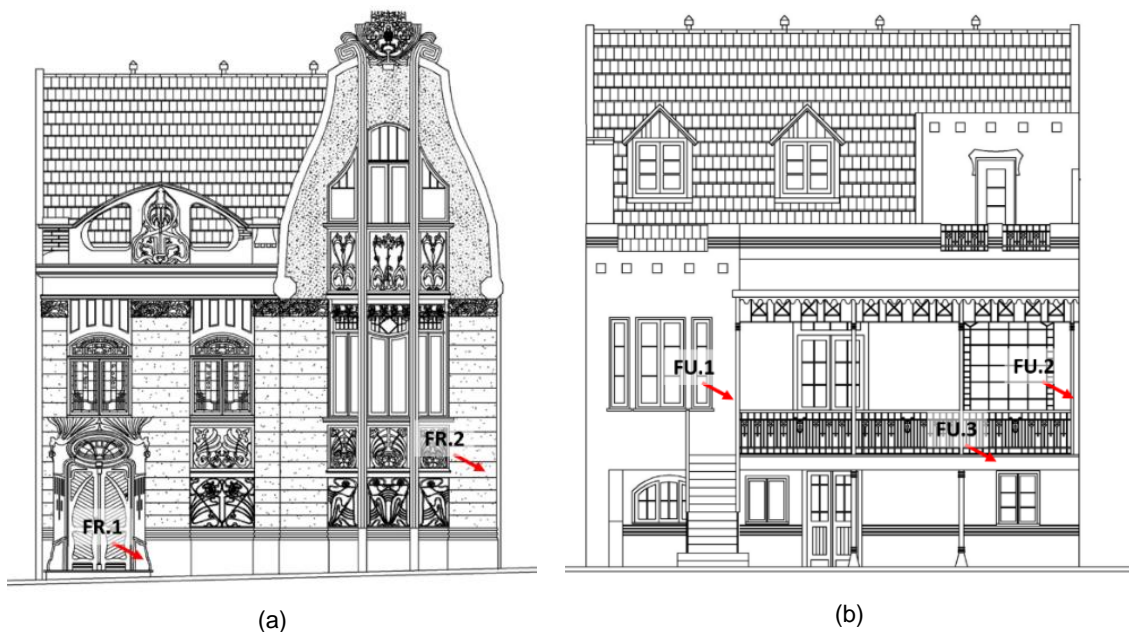


¹⁷ A coleta de amostras foi acompanhada por funcionários da Secretaria da Cultura de Porto Alegre, incluindo o engenheiro civil responsável pela conservação da edificação, retomando que se trata de um bem sob preservação patrimonial.



A Figura 24 mostra os pontos selecionados para coleta nas fachadas frontal e fundos. Sendo esta coleta restrita à raspagem superficial para caracterização biológica.

Figura 24 – Locais de coleta nas fachadas: a) Fachada principal; b) Fachada fundos



A Tabela 2 mostra a denominação das amostras extraídas em cada um dos ambientes, bem como os ensaios realizados. As extrações para análise dos materiais foram feitas em nível superficial (máximo 2cm de profundidade).

As amostras obtidas foram nomeadas de acordo com a numeração dos ambientes e localização nas superfícies (indicadas com letras). De cada ponto de coleta, o material foi dividido de forma a ser realizado o máximo de ensaios possíveis para cada ponto a ser caracterizado. A letra inicial maiúscula corresponde ao ensaio realizado, a numeração corresponde ao ambiente e a letra minúscula à orientação da superfície de extração, conforme planta baixa da Figura 23 (a) e (b). Por exemplo, na amostra U_02d.1, a letra “U” corresponde ao ensaio “Umidade natural e higroscópica”; “02”

corresponde ao ambiente 02 da edificação; “d” à superfície do ambiente e “1” à repetição da mesma amostra.

Tabela 2 – Nomeação das amostras para cada ambiente e ensaios a serem realizados (pavimentos térreo e superior)

NOMEAÇÃO DAS AMOSTRAS					
AMBIENTES INTERIORES	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS		ANÁLISES BIOLÓGICAS		
	Umidade natural e higroscópica (U)	Proporcionamento ligante/agregado; DRX; TG (M)	Prospecção biológica (P)	Microcultivo (MI)	ALTURA (m)
	NOVEMBRO 2015	JANEIRO 2017	ABRIL/MAIO 2017	ABRIL/NOVEMBRO 2017	
02	U_02d.1; U_02a.1	M_02d.1; M_02d.2	P_02a	MI_02a	0,30
04	U_04b.1	M_04b.1; M_04b.2	P_04b	MI_04b	0,30
05	U_05b.1 U_05b.2	M_05b.1; M_05b.2	P_05b	MI_05b	1,80
06	U_06d.1	M_06d.1; M_06d.2	P_06d.A	MI_06d.1	0,30
			P_06d.B	MI_06d.2	1,50
08	U_08d.1	M_08d.1; M_08d.2	P_08dA	MI_08d.1	1,20
			P_08dB	MI_08d.2	0,30
FACHADAS	Umidade natural e Higroscópica	Proporcionamento ligante/agregado; DRX; FRX; TG	Prospecção biológica	Microcultivo	ALTURA
DATA EXTRAÇÃO	-----	-----	ABRIL/MAIO 2017	ABRIL/NOVEMBRO 2017	
FRONTAL	-----	-----	P_FR.1	MI_FR.1	0,35
			P_FR.2	MI_FR.2	1,40
FUNDOS	-----	-----	P_FU.1	MI_FU.1	1,50
			P_FU.2	MI_FU.2	1,90
			P_FU.3	MI_FU.3	2,20
PÁTIO INTERNO	Umidade natural e Higroscópica	Proporcionamento ligante/agregado; DRX; FRX; TG	Prospecção biológica	Microcultivo	ALTURA
DATA EXTRAÇÃO	-----	-----	ABRIL/MAIO 2017	ABRIL/MAIO 2017	
SUL	-----	-----	P_P1	MI_P1	0,15

A seguir é feita uma descrição das condições de conservação dos ambientes interiores e fachadas em análise neste trabalho.

a) AMBIENTE 02 (Figura 25)

Neste ambiente verificou-se a ocorrência de descolamentos com desagregação do reboco na parte inferior da parede divisa com edificação vizinha (2d), além de

manchas resultantes de crescimento biológico na parede divisa com o pátio interno (2a). O piso é de tacos de madeira e mostrou-se bastante úmido e danificado.

O revestimento na superfície da parede 2d apresentava maior descolamento, o que permitiu a retirada de maior quantidade de amostra para caracterização do material quanto à sua constituição e análises de umidade. No entanto, o crescimento biológico era mais evidente na superfície da parede 2a. Desta forma, neste ambiente foi realizada a caracterização dos materiais em dois pontos e a raspagem para a análise biológica apenas na superfície do ponto 2a.

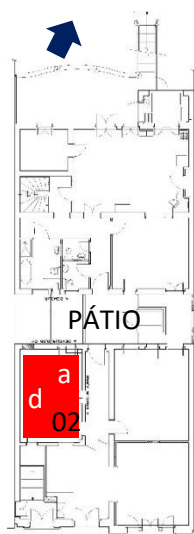


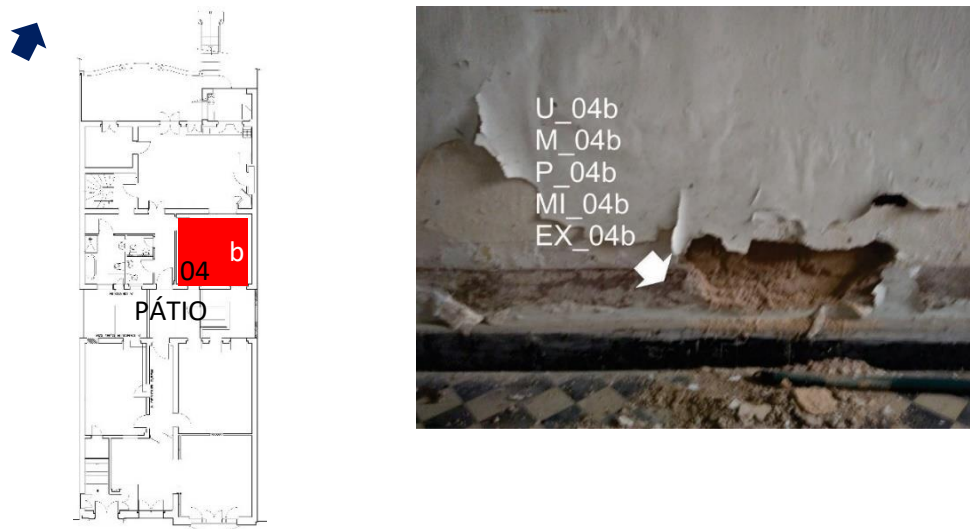
Figura 25 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 02



b) AMBIENTE 04 (Figura 26)

Neste ambiente há indícios de umidade nas paredes que estão voltadas ao pátio interno e divisa com a edificação vizinha, principalmente em altura próxima ao piso. A argamassa de revestimento está bastante desagregada com pulverulência na superfície da parede 4b, local selecionado para coleta. Percebeu-se o abaulamento de grande parte do revestimento. O som cavo, resultante de leve batida superficial, evidenciou uma grande área sem contato entre o revestimento e substrato de alvenaria. Visualmente, apenas pelo aspecto da coloração, não evidencia crescimento biológico muito intenso, no entanto, devido a presença de umidade e intensa desagregação, optou-se pela realização de análise biológica também neste local. O piso deste ambiente é de ladrilho hidráulico e mostrou-se em bom estado de conservação, apesar da sujeira superficial.

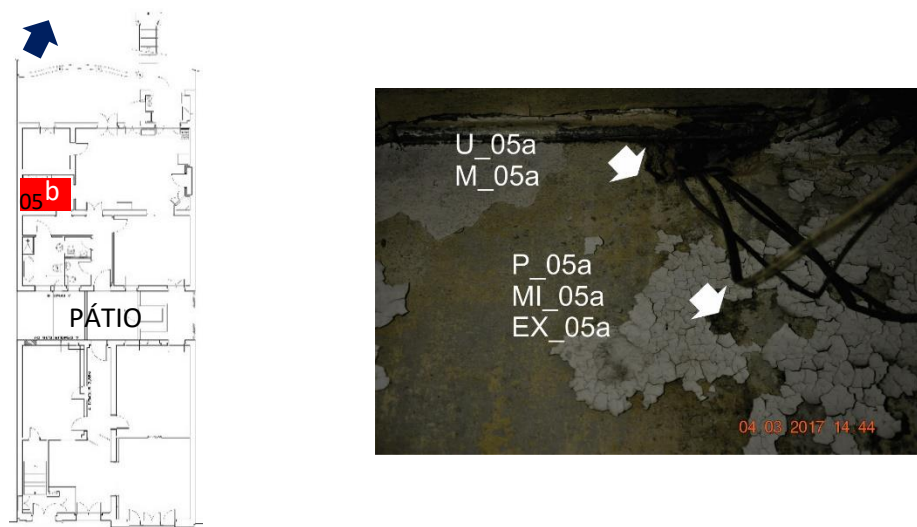
Figura 26 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 04



c) AMBIENTE 05 (Figura 27)

Neste ambiente localiza-se a segunda escada de acesso ao pavimento superior e também ao sótão (a primeira e principal escada localiza-se no hall da entrada da casa e só permite acesso até o segundo pavimento). No ambiente 05, principalmente no nível do primeiro pavimento, logo abaixo à escada, há alteração superficial do revestimento com ocorrência de manchas escuras, descolamento do revestimento e indícios de umidade, provavelmente de condensação, por não ser verificada outra possível fonte de umidade.

Figura 27 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 05



d) AMBIENTE 06 (Figura 28)

O ambiente 06, é um dos que apresenta maior gravidade quanto à ocorrência de umidade com manchas resultantes de crescimento biológico, desagregação e descolamento de grande extensão do revestimento da parede. A face mais intensamente deteriorada corresponde ao plano que faz divisa com a edificação vizinha.

Figura 28 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 06



Em uma visita realizada durante um período de fortes chuvas, verificou-se que a infiltração que ocorre através da laje no pavimento diretamente superior a estes (Ambiente 08) é tão intensa que atravessa o piso, gotejando neste ambiente. Desta forma, ocorre a intensificação dos danos resultantes da umidade excedente. Para este ambiente foi feita a caracterização da argamassa de revestimento na superfície 06d.

Para análise biológica foi realizada a raspagem em dois pontos da superfície, devido aos diferentes aspectos morfológicos de crescimento. No ponto 06d.1, a mancha verificada era de coloração marrom escura dispersa pela superfície e partes desagregadas da argamassa. No ponto 06d.2 (canto da parede) notou-se o crescimento muito intenso de colônias de fungos de coloração branca e verde claro com aspecto algodinoso.

e) AMBIENTE 08 (Figura 29)

O ambiente 08 está localizado no pavimento superior logo acima do ambiente 06. Está voltado ao pátio dos fundos e possui uma varanda coberta e fechada com esquadrias e vidro. Durante a manhã verifica-se a incidência de luz solar. Este ambiente é um dos que apresenta maior deterioração. Há intensa presença de umidade desde o nível do piso até próximo à altura da laje, com ocorrência de manchas e descolamento do revestimento com desagregação do reboco na parede que faz divisa com a edificação vizinha. O descolamento foi tão intenso que é possível visualizar parte da alvenaria de tijolos.

As imagens da Figura 29 mostram a evolução de intensa mancha de coloração verde resultante de crescimento biológico. As duas imagens são do mesmo local, sendo obtidas com intervalo de tempo de um ano entre elas. A última imagem foi obtida em fevereiro de 2017. Próximo ao piso (altura aproximada de 0,30m), verificou-se o manchamento com coloração muito semelhante ao verificado na laje. Desta forma, por maior facilidade de acesso e devido a possibilidade de desabamento da camada de reboco bastante deteriorado, a coleta de amostra foi realizada neste local (próximo ao piso).

Figura 29 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície do Ambiente 08



f) FACHADA FRONTAL

A fachada principal (frontal), de orientação sul, apresenta bastante sujidade superficial com crescimento biológico, além da ocorrência de pichações. Quanto à sua composição formal, demonstra-se bem preservada, sem indícios de alterações ocorridas ao longo do tempo.

A coleta para análise biológica foi realizada em dois pontos. O primeiro (FR1), em região próximo, ao piso e da porta de acesso à edificação. Neste ponto verificou-se a ocorrência de mancha em cor bastante escura. Na extremidade lateral direita da fachada, segundo ponto de coleta (FR2), verificou-se a interrupção do duto condutor de água da chuva proveniente das calhas, o que resultou no acúmulo de umidade e consequente agravamento de crescimento biológico no revestimento argamassado. Esta umidade, inclusive, pode ser verificada na face interior deste ambiente, em altura compatível com a infiltração verificada externamente.

g) FACHADA FUNDOS

A fachada de fundos possui orientação norte e grande parte de sua extensão é sombreada pela presença de vegetação. Verificou-se a ocorrência de crescimento biológico de diferentes colorações. Foram obtidas amostras para caracterização biológica de três diferentes pontos, distintos pelo aspecto morfológico.

h) PÁTIO INTERNO (Figura 30)

O pátio interno interliga os dois blocos da edificação. É pavimentado com piso cerâmico e no momento da pesquisa, estava recoberto por biofilme, evidenciando o acúmulo de umidade, principalmente na ocorrência de chuva.

Os telhados dos dois blocos da edificação possuem caimento voltado a este pátio. Observou-se a presença de dutos verticais de condução de água das calhas, no entanto, era visível a ausência de limpeza e manutenção. Prováveis falhas e entupimento dos canos de condução à coleta pluvial resultaram no encharcamento do piso nesta área que, por fim, infiltrava nos ambientes adjacentes. As paredes exteriores próximas ao piso apresentaram manchas escuras resultantes de crescimento biológico.

Figura 30 – Manifestação patológica observada e identificada na superfície no Pátio interno



3.1.3.1 Caracterização do ponto de vista do teor de umidade

Esta análise teve por objetivo a verificação preliminar das condições das argamassas de revestimento quanto ao teor de umidade natural no momento da coleta para análise do material. Esta análise permitiu delinear locais onde provavelmente a umidade tivesse origem em pontos de infiltração, com maior retenção de água, ou pela absorção da umidade presente no ar. Posteriormente, verificou-se a higroscopicidade, em condições estáveis de UR e temperatura, permitindo avaliar locais onde o material tivesse maior ou menor predisposição à absorção de umidade. Foram extraídas sete amostras de um total de cinco ambientes interiores (Tabela 3).

Tabela 3 – Denominação das amostras para análise de teor de umidade e porosidade

AMBIENTES	AMOSTRAS	MASSA MATERIAL (g)
02	U_02d.1	23,18
	U_02a.1	30,33
04	U_4b.1	60,04
05	U_05b.1	181,43
	U_05b.2	143,64
06	U_06d.1	86,66
08	U_08d.1	94,41

As coletas foram realizadas em novembro de 2015. Os valores climáticos médios para o mês de novembro podem ser visualizados na Tabela 4, segundo dados obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)¹⁸,

Tabela 4 – Dados climáticos para o mês de novembro de 2015 na cidade de Porto Alegre – RS

	Precipitação total mensal (mm)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	UR (%)
Porto Alegre Novembro/2015	123,7	25,7	17,52	76,63

Foi feita uma medição geral da umidade no interior da edificação durante a coleta, com auxílio de termohigrômetro, verificando-se um valor médio de 84% de UR neste dia. Neste momento da pesquisa ainda não havia sido iniciado o monitoramento periódico do microclima interior.

As amostras de material (argamassa de revestimento), logo depois de extraídas, foram rapidamente dispostas em embalagens plásticas, fechadas com zíper e enroladas em papel alumínio de forma a evitar ao máximo as trocas de umidade com o ambiente circundante até que fossem conduzidas ao laboratório. As amostras foram imediatamente pesadas em balança de precisão (0,01g). As embalagens foram previamente pesadas, obtendo-se a massa apenas das amostras, para posterior cálculo do teor de umidade natural no momento da coleta.

O material foi seco em estufa (60°C) até constância de massa, sempre condicionadas em dessecador a vácuo até o resfriamento das mesmas. Desta forma foi possível calcular o teor de umidade natural das amostras considerando o momento da coleta. Este método, denominado gravimétrico, é descrito em Bertolini (2010) e pode ser calculado utilizando a relação disposta na (Equação 2). Determinou-se, assim, o teor de umidade com relação à massa da amostra seca.

$$U_{\text{natural}} = (M_{\text{úmida}} - M_{\text{seca}})/M_{\text{seca}} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

U_{natural} = teor de umidade natural

M = massa

¹⁸ Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo2/previsaoPorTipo&type=capitais>, acesso em: 15/11/2018

A Figura 31 mostra a disposição de algumas das amostras nos recipientes de alumínio antes de serem dispostas para secagem em estufa.

Figura 31 – Amostras dispostas em recipiente para determinação do teor de umidade



3.1.3.2 Caracterização da higroscopicidade

A análise seguinte consistiu na utilização das mesmas amostras do ensaio de teor de umidade natural para realização de ensaio de verificação da umidade higroscópica. Este método é descrito por Lombardi (2005).

A higroscopicidade do material é definida a partir da massa da amostra em equilíbrio termodinâmico com o ambiente. O conteúdo de água de equilíbrio, definido como fisiológico, representa a quantidade de água que um determinado material de construção contém pelo simples fato de colocar-se em equilíbrio com o ambiente no qual está presente à certa pressão parcial de vapor de água.

Para obter-se em laboratório a medida da umidade fisiológica ou de equilíbrio é preciso que a amostra de material a ser analisada seja colocada em equilíbrio termo-higrométrico com o ambiente em que será disposta. As condições de temperatura e umidade definidas devem considerar o microclima do ambiente do qual foi extraída a amostra. O ambiente controlado se obtém utilizando uma solução salina saturada e pesando-se a cada 24 horas.

A massa fisiológica é considerada quando a variação da massa da amostra, após 48h, resulta em um valor menor de 0,1%.

Neste trabalho, com base em dados obtidos previamente quanto ao monitoramento microclimático, os ambientes apresentaram várias ocorrências de UR acima de 80%.

Desta forma, utilizou-se a concentração de 50g/l de NaCl, atingindo uma UR em torno de 90% e temperatura em torno de 25°C. No interior do dessecador foi disposto um termohigrômetro para verificação da constância dos valores de temperatura e UR.

As amostras secas foram cuidadosamente distribuídas no interior do dessecador de 30cm de diâmetro. Foram realizadas pesagens a partir de 2 horas de exposição, 24 horas, 48 horas, 4 dias, 8 dias, 12 dias, 37 dias, 45 dias, 53 dias, 60 dias, até 82 dias, quando a variação máxima observada foi de 3%. Para determinação da umidade higroscópica é utilizada a (Equação 3).

$$U_{\text{higroscópica}} = (M_{\text{úmida}} - M_{\text{seca}}) \times 100 / M_{\text{seca}} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

$U_{\text{higroscópica}}$ = umidade higroscópica

M = massa

Esta análise permitiu uma verificação geral das condições de higroscopicidade das amostras dos revestimentos.

3.1.3.3 Proporcionamento ligante agregado e distribuição granulométrica

Para a realização do ensaio de proporcionamento ligante/agregado foi utilizada a metodologia descrita por Teutonico (1988), adotada no *International Centre for the Study of the Preservation and Restoration of Cultural Property* (ICCROM) e adotada no Núcleo de Tecnologia da Preservação e da Restauração (NTPR/UFBA). A Tabela 5 mostra a relação das amostras utilizadas e sua quantificação.

Tabela 5 – Quantidade de material coletado para realização do ensaio de proporcionamento ligante/agregado

AMBIENTES	AMOSTRAS	PESO MATERIAL (g)
02	M_02d.1	39,77
	M_02d.2	45,33
04	M_04b.1	31,46
	M_04b.2	26,89
05	M_05b.1	32,02
	M_05b.2	30,61
06	M_06d.1	29,48
	M_06d.2	33,96
08	M_07d.1	28,89
	M_07d.2	27,73

As amostras, em duplicata, foram desagregadas em almofariz cerâmico com o auxílio de um martelo de borracha. Tomou-se cuidado para não quebrar os grãos dos agregados. Pesou-se entre 25-35g de material que foi disposto em estufa à 60°C por 24h até constância de massa. Em seguida as amostras foram dispostas em dessecador a vácuo para resfriamento e novamente pesadas. As amostras desagregadas foram dispostas em béqueres de 100mL (previamente pesados) e umedecidas com água deionizada. Adicionou-se uma solução na proporção 1:4 de ácido clorídrico 37%P.A. (HCl:água deionizada). Observou-se a total dissolução do ligante pelo ácido até o ponto onde não houvesse qualquer sinal de efervescência. As amostras foram, então, sucessivamente lavadas e filtradas com água deionizada. Utilizou-se um papel filtro qualitativo 80 gramas, previamente pesado, ficando neste retidos os particulados finos, não reagentes com o ácido. No fundo dos béqueres ficaram retidos apenas os grãos de agregado.

Os béqueres contendo os agregados e os envelopes de papel filtro contendo os finos foram colocados em estufa a 60°C até secagem e estabilização de massas. O material foi resfriado em dessecador. Conhecendo a massa inicial da amostra seca desagregada, a massa dos agregados e dos finos retidos, foi possível determinar o proporcionamento entre ligante, finos e agregado. Na determinação final do traço, o percentual de finos é somado à massa calculada de ligante.

A parcela restante de agregados foi armazenada e posteriormente foi realizado o ensaio de distribuição granulométrica. Este foi feito com base na Associação Brasileira de Normas Técnicas NM 248 (ABNT, 2003) empregando, a série de peneiras normal. Para a quantificação das porções retidas nas peneiras, devido à pequena quantidade das amostras, pesou-se o conjunto amostra/peneira, sendo determinada previamente a massa de cada peneira.

3.1.3.4 Difração de raios X (DRX), Fluorescência de raios X (FRX) e Análise Termogravimétrica (TG)

As análises microestruturais permitiram a identificação da composição química dos materiais, bem como a caracterização mais aproximada possível de sua constituição.

Da mesma amostragem extraída para o ensaio de proporcionamento ligante/agregado foi armazenada quantidade suficiente para realização dos ensaios microestruturais descritos a seguir.

Para análise mineralógica por DRX, FRX e TG, as amostras foram desagregadas, finamente moídas e passadas em peneira de malha 53 μ m, sendo logo após enviadas integralmente para identificação da natureza de seus constituintes. As análises de DRX foram feitas em difratômetro de raios X, Phillips, modelo X'Pert MDP (tubo de Raios X com radiação Cu K α), com intervalo de ângulo padrão (5-75° 2theta), tamanho do passo 0,05° e tempo de 1 segundo, fenda (slits) 1/2°, janela (window) 20mm.

A TG foi feita com equipamento SDT Q600 V20.9 Build 20, com avaliação da perda de massa entre 0°C e 1000°C.

Utilizou-se o equipamento Shimadzu XRF1800 para as análises de FRX.

3.1.4 Procedimentos de coleta e caracterização dos agentes biológicos

Esta etapa do trabalho teve por objetivo, identificar e isolar os fungos filamentosos presentes nos revestimentos em argamassa da edificação histórica em análise. Buscou-se verificar os fungos mais frequentes, considerando os substratos analisados, bem como as condições de exposição à umidade e suas diferentes fontes (elevada umidade relativa do ar ou umidade de infiltração).

A caracterização biológica consistiu na prospecção inicial com fita adesiva para visualização em lupa estereoscópica (Zeiss Stemi 508 doc Stereo microscope), raspagem superficial nos locais de visível crescimento biológico, aplicação do método de diluição seriada para quantificação das unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), a partir de 1 grama de amostra e, por fim, isolamento das diferentes colônias e aplicação do método clássico de identificação morfológica através do microcultivo. De modo complementar, foi realizada a extração de DNA, a partir dos isolados fúngicos selecionados, viabilizando a identificação de espécies microbiológicas através do sequenciamento genético.

3.1.4.1 Prospecção, coleta, estimativa e isolamento dos fungos através do método da Diluição em placas

A prospecção consistiu na disposição de fita adesiva Scotch 750 (12mmx40m) na superfície a ser analisada, em local próximo à realização da raspagem. Em seguida, a fita com o material retido foi fixada em uma lâmina de vidro estéril para visualização em lupa estereoscópica.

Para extração das amostras, com o objetivo de estimar os fungos presentes no material coletado, foram feitas raspagens superficiais com bisturi estéril (LI *et al.*, 2016), cabo nº3, lâmina nº10, em quantidade maior ou igual a 1g. Foram selecionados um total de cinco ambientes interiores, além das fachadas frontal, fundos e pátio interno, para coleta biológica, resultando em treze amostras. Foi utilizada uma lâmina de bisturi para cada ponto de coleta, de forma a evitar a contaminação entre os diferentes pontos.

As amostras foram acondicionadas em recipientes igualmente estéreis (tubos Falcon 50mL) e transportadas ao laboratório em caixa de isopor contendo gelo. Foram registrados os parâmetros ambientais no momento da coleta, bem como realizado registro fotográfico. Os procedimentos de análise no laboratório foram iniciados no dia seguinte à coleta.

A primeira etapa do procedimento experimental consistiu na homogeneização de cada uma das amostras obtidas, através de leve agitação manual dos recipientes. Utilizou-se uma balança de precisão para a pesagem de 1g de cada uma das amostras que foi posteriormente adicionada à 10mL de solução tween80¹⁹ em água destilada estéril a 0,001%. Foram tomados todos os devidos cuidados com relação ao manuseio das amostras, evitando contaminação. O material restante foi reservado para posterior obtenção de imagens em lupa estereoscópica.

O material foi agitado por 1 hora em misturador Lab Companion SI-300, à temperatura de 25°C, com velocidade de 150 RPM.

¹⁹ Agente tensoativo não-iônico, emulsionante, estabilizante, solubilizante e umectante. Disponível em: <<http://www.sabaoeglicerina.com.br/tween-80-polisorbato-80-100ml-p880>>. Acesso em: 22 julho 2016.

Para a contagem e isolamento dos fungos foi adotada a técnica da diluição em placas, também conhecido como método das diluições seriadas, descrito em Vermelho *et al.* (2006).

A partir da amostra homogeneizada na solução Tween foram realizadas diluições sucessivas, onde 100µL de cada diluição foi adicionado a 900 µL de solução salina (NaCl) em *ependorfs* estéreis.

Iniciou-se pela diluição 10^{-1} sucessivamente até 10^{-3} . Foram pipetados 50 µL de cada diluição em triplicatas de placas de Petri com meio nutricional sólido *Sabouraud* com adição de 0,05g/L de antibiótico cloranfenicol para inibição do crescimento de bactérias. A diluição foi dispersa nas placas com auxílio de *beads*²⁰, cerca de 10 *beads* por placa, com movimentos perpendiculares até secagem total. As placas foram devidamente nomeadas e condicionadas em estufa à 25°C.

Como critério para contagem do número de colônias adotou-se um mínimo de 20-30 e um máximo de 200-300 colônias, conforme Vermelho *et al.* (2006). Para determinação do número de colônias por mL é feita a correção multiplicando-se o valor médio contado nas triplicatas pela diluição considerada e dividindo-se pelo volume inoculado na placa.

A primeira contagem de colônias foi realizada no quarto dia após incubação, onde se verificou o início do crescimento em quase todas as placas já na primeira diluição. No sexto dia foi possível verificar uma contagem dentro dos limites aceitáveis para quatro do total das doze amostras, sendo estas as amostras obtidas da fachada dos fundos (FU1 e FU3), ambiente 05 e um dos pontos de coleta do ambiente 08. Optou-se, portanto, pela repetição do experimento nos demais pontos de coleta, visto que até o sétimo dia não foi verificado o crescimento de colônias dentro do intervalo considerado válido. Desta vez, iniciou-se o plaqueamento das amostras a partir da concentração máxima, portanto sem diluição, seguida pela diluição de $1/2 \times 10^{-1}$ e de 10^{-1} . Nesta repetição foi possível a contagem em todas as amostras a partir do material plaqueado na concentração sem diluição. Houve crescimento nas demais diluições, contudo com quantidades fora do intervalo previamente estabelecido.

²⁰ Esferas de sílica de aproximadamente 4mm de diâmetro.

A repetição do experimento considerou a mesma idade de crescimento das colônias feitas na primeira coleta (seis dias), bem como as demais condições de ensaio.

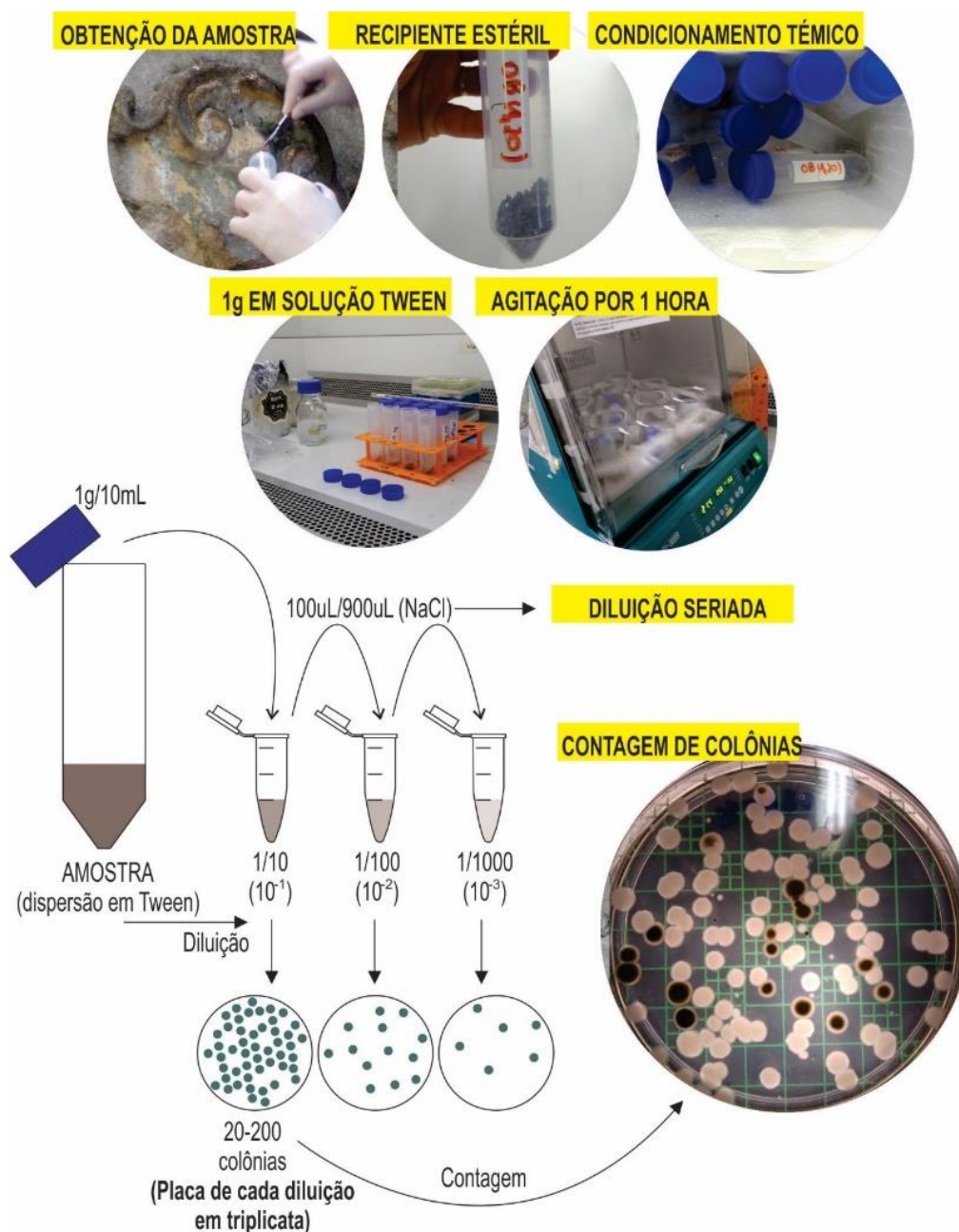
A partir do crescimento das colônias verificados no sexto dia após inoculação, foi feito o isolamento das diferentes colônias, contabilizando a frequência em cada uma das placas, conforme diferenciação morfológica.

A Tabela 6 mostra a relação de amostras extraídas a partir dos pontos exteriores, correspondendo às fachadas e pátio interior, bem como ambientes interiores, com as correspondentes diluições realizadas e datas das coletas. Desta forma, foram consideradas quatro amostras extraídas no dia 24 de abril e as demais nove amostras extraídas no dia 18 de maio. A Figura 32 mostra esquematicamente a sequência adotada no desenvolvimento do método de diluição seriada, considerando as amostras com diluição a partir de 10^{-1} . Para as demais amostras, o procedimento adotado foi semelhante, diferenciando-se apenas por iniciar o plaqueamento da dispersão de esporos a partir da concentração máxima (diluição Zero).

Tabela 6 – Diluições adotadas por ponto de coleta e data de realização

		DILUIÇÕES	COLETA	DATA
EXTERIOR	FU1	10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3}	1	24/04/2017
	FU2	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	FU3	10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3}	1	24/04/2017
	P1	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	FR1	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	FR2	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
INTERIOR	02a	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	04b	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	05b	10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3}	1	24/04/2017
	06d.1	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	06d.2	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017
	08d.1	10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3}	1	24/04/2017
	08d.2	ZERO; $1/2 \times 10^{-1}$; 10^{-1}	2	18/05/2017

Figura 32 – Disposição esquemática dos procedimentos adotados desde à coleta ao microcultivo para as amostras FU1, FU3, 05b e 08d.1



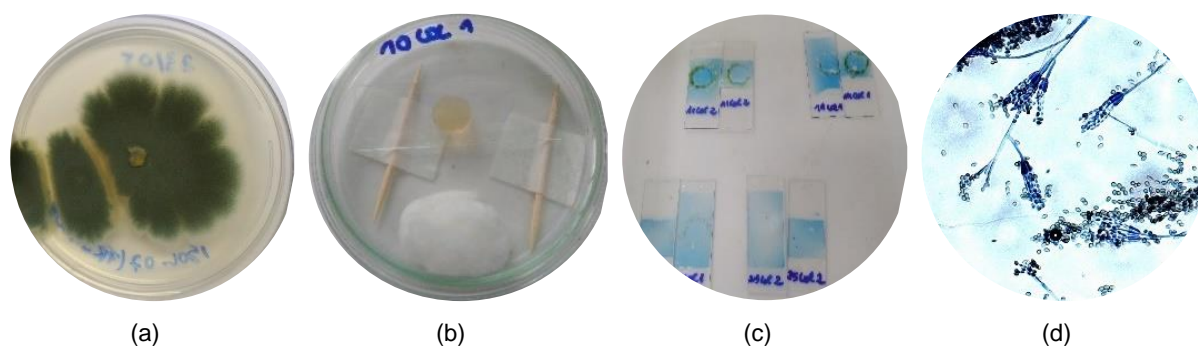
Embora o experimento tenha sido realizado em diferentes etapas para o total de amostras, ainda assim foi considerado válido, visto que o objetivo principal desta etapa foi o de identificar os fungos mais frequentes nos ambientes previamente selecionados, para a obtenção de isolados fúngicos a serem utilizados na segunda fase deste trabalho, onde foi avaliada a eficiência do fotocatalisador TiO_2 .

3.1.4.2 Identificação por microcultivo

A partir das placas de crescimento de isolados fúngicos puros, foi realizado o microcultivo para identificação morfológica, em nível de gênero, com auxílio de microscópio óptico Zeiss AxioScope A1. Do total de aproximadamente 60 fungos isolados, foram selecionados 13 para identificação por este método, considerando os fungos que ocorreram com maior frequência nos ambientes analisados, a partir da morfologia de crescimento verificada nas placas. Para crescimento das colônias, utilizou-se o meio nutricional Ágar Sabouraud e para coloração das estruturas, permitindo a visualização em microscopia, utilizou-se o corante Lactofenol (azul de algodão).

Após inoculação na placa de microcultivo, foi feito o monitoramento diário do crescimento das estruturas, considerando as diferentes idades de esporulação. A Figura 33 exemplifica as etapas desenvolvidas para este método.

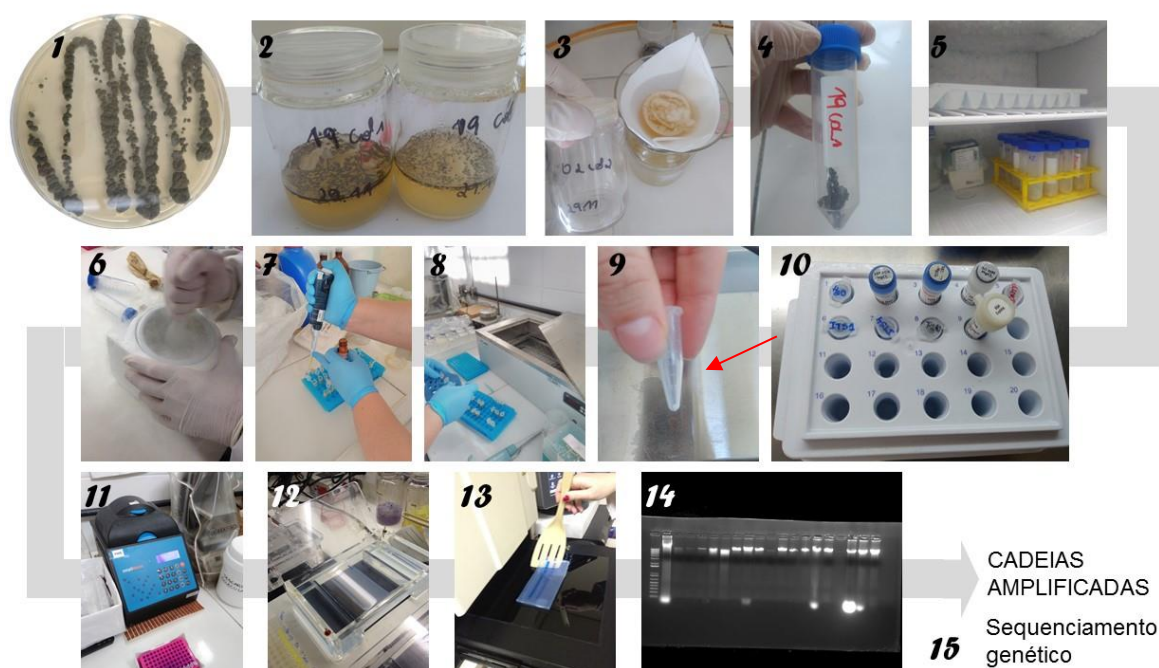
Figura 33 – Etapas desenvolvidas na análise por microcultivo: a) placa com um dos isolados analisados; b) aparato autoclavado para crescimento, com lâmina, lamínula, meio nutricional ágar Sabouraud e algodão embebido em água destilada estéril; c) lâminas finalizadas e colorizadas com corante azul de algodão; d) imagem obtida em microscopia do gênero *Penicillium* a partir do microcultivo



3.1.4.3 Extração de DNA (PCR)

O fluxograma da Figura 34 mostra esquematicamente as etapas desenvolvidas nesta fase de extração de DNA e sequenciamento genético para identificação dos fungos filamentosos isolados das amostras da edificação histórica. O procedimento descrito foi realizado em Laboratório de análises Microbiológicas, sob supervisão de profissional especializado na área do conhecimento.

Figura 34 – Etapas desenvolvidas para extração do DNA



- | | |
|---|--|
| 1. Fungo isolado em meio ágar Sabouraud; | 11. Reações de amplificação de PCR; |
| 2. Renovação do crescimento do isolado fúngico em meio nutricional líquido (Caldo Sabouraud); | 12. Eletroforese em gel de agarose para formação das bandas fenotípicas; |
| 3. Filtragem do micélio em papel filtro; | 13. Verificação da formação das bandas em equipamento transluminador; |
| 4. Secagem do micélio para congelamento; | 14. Conferência das bandas de amostras válidas para envio ao sequenciador genético; |
| 5. Congelamento do micélio em freezer; | 15. Tratamento dos dados no visualizador e editor de cromatogramas, de acesso livre, <i>Chromas</i> , sequenciamento genético e verificação em banco de dados para identificação das espécies de isolado fúngicos. |
| 6. Maceração do micélio com nitrogênio líquido em almofariz cerâmico; | |
| 7. Soluções para extração do DNA; | |
| 8. Etapa em banho maria e centrifugação; | |
| 9. Formação de pellet (DNA extraído); | |
| 10. Mix de soluções e primers para PCR; | |

Para a etapa de extração de DNA e identificação das espécies de fungos, restringiu-se a um total de 10 isolados fúngicos. Para identificação molecular destes isolados, utilizou-se o método de sequenciamento Sanger, procedimento tradicional de sequenciamento genético, desenvolvido por Frederick Sanger e colaboradores na década de 70. Algumas amostras tiveram amplificação da região ITS (Internal Transcribed Spacer), com separação dos genes 18S e 28S do rDNA fúngico, com utilização dos primers ITS-1 (TCCGTAGGTGAACCTCGCG) e ITS-4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) gerando um produto de até 550pb²¹. Para as demais amostras, amplificou-se a região D1/D2, através dos primers NL-1

²¹ pb: número de pares de bases, que consiste em dois nucleotídeos opostos e complementares nas cadeias de DNA e RNA. Ex: Adenina/Timina (AT); Citosina/Guanina (CG)

(GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG) e NL4 (GGTCCGTGTTTCAAGACGG), separação dos genes 26S e 28S. Os produtos de PCR foram purificados com utilização do Kit PureLink™ PCR Purification da Invitrogen. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando BigDye® Terminator V3.1 Cycle Sequencing Reaction kit (Applied BioSystems, Foster City, USA), conforme fabricante. Por fim, os fragmentos foram processados e analisados através do sequenciador automático ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied BioSystems, Foster City, CA). As sequências resultantes foram comparadas em banco de dados GenBank (ferramenta online disponível em <http://blast.be-md.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Na Tabela 7 são mostradas as soluções e volumes utilizados para as reações de PCR em cada uma das amostras a serem sequenciadas, completando um volume total de 50µL por amostra.

Tabela 7 – Soluções para Mix de PCR

PCR MIX	Volume (µL)
Água MiliQ	37,4
1610x PCR Buffer	5,0
MgCl ₂	3,0
DNTPs	1,8
Primer foward	0,7
Primer reverse	0,7
Taq polimerase	0,4
DNA (10ng/uL)	1,0

3.2 RESULTADOS DA FASE 1

Nos itens a seguir são descritos os resultados obtidos nas análises desenvolvidas na Fase 1 deste trabalho, importantes para embasamento das etapas desenvolvidas na Fase 2.

3.2.1 Análise ambiental

O monitoramento realizado no período de um ano permitiu verificar as condições microclimáticas no interior da edificação, com relação aos valores de UR e temperatura.

As leituras obtidas para os quatro blocos da edificação, de um modo geral, apresentaram registros aproximados. Considerando que a edificação permaneceu

sem ocupação durante todo o período de coleta de dados, ou seja, sem qualquer fonte de produção de calor ou umidade interna, este resultado era esperado.

A Tabela 8 mostra a distribuição dos sensores na edificação.

Tabela 8 – Distribuição dos sensores de medição de UR e temperatura na edificação

SENSOR	LOCALIZAÇÃO	PAVIMENTO
1	Bloco frontal	Térreo
2	Bloco fundos	Térreo
3	Bloco frontal	Superior
4	Bloco fundos	Superior

Conforme Ramos (2007), a temperatura do ar exterior e a radiação solar condicionam a temperatura interior, especialmente nos casos em que não haja fontes de aquecimento interno. A umidade absoluta do ar exterior, devido às trocas de ar por ventilação, determina em grande parte o valor da umidade absoluta interior. Desta forma, a edificação como um todo permaneceu condicionada às variações climáticas exteriores.

Além das condições ambientais serem as mesmas, por tratar-se de uma única edificação, embora dividida pelo pátio interior, todas as paredes exteriores, tanto do bloco da parte frontal quanto o de fundos, possuem a mesma espessura, medindo cerca de 50 cm, constituídas dos mesmos sistema construtivo. Desta forma, as trocas de calor, que também interferem nas condições de umidade relativa do ar, tendem a ser de fato semelhantes. De acordo com as leituras horárias, mostradas na Figura 35, com relação à UR, é possível verificar que ocorreram momentos de grande oscilação ao longo do ano, com valores mínimos próximos aos 35% e máximos acima de 99%. Contudo, em grande parte do período analisado, a UR esteve acima dos 60% para os quatro sensores.

A Figura 36 mostra os gráficos obtidos a partir das leituras horárias com relação à temperatura no interior da edificação. Conforme mencionado, por permanecer desocupada, a edificação apresenta variações de temperatura correspondentes ao clima exterior. As leituras obtidas dos blocos voltados para o lado posterior da edificação (orientação norte) apresentaram maiores oscilações com relação aos dados obtidos dos ambientes voltados a parte frontal (orientação sul). Destaca-se que o sensor 4 foi disposto próximo ao ambiente que possui fechamento com esquadrias

de vidro e que está voltado à orientação norte, recebendo incidência de radiação solar em grande parte do dia. Este fato pode justificar o alcance de maiores temperaturas e seu posterior resfriamento.

Figura 35 – Dados horários de UR (%) dos quatro ambientes analisados no período de 1 ano

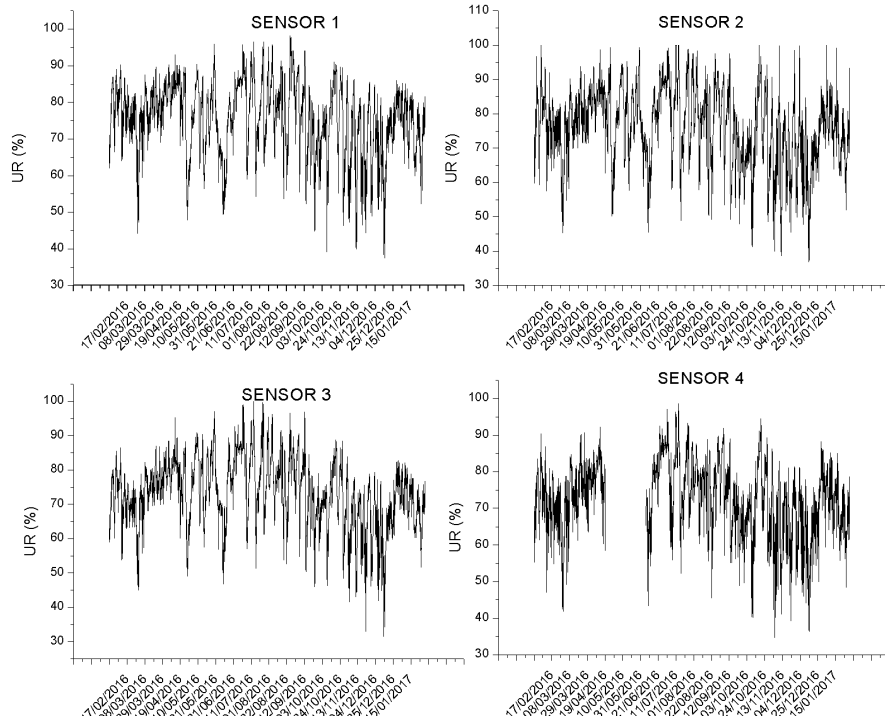
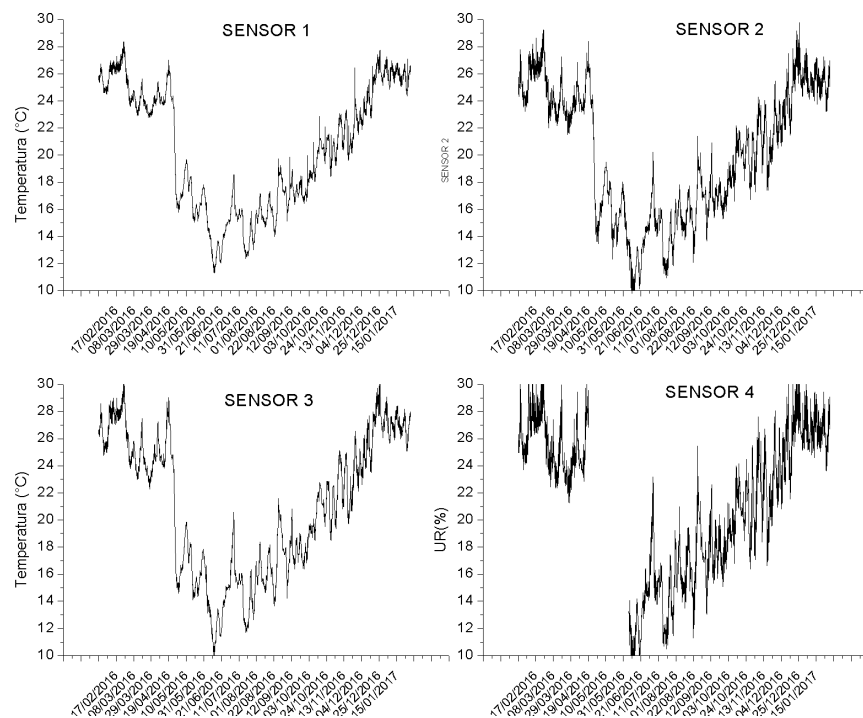


Figura 36 – Dados horários de Temperatura (°C) dos quatro ambientes analisados no período de 1 ano



As construções do século XIX e início do XX, como o caso da edificação em análise, são, em geral, constituídas de paredes externas de alvenaria de grande espessura, comportando-se como um importante elemento regulador da temperatura dos ambientes, em relação ao clima exterior. Olgyay (2008) afirma que a característica mais importante para o controle térmico dos materiais é seu comportamento sob o ponto de vista da transmissão de calor. A variação da carga calorífica durante o dia origina sua correspondente oscilação no interior das estruturas. Para tal, depende da capacidade isolante do material, caracterizado como coeficiente de transmitância térmica (U), expresso em $W/m^2\text{°C}$ e da capacidade térmica (C), em $(kJ/m^2\text{°C})$. Quanto menor o valor da transmitância, melhor o efeito isolante. Quanto maior a capacidade térmica, menor a variação de temperatura propagada através do material. Ambas as características se encontram presentes nos materiais, com diferentes intensidades.

No caso das edificações históricas, estas geralmente apresentam baixos valores de transmitâncias térmicas em relação às paredes exteriores e alta capacidade térmica. Dessa forma, naturalmente, tendem a se comportar como um elemento regulador favorável ao conforto térmico no interior dessas edificações. Considerando uma situação de inverno, em uma edificação que esteja sendo ocupada, por exemplo, a produção de calor no interior dos ambientes, proveniente de diferentes fontes, seja pela climatização artificial, ou mesmo resultado da ocupação desses espaços, tende a manter a temperatura interna mais homogênea e elevada se comparada às edificações em que a transmitância térmica das paredes é elevada, como nas casas convencionais com paredes de baixa espessura e isolamento. Destaca-se, no entanto, que o isolamento térmico da cobertura, bem como das esquadrias, também se revela importante. Para um bom desempenho térmico dos espaços é preciso que estejam relacionadas paredes de alta inércia térmica com coberturas e esquadrias isoladas.

O controle da temperatura no interior dos ambientes interfere diretamente no conteúdo de umidade dos materiais. Ao manter os ambientes aquecidos, obtêm-se, por consequência, valores de UR mais baixos.

A Casa Godoy, embora possua elevada capacidade térmica, resultante da elevada espessura das paredes, pode estar suscetível a uma elevada perda de calor, resultando em ambientes de menor temperatura interior e consequente elevação da UR. Algumas hipóteses para este fenômeno podem estar associadas à ausência de produção de calor interior, bem como o baixo isolamento térmico com relação à

existência de algumas esquadrias que possuem vidros faltantes, além da presença de frestas e falhas na cobertura, interferindo diretamente nas trocas térmicas.

A Tabela 9 mostra os valores máximos, mínimos e médios obtidos para temperatura e UR a partir de todos os sensores instalados internamente, considerando o ano total de medição.

Tabela 9 – Dados microclimáticos do monitoramento – interior da edificação

	SENSOR 1		SENSOR 2		SENSOR 3		SENSOR 4	
	PAVIMENTO TÉRREO				PAVIMENTO SUPERIOR			
	Temp. (°C)	UR (%)	Temp. (°C)	UR (%)	Temp. (°C)	UR (%)	Temp. (°C)	UR (%)
VALORES MÁXIMOS	28,35	98,25	29,77	99,99	30,45	99,96	33,17	98,58
VALORES MÍNIMOS	11,32	37,48	8,20	36,90	9,88	31,55	7,32	34,71
MÉDIAS	25,93	74,00	25,44	75,37	27,01	71,00	26,67	71,31
Média das máximas (Temperatura)								30,43°C
Média das mínimas (Temperatura)								9,18°C
Média das máximas (UR)								99,20%
Média das mínimas (UR)								35,16%
Temp. média (todos sensores)								26,26°C
UR média (todos sensores)								72,92%

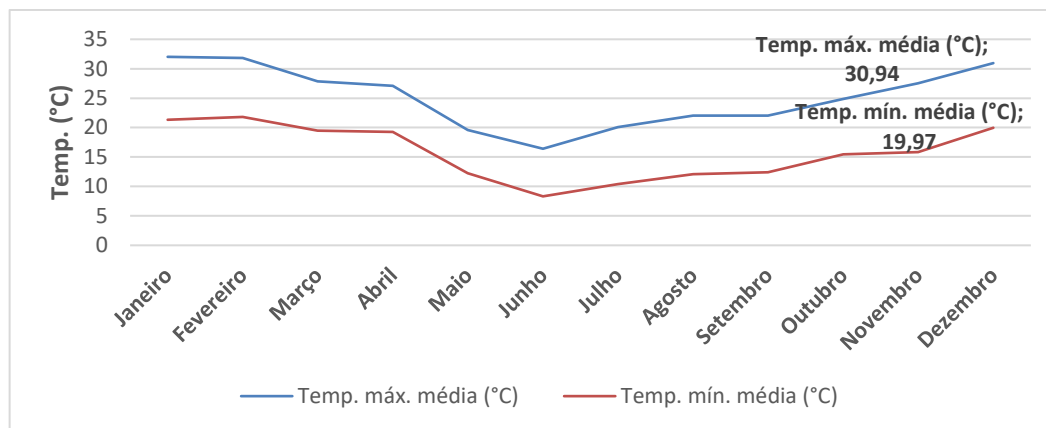
O sensor 2, localizado no pavimento térreo, no vão da escada de acesso ao segundo pavimento, registrou maior valor médio para UR. Os vãos de escadas tendem a conduzir com mais intensidade o calor em direção aos pavimentos superiores. Esta condução do calor tende a reduzir a temperatura que por fim ocasiona a elevação da UR, podendo justificar o ocorrido neste local.

A temperatura média anual, obtida a partir dos sensores internos, foi de 26,26°C, com média dos valores mínimos de 9,18°C e média dos valores máximos de 30,43°C. Com relação à UR, a média anual, considerando todos os sensores, foi de 72,92%, com média das mínimas de 35,16% e média das máximas, 99,20%.

A Figura 37 mostra dados obtidos a partir do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) para os valores médios de temperatura mínima e máxima exterior, entre os meses de janeiro e dezembro de 2016, correspondentes ao monitoramento do microclima interior. A temperatura máxima média verificada no ambiente exterior corresponde, aproximadamente, aos valores verificados no interior da edificação. Quanto à temperatura mínima média, os dados verificados no exterior apresentaram

valores mais elevados comparados aos dados resultantes do monitoramento interno à edificação.

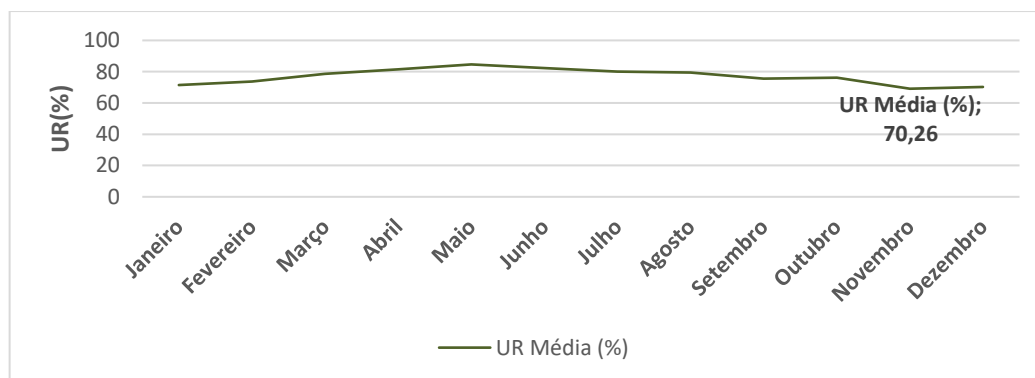
Figura 37 – Médias das temperaturas mensais exteriores no ano de 2016 para a cidade de Porto Alegre (RS)



Fonte: (INMET), 2016

A Figura 38 mostra os dados obtidos pelo INMET para os valores médios de UR durante o mesmo período. Verifica-se que a UR média exterior (70,26%) corresponde, aproximadamente, às médias obtidas através dos sensores instalados na edificação (72,92%).

Figura 38 – Média dos valores de UR exterior no ano de 2016 para a cidade de Porto Alegre (RS)



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), 2016

Os sensores instalados no pavimento térreo obtiveram médias um pouco mais elevadas. Verificou-se que para este pavimento, aproximadamente 70% do tempo de medição, a UR esteve acima de 70% e para o pavimento superior, 60% do tempo total de medição, a UR atingiu valores acima de 70%. Este comportamento pode sustentar a hipótese de que, além da UR ambiental exterior, outras fontes de umidade, como a umidade ascensional, resultante de falhas no escoamento de água da chuva no

pavimento térreo, observadas durante inspeções na edificação, podem auxiliar na retenção de umidade interior, o que, com a ausência de ventilação e de qualquer fonte de calor interno, favorece a elevação da UR. Estando a umidade relacionada com a variação de temperatura, o aumento da UR, resulta na redução da temperatura interior, também verificada no monitoramento.

A Tabela 10 mostra todos os valores obtidos para temperatura máxima e mínima, além da UR média para o ano de 2016 na cidade de Porto Alegre (INMET, 2016).

Tabela 10 – valores médios para temperatura máxima, mínima e UR exterior no ano de 2016 na cidade de Porto Alegre (RS)

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
T. máx. média (°C)	32,02	31,81	27,83	27,1	19,6	16,41	20,07	22,03	22,06	24,85	27,54	30,94
T. mín. média (°C)	21,32	21,81	19,49	19,3	12,3	8,32	10,42	12,07	12,4	15,45	15,86	19,97
UR Média (%)	71,38	73,81	78,64	81,5	84,6	82,4	80	79,52	75,62	76,14	69,11	70,26

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), 2016

Para Ramos (2007) o desenvolvimento de fungos nos elementos construtivos é a manifestação patológica que mais facilmente indica que a umidade relativa do ar interior está elevada. A infestação por esporos de fungos ocorre de maneira natural, proveniente do ar exterior. A obtenção de nutrientes é garantida por depósitos superficiais provenientes de particulados orgânicos presentes nas superfícies, como a própria poeira, por exemplo.

Os dados verificados no monitoramento, correlacionados com as condições necessárias ao crescimento biológico, indicam situações bastante favoráveis ao desenvolvimento de fungos, confirmado pela presença visível de seu crescimento mesmo em locais onde não havia evidência de infiltração de água diretamente. Adan e Sansom (2011) afirmam que, embora algumas espécies de fungos possam crescer e se adaptar a temperaturas muito baixas, a maioria dos fungos filamentosos exige temperaturas mínimas para a germinação e crescimento, entre 5°C e 10°C. A temperatura ótima para o crescimento do micélio é geralmente entre 22°C e 35°C, destacando que, para a maioria dos fungos, esta fica em torno dos 25°C (temperatura normalmente encontrada em ambientes internos das edificações). A temperatura máxima para germinação e crescimento fica entre 35°C e 55°C.

Figura 39 – Valores médios mensais para UR e Temperatura dos ambientes interiores

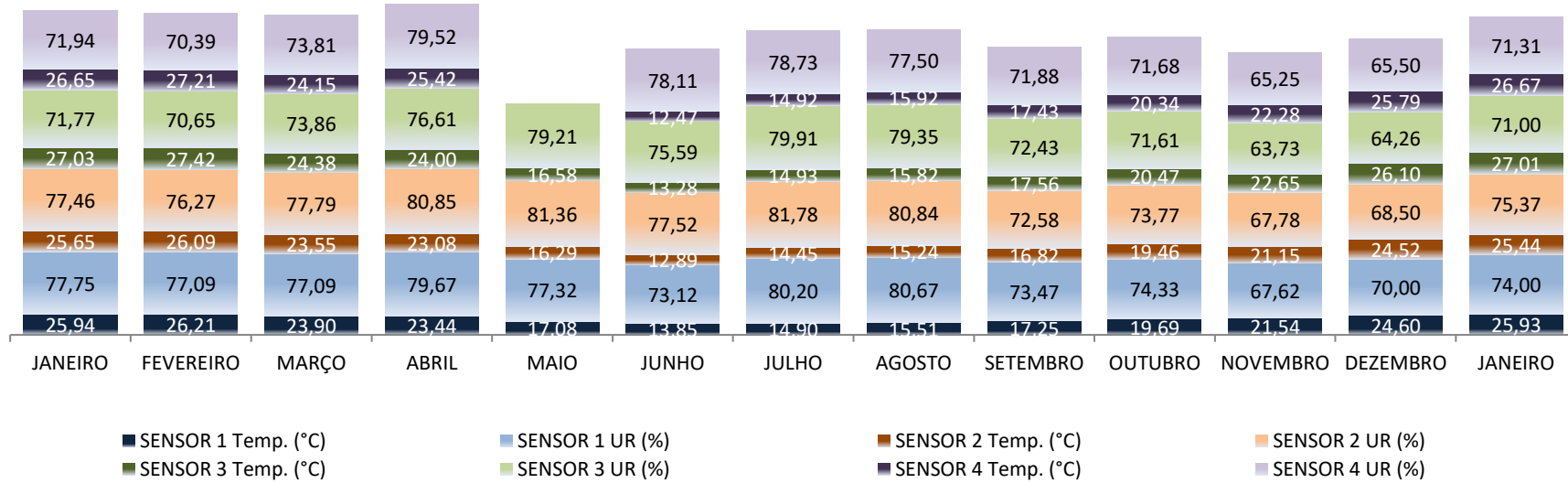
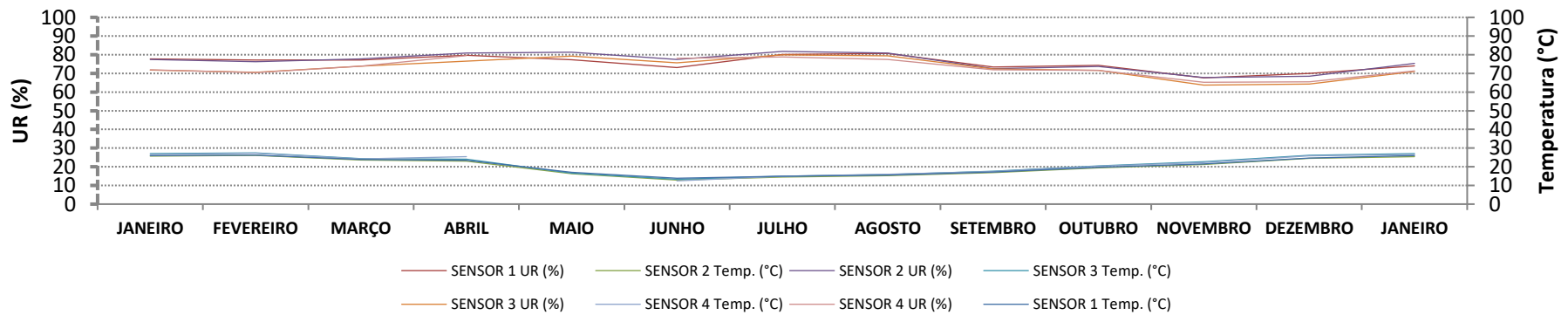


Figura 40 – Médias das leituras diárias no período de um ano para UR e Temperatura dos ambientes interiores



A Figura 39 detalha as médias obtidas para UR e temperatura em cada um dos meses do monitoramento para cada sensor. A Figura 40 destaca a média das leituras diárias no decorrer do ano monitorado. Considerando os referenciais teóricos, as temperaturas máximas e mínimas obtidas no monitoramento, portanto, encontram-se dentro da faixa aceitável para a manutenção do crescimento de fungos

3.2.2 Análise dos materiais

As análises realizadas a partir das amostras de material extraídas da edificação tiveram por objetivo a caracterização físico-química destes substratos, de forma a servir como subsídio à definição das propriedades necessárias para a moldagem das amostras a serem confeccionadas e analisadas na Fase 2 do trabalho.

3.2.2.1 Teor de umidade

Em novembro de 2015 foi feita uma primeira extração de amostras que permitiu delinear os pontos com maior probabilidade de deterioração em função do teor de umidade contido nos materiais.

Os resultados obtidos para a avaliação da umidade natural presente nas amostras, no momento da coleta, foi determinado a partir da (Equação 2, p. 100) e podem ser visualizados na Tabela 11.

Tabela 11 – Teor de umidade natural nas amostras

AMOSTRAS	MASSA MATERIAL ÚMIDO (g)	MASSA MATERIAL SECO (g)	TEOR DE UMIDADE NATURAL (%)	LOCAL DE EXTRAÇÃO
U_02d.1	23,18	22,19	4,45	AMBIENTE 02 - Base da parede divisória com edificação lindeira (oeste)
U_02a	30,33	29,42	3,09	AMBIENTE 02 - Base da parede exterior (pátio interno)
U_4b.1	60,04	59,10	1,59	AMBIENTE 04 - Base da parede divisória com edificação lindeira (leste)
U_05b.1	181,43	180,36	0,59	AMBIENTE 05 - Parede de alvenaria (vão da escada acesso cozinha – patamar inferior)
U_05b.2	143,64	142,45	0,84	AMBIENTE 05 - Parede de alvenaria (vão da escada acesso cozinha – patamar superior)
U_06d.1	86,66	79,54	8,96	AMBIENTE 06 - Base da parede divisória com edificação lindeira (oeste)
U_08d.1	94,41	88,38	6,82	AMBIENTE 08 - Base da parede divisória com edificação lindeira (oeste)

A partir dos teores de umidade, foi possível uma correlação com os ambientes onde visualmente já havia sido verificada a intensa umidade, resultante de pontos de infiltração, como já era esperado. As amostras com os maiores teores de umidade, tais como a U_06d.1 e U_08d.1, correspondem aos ambientes onde verificou-se intenso crescimento biológico, bem como evidente infiltração, intensificada em período de ocorrência de chuva e em regiões próximas à base das paredes.

As amostras com os menores teores de umidade, tais como a U_05b.1 e U_05b.2, correspondem às superfícies interiores do vão da escada, local onde se verificou a presença de crescimento biológico, porém não havia indícios de pontos de infiltração. A diferença entre os teores de umidade verificados está relacionada às diferentes alturas de extração. A amostra extraída do vão no patamar inferior mostrou menor teor de umidade natural comparado à amostra extraída do patamar superior. Tal resultado pode ser justificado pelo fato de a parede do patamar superior ser divisa com o ambiente 08, intensamente deteriorado pela infiltração proveniente da laje superior em praticamente todas as superfícies. No nível do patamar inferior, a parede é divisa com o ambiente 06, também deteriorado, porém na superfície da parede adjacente, que faz divisa com a edificação vizinha.

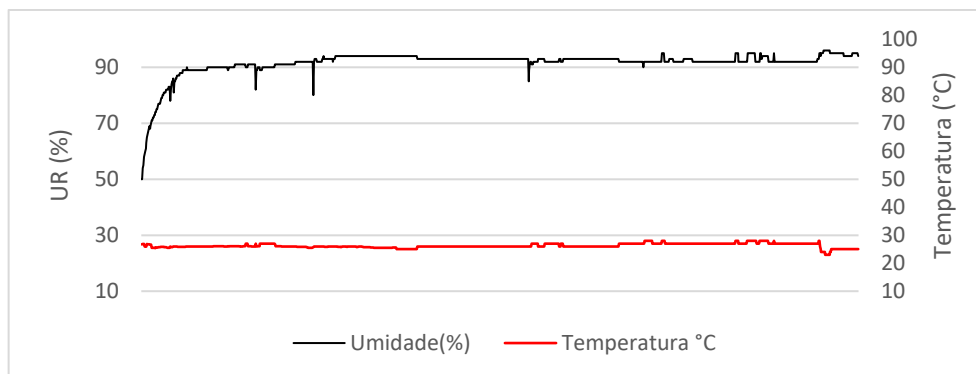
Em seguida a esta análise, realizou-se um ensaio para avaliação da umidade higroscópica das amostras. Este ensaio buscou determinar a capacidade de absorção de umidade das amostras, dispondo-as em ambiente com UR elevada e temperatura constante. Para determinação do teor de umidade higroscópica usou-se a (Equação 3, p. 101).

Esta análise permitiu verificar que as amostras, de um modo geral, são bastante higroscópicas. A umidade a que ficaram expostas durante o ensaio foi em média de 91,52% e temperatura de 26°C, monitoradas através de registrador termohigrômetro, configurado para o registro horário. A Figura 41 mostra o registro de UR e temperatura durante todo o período de execução do ensaio, destacando a curva inicial de aumento da UR até estabilização aproximada, em torno dos 90% de umidade relativa.

Esta análise permitiu observar que estando o ambiente constantemente exposto a elevadas taxas de UR, é provável que tais revestimentos tenham capacidade de

absorver elevados valores de umidade, expondo os materiais a possíveis alterações, principalmente relacionadas ao crescimento biológico.

Figura 41 – Monitoramento do microclima para o ensaio de umidade higroscópica



Outro aspecto relevante foi que as amostras de maior higroscopicidade, tais como U_02d.1 e U_02a.1 (Tabela 12), não foram as que naturalmente apresentaram os maiores teores de umidade natural. Esta informação pode ser correlacionada com as diferentes fontes de umidade, confirmando os locais onde havia evidências de infiltração ou apenas exposição à elevada UR do ar, ou seja, mesmo que as amostras não estivessem em contato com fontes diretas de infiltração, a elevada umidade relativa do ar poderia ser facilmente absorvida.

Tabela 12 – Teor de Umidade higroscópica nas diferentes amostras de argamassa

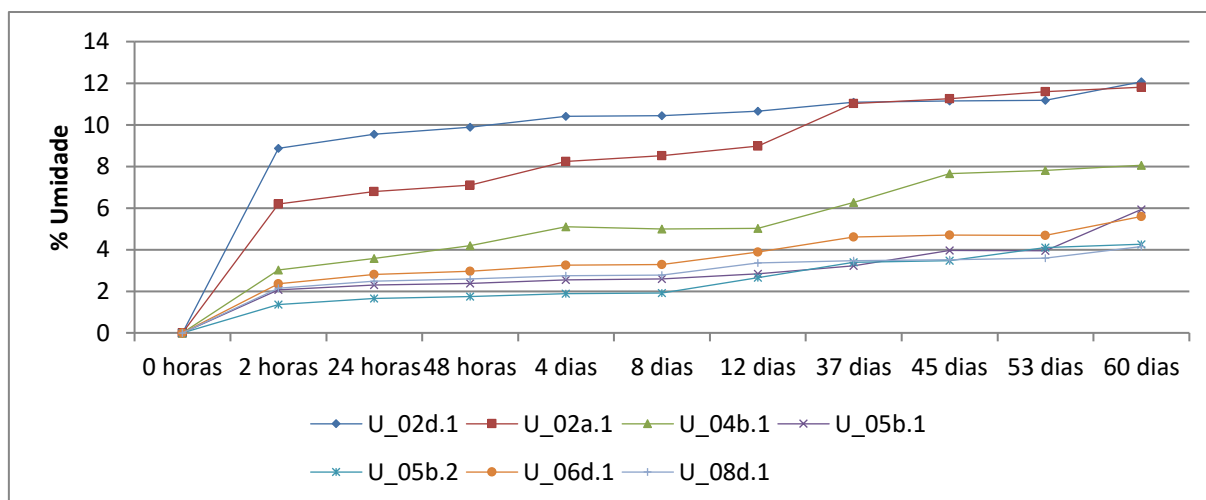
AMOSTRAS	PESO MATERIAL SECO (g)	UR 90% NaCl (50g/1000ml) em dessecador*	UR 90% NaCl (50g/1000mL) em dessecador*	TEOR DE UMIDADE HIGROSCÓPICA (%)
	0 horas	48 horas – 83%	82 dias – 95%	
U_02d.1	22,19	24,39	24,90	12,22
U_02a.1	29,42	31,51	33,14	12,64
U_04b.1	59,10	61,58	63,86	8,05
U_05b.1	180,36	184,66	190,39	5,56
U_05b.2	142,45	144,95	148,58	4,30
U_06d.1	79,54	81,89	84,25	5,92
U_08d.1	88,38	90,67	91,90	3,98

Conforme Lombardi (2005), análises realizadas no *Palazzo Reale* (Nápolis, Itália), em revestimento de argamassa do ano de 1600, verificou-se um teor de umidade natural de 30%, sendo este considerado um valor bastante elevado. No entanto, embora as análises nas amostras da casa Godoy não tenham superado valores em torno de 8% para umidade natural e 12% para umidade higroscópica, considerando o período de

exposição a valores elevados de umidade, os materiais, tornam-se assim, suscetíveis à ocorrência de manifestações patológicas, incluindo o desenvolvimento biológico.

A Figura 42 mostra a evolução do teor de umidade das diferentes amostras ao longo do tempo.

Figura 42 – Teor de Umidade Higroscópica das amostras ao longo do tempo dos diferentes ambientes

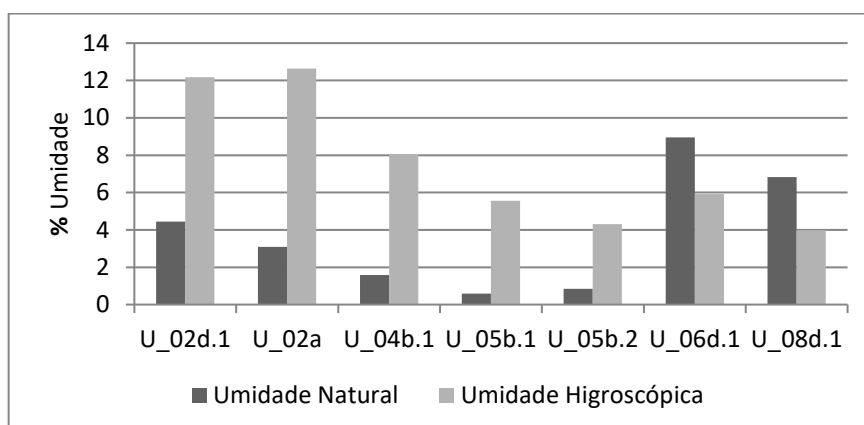


Observa-se a rápida absorção das amostras U_02d.1 e U_02a.1 já nas duas primeiras horas de exposição. As amostras seguem absorvendo a umidade, estabilizando em torno do 12º dia.

Esta análise demonstra a elevada predisposição das superfícies da edificação ao crescimento de fungos, verificada a elevada UR do ar a que estão expostos, associada à elevada higroscopicidade dos substratos analisados.

A Figura 43 compara os diferentes teores de umidade, a partir de seu estado natural e verificação de sua higroscopicidade. Pode-se destacar que as amostras dos ambientes 06 e 08 (U_06d.1 e U_08d.1, respectivamente) foram extraídas de um local onde há a ocorrência de intensa infiltração de água da chuva. Isto pôde ser de fato constatado nas visitas realizadas. Embora de elevada umidade natural, essas amostras não são as que mostraram maior capacidade higroscópica quando comparadas às demais. Amostras como as obtidas dos ambientes 02 e 04 (U_02d.1; U_02a.1 e U_04b.1), estão muito mais susceptíveis à absorção a partir de elevadas taxas de UR, devido ao elevador teor de umidade higroscópica.

Figura 43 – Comparação entre teor de umidade natural e higroscópica das amostras



3.2.2.2 Proporcionalamento ligante / agregado

A Tabela 13 mostra os valores obtidos na determinação do proporcionalamento da parcela de ligante:finos:agregados presentes nas amostras, conforme método de reconstituição de traço descrito por Teutonico (1988) e adotado pelo NTPR (UFBA). As amostras foram extraídas em duplicata para realização do ensaio. Em geral, os valores verificados foram considerados coerentes e próximos entre as duplicatas.

Tabela 13 – Dados obtidos da análise de reconstituição de traço das amostras

Amostra	Amostra seca (g)	Ligante (g)	Finos (g)	Agregados (g)	% Ligante	% Finos	% Agregados	Proporc. (ligante:finos:areia)	Traço provável em massa (ligante:agregado)
M_02d.1	39,77	8,85	2,84	28,08	29,39	7,14	70,61	1:0,43:4,29	1:2,4
M_02d.2	45,33	9,53	2,88	32,92	27,38	6,35	72,62	1:0,41:4,67	1:2,6
M_04b.1	31,46	4,29	0,99	26,18	16,78	3,15	83,22	1:0,31:8,25	1:5
M_04b.2	26,89	3,49	0,7	22,7	15,58	2,60	84,42	1:0,27:8,79	1:5,4
M_05b.1	32,02	5,26	1,54	25,22	21,24	4,81	78,76	1:0,40:6,48	1:3,7
M_05b.2	30,61	4,23	1,31	25,07	18,10	4,28	81,90	1:0,42:8,01	1:4,5
M_06d.1	29,48	4,04	1,4	24,04	18,45	4,75	81,55	1:0,47:8,04	1:4,4
M_06d.2	33,96	5,36	1,44	27,16	20,02	4,24	79,98	1:0,36:6,85	1:4
M_08d.1	28,89	4,07	1,5	23,32	19,28	5,19	80,72	1:0,5:7,74	1:4,2
M_08d.2	27,73	4,62	0,44	22,67	18,25	1,59	81,75	1:0,13:6,63	1:4,5

Destaca-se, no entanto, que o desenvolvimento desta análise apresentou algumas limitações. A extração das amostras só pôde ser realizada em locais próximos a pontos onde já havia algum tipo de desagregação ou alteração no material, em função da impossibilidade de alteração na integridade dos materiais originais.

Roden *et al.* (2009), em análise a partir de amostra obtidas na Igreja das Dores, em Porto Alegre – RS, edificação que teve sua construção iniciada no ano de 1807,

verificaram, através do ensaio de proporcionamento ligante/agregado, traços que variaram de 1:2; 1:3; 1:4; 1:6 e 1:7, de um total de 17 amostras. Verificando o traço 1:6 como o predominante.

Os valores obtidos na realização desta análise foram utilizados como referência para determinação do traço adotado na moldagem das amostras utilizadas nas análises desenvolvidas na Fase 2 deste trabalho.

Adotou-se como critério a escolha de um traço usual em intervenções de restauro e que tivesse sido verificado entre as amostras. Desta forma, optou-se por um traço intermediário, 1:4 (em massa), permitindo a realização dos ensaios da Fase 2 em um substrato com propriedades minimamente satisfatórias quanto aos aspectos de caracterização no estado fresco e endurecido e que fosse, ainda, compatível com as propriedades verificadas em argamassas históricas, principalmente do período avaliado.

3.2.2.3 Distribuição granulométrica

Embora as amostras tenham sido obtidas em pequena quantidade, foi desenvolvida a análise de distribuição granulométrica que permitiu a verificação de aspectos quanto ao tamanho dos grãos e distribuição nas diferentes amostras.

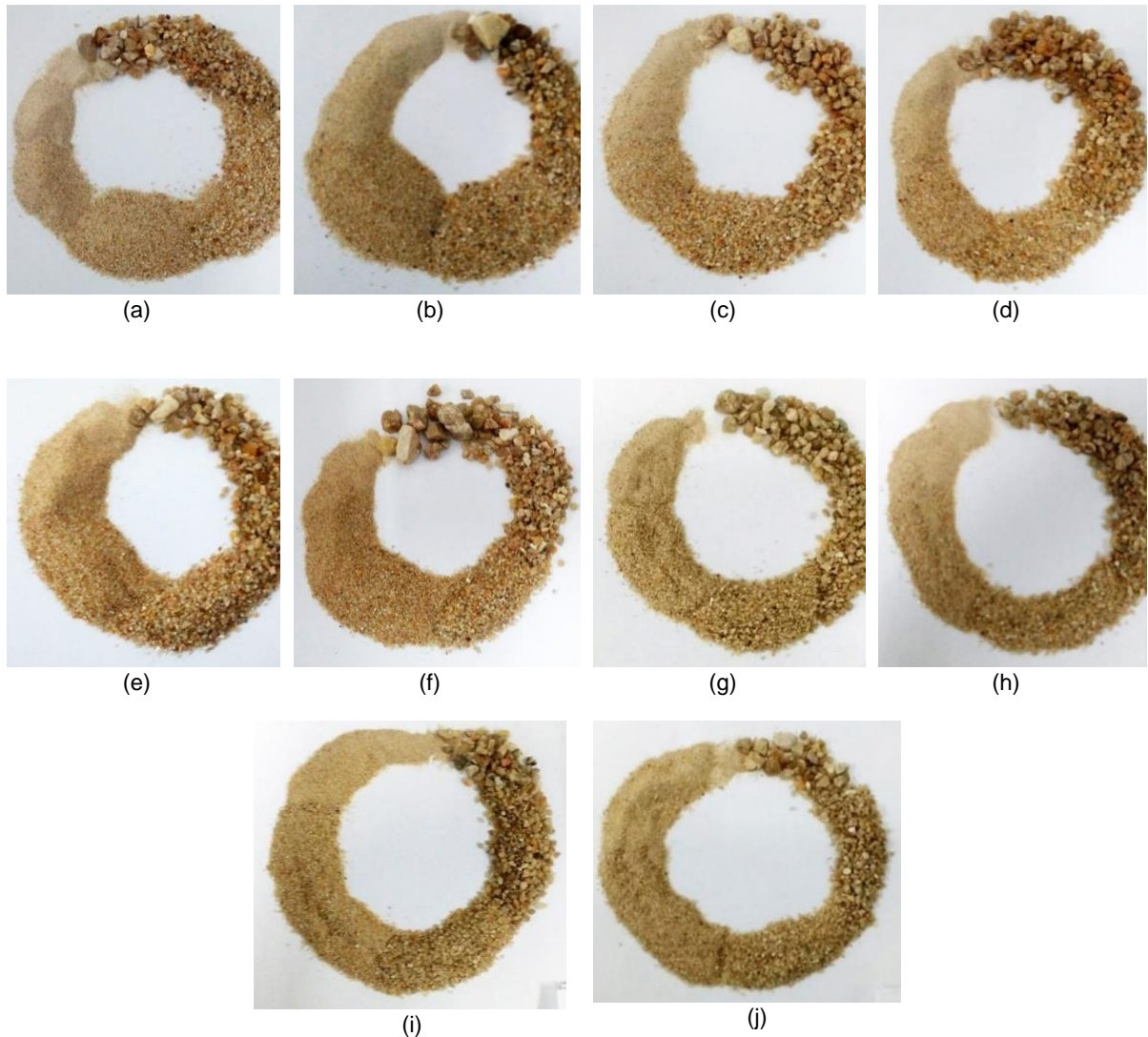
Considerando o reboco como a camada mais fina e exterior de uma superfície, as extrações realizadas envolveram tanto a camada de reboco como a de emboço. Sendo assim, verificou-se um percentual considerável de agregados de dimensões média à grossa, como pode ser visualizado na Figura 44.

Esta análise também foi determinante na definição da distribuição granulométrica da areia empregue na moldagem das amostras da Fase 2. Foi determinada uma média das curvas de distribuição para determinação das porcentagens retidas em cada peneira utilizada no ensaio.

Foram observados aspectos relacionados à coloração e formato dos grãos. Estes aspectos morfológicos também foram considerados para a seleção da areia a ser utilizada.

A Figura 44 mostra a distribuição dos grãos de areia em cada uma das amostras. Verifica-se que há similaridade entre as amostras, principalmente quanto à coloração e formato dos grãos.

Figura 44 – Distribuição dos agregados das amostras utilizadas para o ensaio de Proporcionamento ligante/agregado a) amostra M_02d.1; b) amostra M_02d.2; c) amostra M_04b.1; d) amostra M_04b.2; e) amostra M_05b.1; f) amostra M_05b.2; g) amostra M_06d.1; h) amostra M_06d.2; i) amostra M_08d.1; j) amostra M_08d.2.



A Tabela 14 apresenta a distribuição granulométrica de cada uma das 10 amostras analisadas. Considerando a porcentagem retida acumulada das diferentes amostras, pode-se caracterizar a areia utilizada nas argamassas como sendo de granulometria média ou grossa, de acordo com classificação indicada em versão anterior da ABNT NBR 7211 (1983).

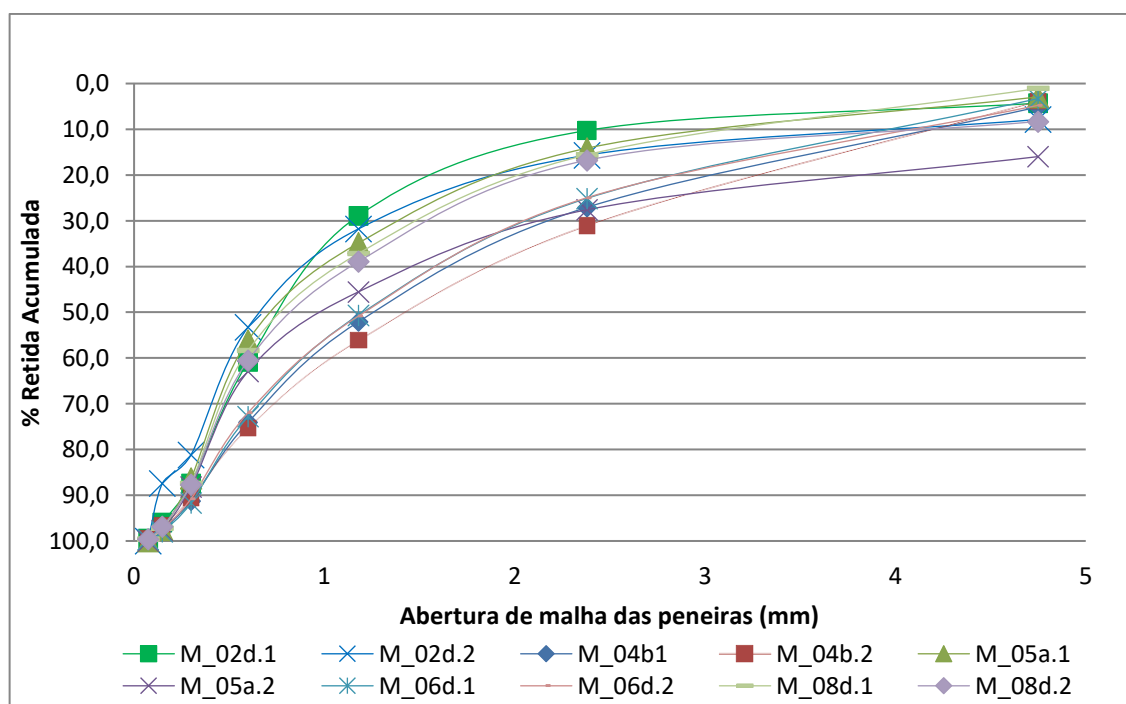
Tabela 14 – Distribuição granulométrica das mostras

Abertura das peneiras (mm)	AMOSTRAS									
	Média Retida Acumulada (%)									
Diâm. máx.	4,75									
	M_02d.1	M_02d.2	M_04b.1	M_04b.2	M_05b.1	M_05b.2	M_06d.1	M_06d.2	M_08d.1	M_08d.2
4,75	4	8	5	4	3	16	3	5	1	8
2,36	10	16	27	31	14	28	25	25	16	17
1,18	29	32	52	56	35	46	51	51	37	39
0,6	61	53	74	75	56	63	73	72	58	61
0,3	87	81	91	91	86	88	92	91	87	88
0,15	96	87	98	97	98	98	98	97	97	97
0,075	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Módulo de Finura (MF)	2,88	2,77	3,47	3,54	2,92	3,38	3,41	3,41	2,64	3,03

As amostras apresentaram diferentes valores de módulos de finura (MF), variando entre areias médias e grossas. A amostra M_04b.2 apresentou o maior MF, enquanto a amostra M_08d.1 apresentou o menor valor.

A Figura 45 mostra a distribuição granulométrica das diferentes amostras.

Figura 45 – Curva granulométrica das amostras

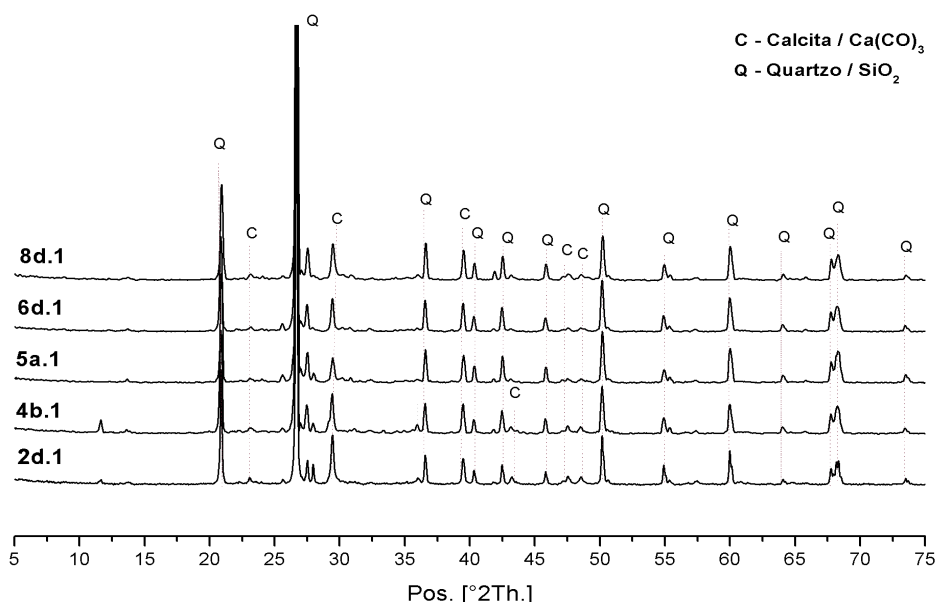


3.2.2.4 Difração de raios X (DRX), Fluorescência de raios X (FRX) e Análise Termogravimétrica (TG)

Para o desenvolvimento das análises de DRX, a partir da mesma amostragem obtida para a realização do ensaio de reconstituição de traço, foi armazenado cerca de 10g do material. Em um primeiro momento, as amostras íntegras foram desagregadas e moídas finamente com auxílio de pistilo e almofariz cerâmico. O material foi passado em peneira malha #53 μ m. Tomou-se o cuidado para higienizar cuidadosamente a peneira, evitando, assim contaminação entre as amostras.

Como as amostras eram compostas basicamente de ligante e agregado, e considerando que maior parte de sua constituição correspondia ao agregado, os resultados desta primeira análise apresentaram picos bastante intenso de material quartzoso. Assim, tornou-se difícil identificar com clareza a composição do ligante, visto que os picos resultantes eram muito pequenos. A interpretação dos resultados da análise de DRX foi feita com o auxílio do software X'Pert HighScore Plus. Os resultados desta análise podem ser verificados na Figura 46.

Figura 46 – Análise de DRX das amostras íntegras (ligante e agregado)

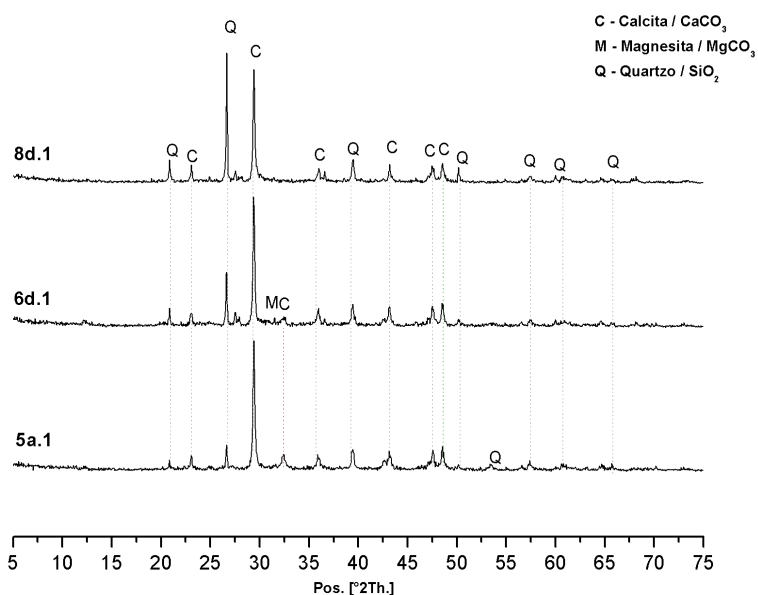


Embora com picos reduzidos, foi possível identificar a presença de calcita como principal ligante, revelando, portanto, uma argamassa tendo como principal ligante a cal e agregado composto de quartzo, de origem provavelmente de rio.

Com o objetivo de confirmar a cal calcítica como principal ligante, reconhecendo a limitação de ter sido realizado o ensaio a partir da amostra íntegra, decidiu-se por realizar uma segunda análise. Esta análise consistiu em, a partir da mesma amostragem (ainda havia sido reservada quantidade suficiente de três das cinco amostras), foi realizada a desagregação, neste momento de forma bastante cuidadosa, para permitir que o máximo de ligante fosse obtido separadamente do agregado. O material fino foi passado em peneira malha #53 μm . O material foi encaminhando, então, para nova análise de DRX.

A Figura 47 mostra os resultados desta segunda análise. Foi possível, assim, confirmar a presença de cal calcítica como principal ligante nas três amostras. Houve ainda a contaminação com a presença de quartzo, principalmente na amostra 8d.1, contudo, neste momento não interferiu na clara verificação da natureza do ligante. A amostra 6d.1 revelou, ainda, a presença de Magnesita, mineral bastante comum na composição de argamassas à base de cal, junto à calcita.

Figura 47 – Análise de DRX das amostras separando ligante do agregado



A Tabela 15 apresenta a descrição dos compostos encontrados nas amostras, bem como características das fichas, ou também denominados códigos de referência localizados no banco de dados do software de análise.

Tabela 15 – Descrição dos compostos verificados na análise de DRX, apresentados na Figura 47

Nome do composto	Fórmula	Mineral	Cód. Ref.	Qualidade
Carbonato de cálcio	CaCO ₃	Calcita	00-005-0586	Star
Carbonato de magnésio	MgCO ₃	Magnesita	01-080-0101	Calculada (ICSD, 1997)
Dióxido de silício	SiO ₂	Quartzo	00-005-0490	Star

As mesmas amostras íntegras desagregadas e moídas finamente, encaminhadas para a análise de DRX, foram encaminhadas para análise de fluorescência de raios X (FRX) e termogravimétrica (TGA). Estes ensaios, de modo complementar ao DRX, confirmam a presença dos compostos presentes nas amostras.

As análises de FRX (Tabela 16), confirmam os resultados da análise em DRX, com porcentagens elevadas de sílica (SiO₂), composto principal proveniente de areia quartzosa, além de elevados teores de CaO (óxido de cálcio), evidenciando a composição do ligante à base de cal, além de traços de MgO (óxido de magnésio) em algumas amostras. A presença de MgO no ligante, configura uma cal de origem em calcário dolomítico, típico da região sul do Rio Grande do Sul (ROHDE *et al.*, 2012). Os demais compostos, tais como a presença considerável de óxidos de alumínio (Al₂O₃), podem indicar a adição de algum material pozolânico na mistura, podendo fornecer alguma propriedade hidráulica às argamassas.

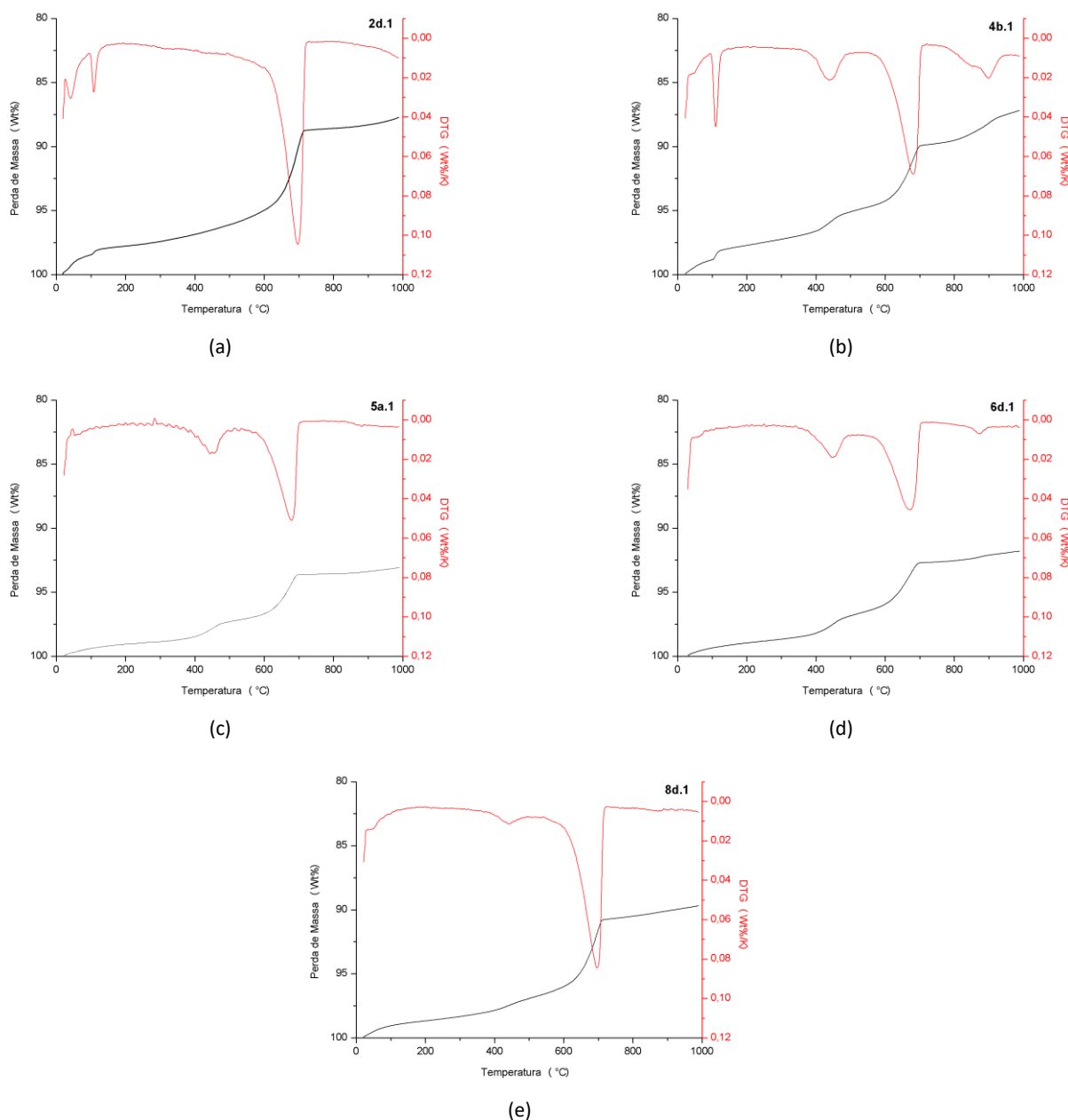
Tabela 16 – Composição química da argamassa a partir da análise de Fluorescência de raios X (FRX)

COMPOSTOS (%)	AMOSTRAS				
	2d.1	4b.1	5b.1	6d.1	8d.1
SiO ₂	64,84	69,63	71,84	82,33	82,03
CaO	8,75	18,44	13,81	8,47	8,76
Al ₂ O ₃	13,27	4,24	4,57	4,45	4,29
ZrO ₂	7,04	-	-	-	-
ZnO	1,63	-	0,07	0,03	-
K ₂ O	1,28	1,84	1,75	2,51	2,24
SO ₃	-	3,09	4,63	0,39	0,54
MgO	-	-	-	0,94	1,06

A Figura 48 (a-e) mostra os gráficos referentes à perda de massa das amostras através da análise termogravimétrica (TGA) e derivada (DTG). De acordo com Borsoi, G. *et al.* (2019), perdas de massa entre 25-120°C correspondem à desidratação da água adsorvida na amostra, verificado nas amostras 4d.1 e 8d.1. Perdas entre 450-

550°C é atribuída, pelos autores, à perda de CO₂ associado a magnesita (MgCO₃), podendo corresponder aos picos verificados em todas as amostras, com exceção da amostra 2d.1. Contudo, esta perda de massa pode, também, ser referente à água combinada ao Ca(OH)₂. Por fim, perdas de massa entre 600-900°C correspondem à liberação de CO₂ resultante da decomposição do CaCO₃, verificado em todas as amostras, corroborando os resultados obtidos através do DRX e FRX.

Figura 48 – Análise termogravimétrica (TG) e derivada (DTG) a) amostra 02d.1; b) amostra 04b.1; c) amostra 05b.1; d) 06d.1; e) 08d.1



A Tabela 17 mostra a descrição dos dados obtidos na análise para cada uma das amostras.

Tabela 17 – Descrição dos dados obtidos na análise termogravimétrica (TGA)

Amostra	2d.1			4b.1		
Evento	Temperatura inicial e final (°C)	Massa (%)	Perda de massa (%)	Temperatura inicial e final (°C)	Massa (%)	Perda de massa (%)
Água adsorvida	25,08	99,74	1,73	94,19	98,88	0,79
	126,86	98,01		126,98	98,09	
Água combinada Ca(OH) ₂				387,75	96,72	1,48
				481,88	95,24	
CO ₂ liberado do CaCO ₃	612,32	94,77	6,06	549,31	94,73	4,98
	724,56	88,71		754,86	89,75	
Cerâmica (tijolo)				873,65	88,63	1,06
				942,61	87,57	
Perda de massa total	25,08	99,74	12,02	94,19	98,88	11,7
	988,53	87,72		988,34	87,18	
Amostra	5b.1			6b.1		
Água adsorvida						
Água combinada Ca(OH) ₂	385,18	98,55	1,25	373,31	98,39	1,48
	500,05	97,3		492,31	96,91	
CO ₂ liberado do CaCO ₃	568,23	96,94	3,31	570,4	96,28	3,58
	699,6	93,63		705,12	92,7	
Cerâmica (tijolo)				846,67	92,4	0,29
				900,05	92,11	
Perda de massa total	385,18	98,55	5,47	373,31	98,39	6,6
	988,76	93,08		989,48	91,79	
Amostra	8d.1					
Água adsorvida						
Água combinada Ca(OH) ₂	389,19	97,92	0,94			
	494,14	96,98				
CO ₂ liberado do CaCO ₃	591,51	96,1	5,35			
	722,14	90,75				
Perda de massa total	389,19	97,92	8,23			
	988,98	89,69				

3.2.3 Análise biológica

A caracterização biológica consistiu, inicialmente, da prospecção com fita adesiva na superfície. Em seguida foi feita a raspagem superficial nos locais de extração pré-selecionados. O material foi inoculado em placas de Petri com meio Ágar Dextrose Sabouraud, considerando a diluição seriada. A partir do crescimento das diferentes colônias, foi feito o isolamento das verificadas como as mais frequentes para posterior microcultivo e identificação morfológica do gênero dos fungos. De modo complementar foi desenvolvido o método molecular de extração de DNA com PCR para identificação das espécies isoladas. A seguir são mostrados os resultados destas etapas desenvolvidas.

3.2.3.1 Prospecção, estimativa e isolamento por microcultivo

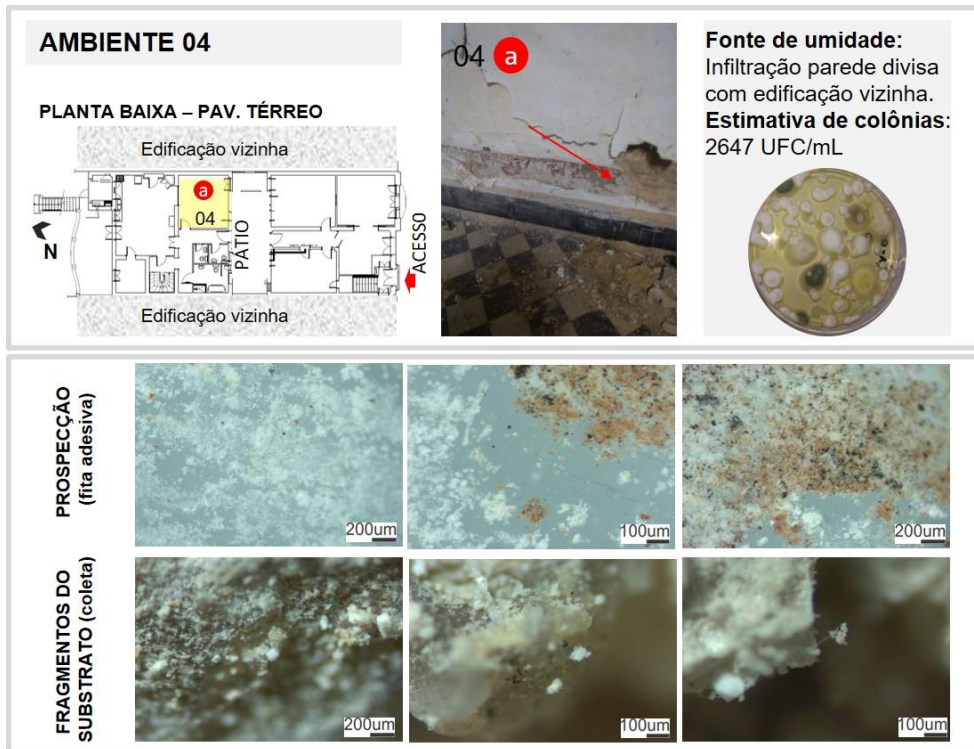
Considerando os locais de coleta para caracterização físico-química dos materiais de revestimento em argamassa dos ambientes internos, foram coletadas sete amostras totais dentre os cinco ambientes para caracterização dos fungos filamentosos mais frequentes. Com relação às fachadas, onde não foi possível a extração para caracterização dos materiais, foram feitas raspagens em um total de seis pontos envolvendo as duas fachadas (principal e fundos), além de superfície exterior no pátio interno.

Da Figura 49 à Figura 61, apresenta-se uma compilação de imagens para cada um dos ambientes analisados, fachadas e pátio interno. São mostradas as imagens obtidas em lupa estereoscópica, em diferentes aumentos, da prospecção com fita adesiva e do material coletado superficialmente (raspagem). Apresenta-se, igualmente, uma imagem representativa de uma das placas de crescimento com o total de colônias desenvolvidas a partir do material coletado para cada ambiente. É feita uma descrição da principal fonte de umidade verificada na inspeção local, bem como a contagem em UFC/mL, a partir de 1g de amostra extraída dos pontos selecionados. Os pontos de coleta estão localizados em planta baixa junto às imagens.

Figura 49 – Coleta biológica no Ambiente 2



Figura 50 – Coleta biológica no Ambiente 4



Com relação ao ambiente 4 (Figura 50), no momento da coleta, aparentemente não havia manchamento de coloração escura, como normalmente é relacionado ao

crescimento fúngico nas superfícies dos materiais. A partir deste local de coleta houve o crescimento predominante de colônias de coloração branca, também verificado no material prospectado com fita adesiva e nas partículas do material raspado.

Figura 51 – Coleta biológica no Ambiente 5

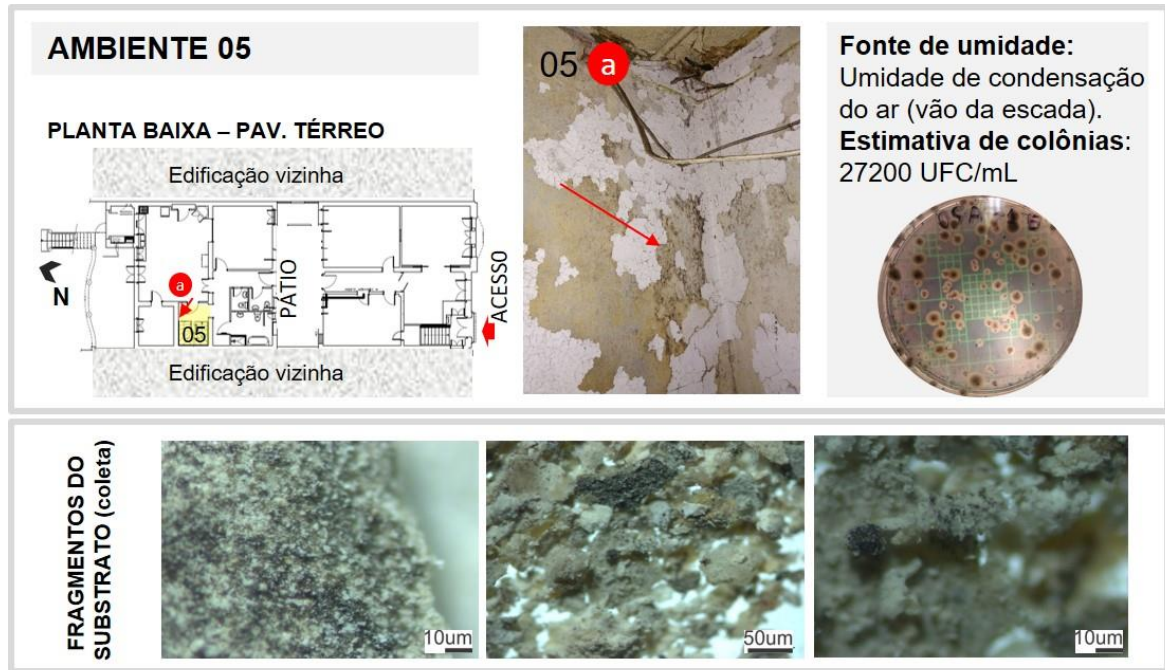


Figura 52 – Coleta biológica no Ambiente 6, amostra 6a.1

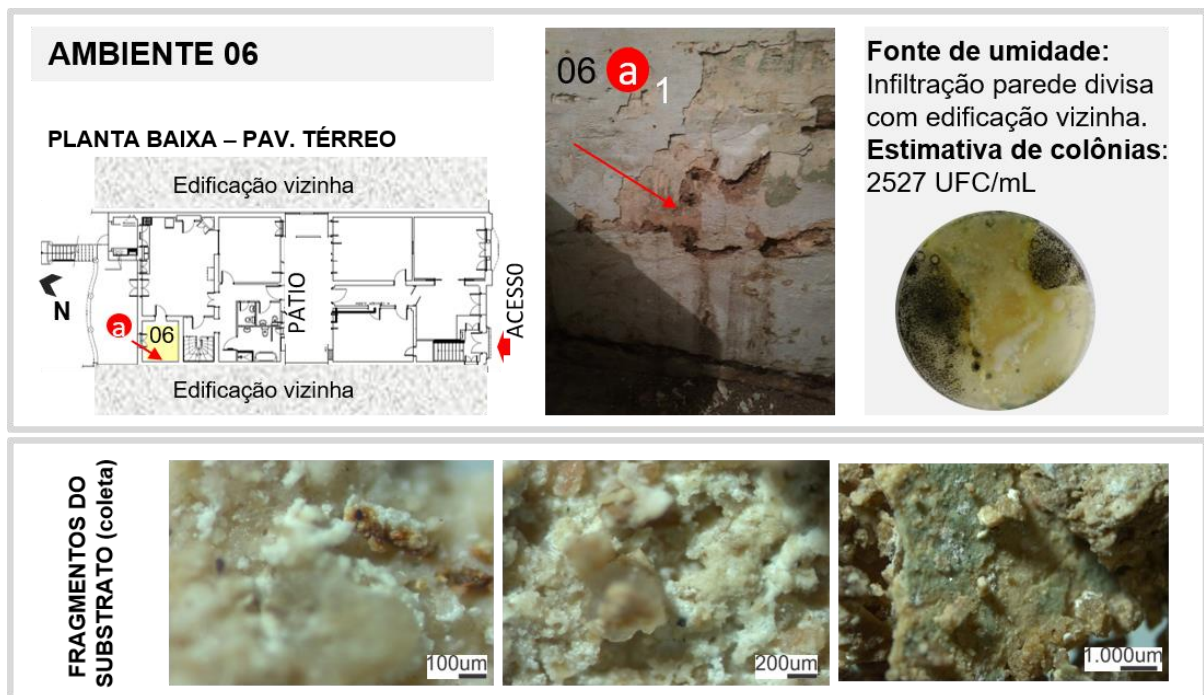


Figura 53 – Coleta biológica no Ambiente 6, amostra 6d.2

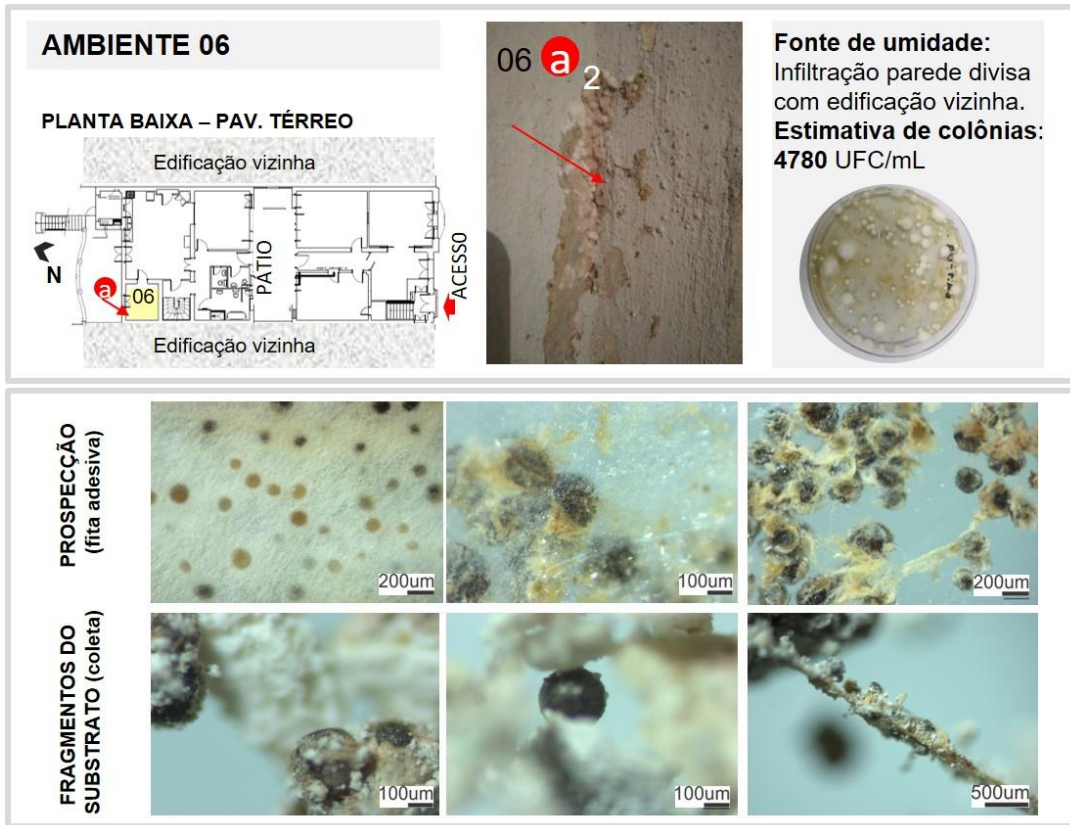


Figura 54 – Coleta biológica no Ambiente 8, amostra 8d.1

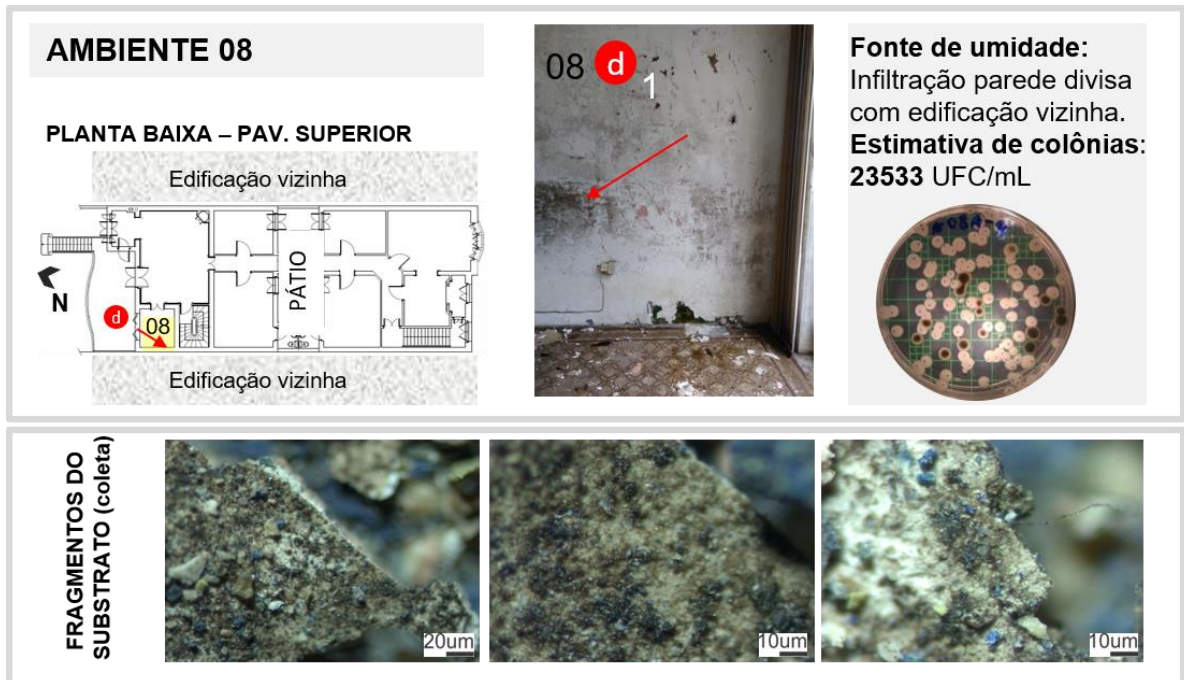


Figura 55 – Coleta biológica no Ambiente 8, amostra 8d.2



Figura 56 – Coleta biológica no Pátio interno

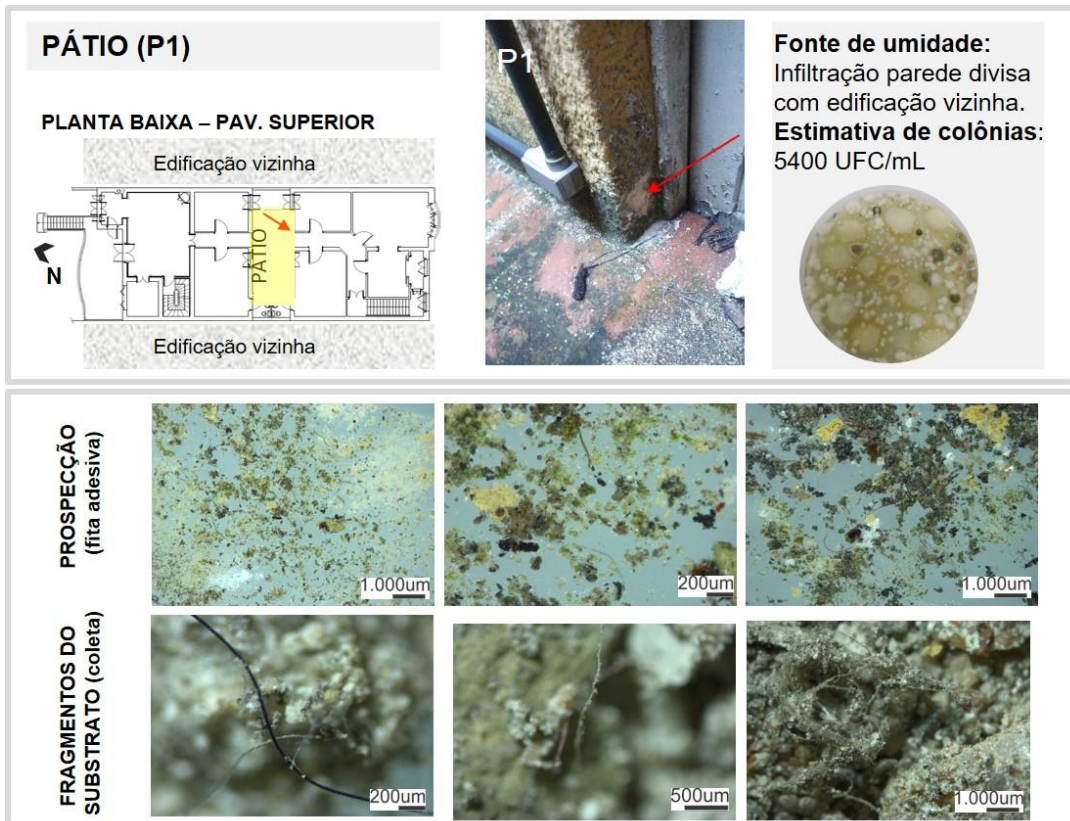


Figura 57 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.1

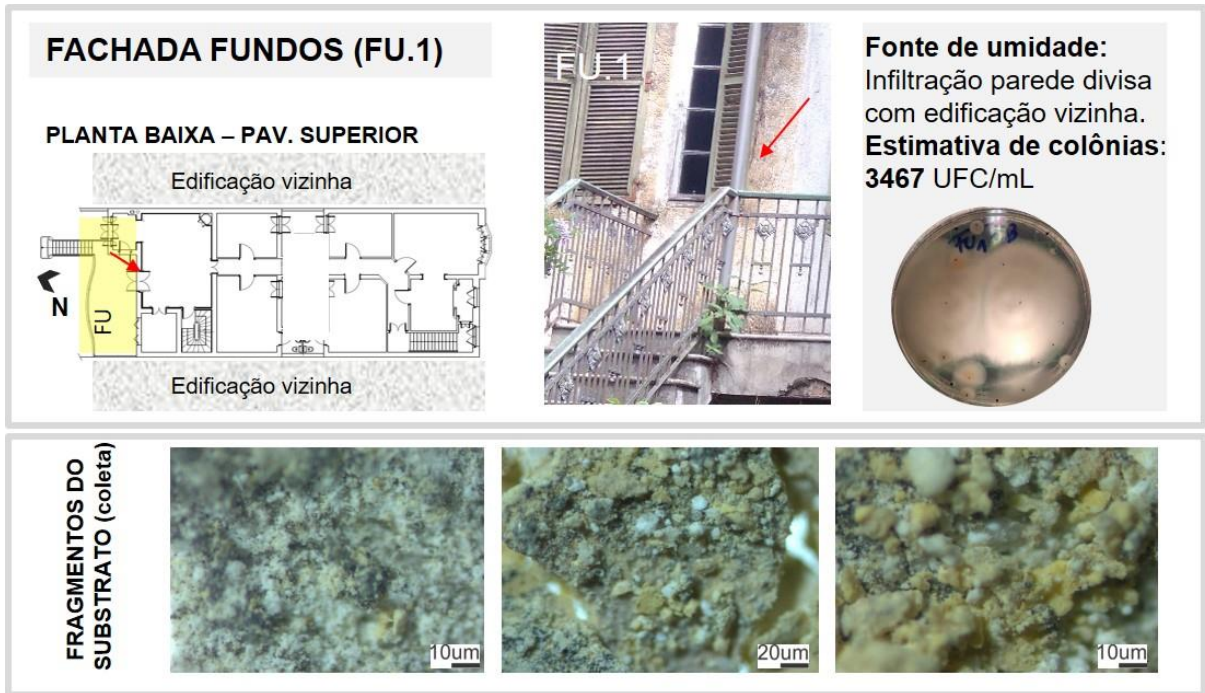


Figura 58 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.2

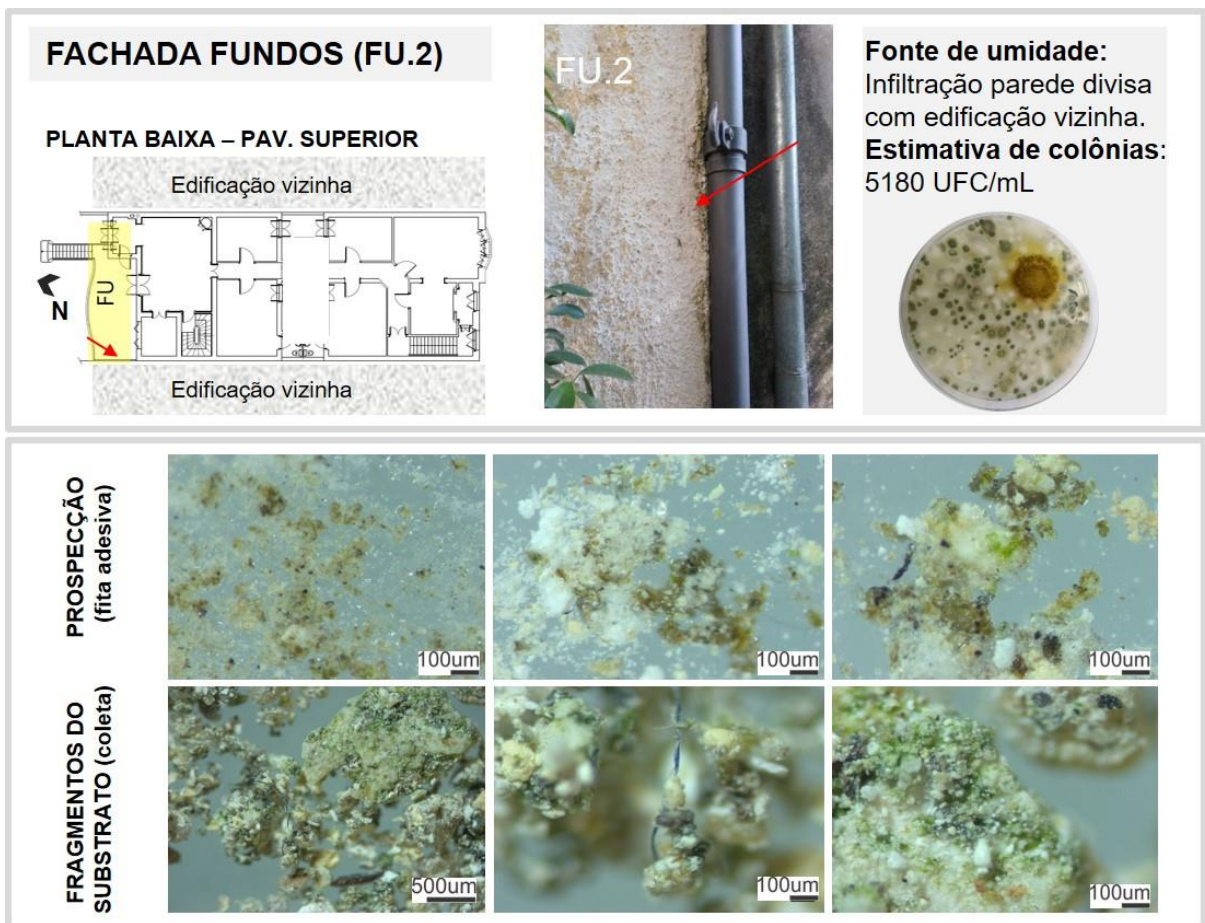


Figura 59 – Coleta biológica na Fachada dos fundos, amostra FU.3



Figura 60 – Coleta biológica na Fachada frontal, amostra FR.1

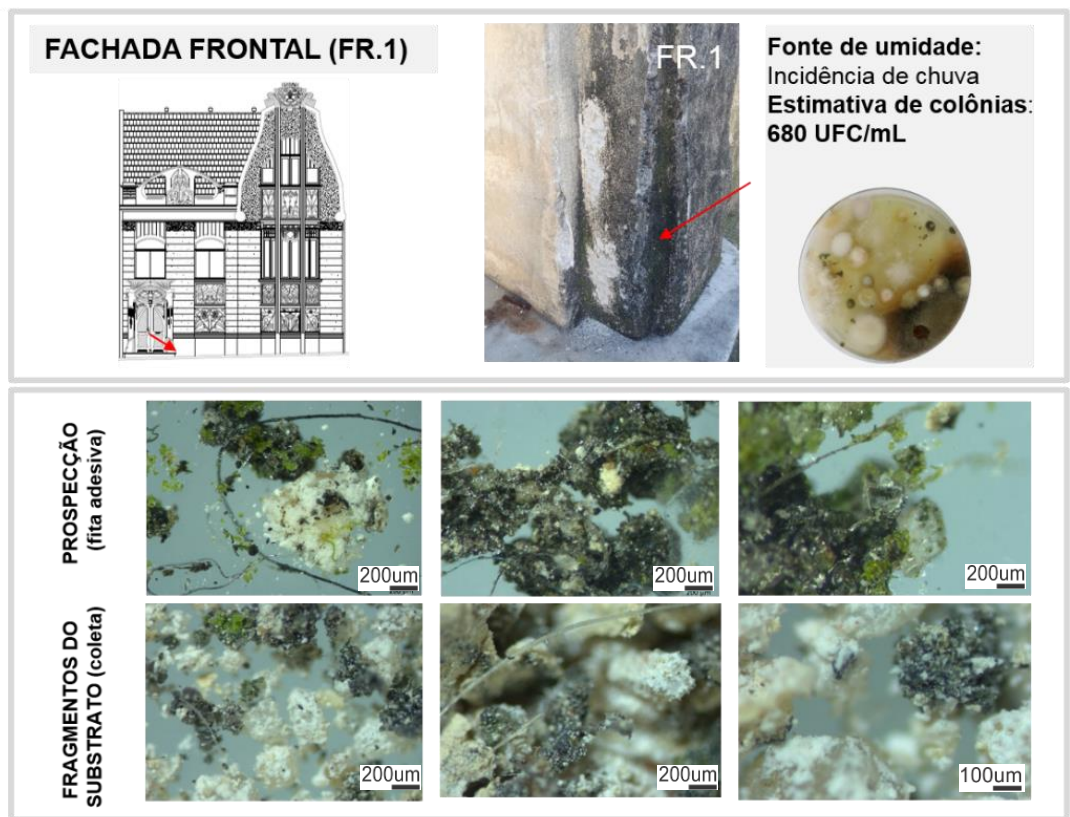
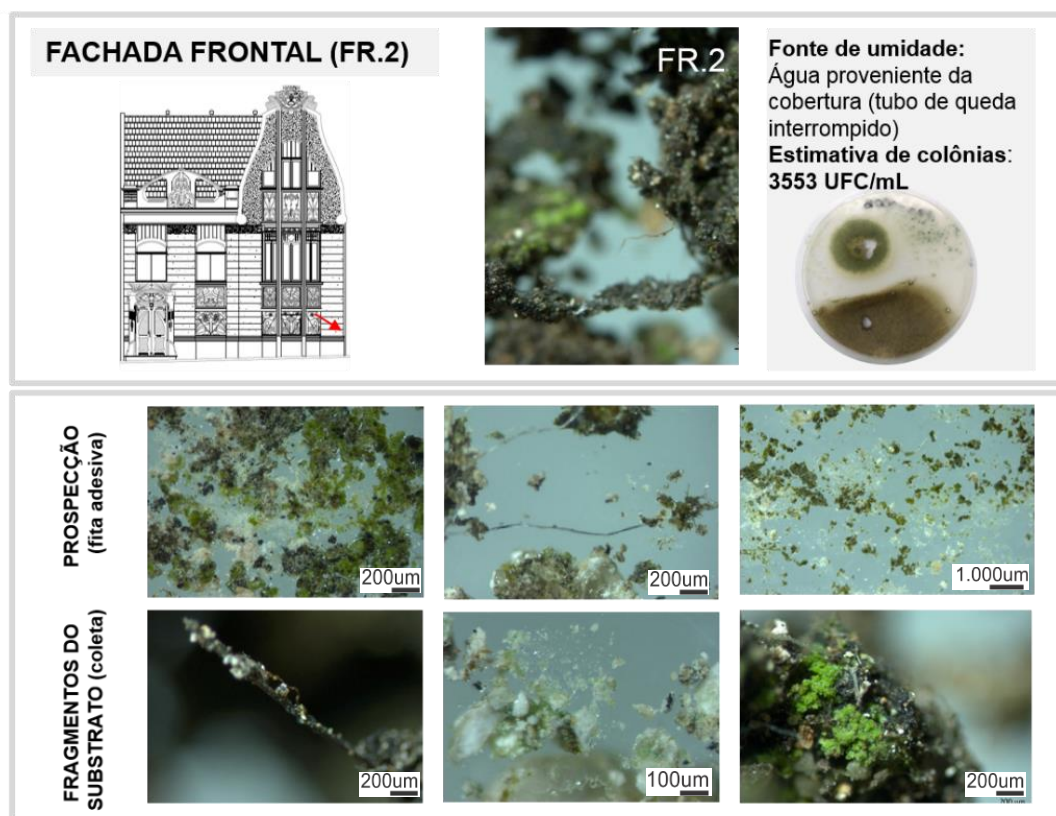


Figura 61 – Coleta biológica na Fachada frontal, amostra FR.2



A correlação morfológica entre as imagens obtidas a partir do material prospectado, da raspagem superficial e das colônias desenvolvidas nas placas de Petri mostrou-se coerente e aplicável como metodologia de análise para esta etapa do trabalho. Na Figura 60, onde mostra-se a coleta realizada em um dos pontos da fachada frontal, é possível verificar uma estimativa reduzida de UFC/mL, comparada às demais amostras. Como justificativa, é possível deduzir, por aspectos morfológicos, que neste ponto de coleta houve um crescimento predominante de organismos fototróficos, dependentes da luz solar para realização de fotossíntese, resultando em um intenso manchamento da superfície, porém com baixa contagem fúngica.

O método selecionado para estimativa de fungos, a partir das amostras, foi utilizado de modo similar em Shirakawa *et al.* (2015), que avaliou a colonização fúngica em painéis fotovoltaicos expostos ao clima tropical brasileiro. Entre outros métodos, foi feita contagem de UFC, a partir do plaqueamento, em meio ágar dextrose Sabouraud e Dichloran-Glycerol (DG-18), de 0,5mL de diluições seriadas da suspensão em água deionizada estéril a partir de coleta superficial com uso de esponja. Viitanen *et al.* (2010) considerou comum que valores entre 10³ – 10⁵ unidades formadoras de

colônias (UFCs) de fungos por grama de amostra, a partir de espaços confinados como porões de edificações antigas, sejam obtidos.

A Tabela 18 mostra a estimativa de UFC. Destaca-se que para as amostras FU1, FU3, 5b e 8d.1 foi considerada a primeira coleta realizada, onde foi possível a quantificação aos seis dias a partir da diluição de 10^{-1} , sendo feitas as devidas correções para quantificação a partir da diluição. Para as demais amostras, foi considerada a segunda coleta onde se pôde quantificar a partir da concentração máxima, também no sexto dia de crescimento.

Tabela 18 – Estimativa de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) a partir de 1 grama de amostra – Coleta superfícies exteriores e ambientes interiores

	Ponto de coleta	Diluição	UFC/mL	Log ₁₀
EXTERIOR	FU1	10^{-1}	3467	3,5399
	FU2	S/d*	5180	3,7143
	FU3	10^{-1}	10000	4,0000
	P1	S/d*	5400	3,7324
	FR1	S/d*	680	2,8325
	FR2	S/d*	3553	3,5506
INTERIOR	02a	S/d*	2967	3,4723
	04a	S/d*	2647	3,4227
	05b	10^{-1}	27200	4,4346
	06a.1	S/d*	2527	3,4025
	06a.2	S/d*	4780	3,6794
	08d.1	S/d*	2493	3,3968
	08d.2	10^{-1}	23533	4,3717

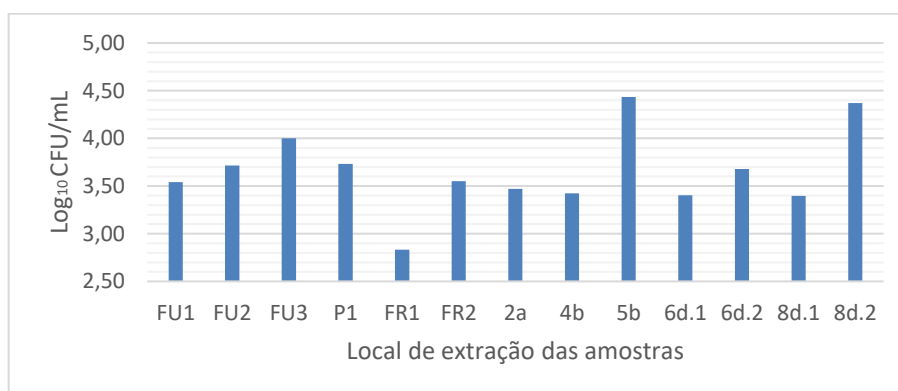
*S/d – sem diluição

Cappitelli *et al.* (2007), a partir de amostras de mármore seriamente danificada por alterações físico-químicas, envolvendo o crescimento biológico, obtidas da fachada da Catedral de Milão (Itália), quantificaram bactérias heterotróficas, e fungos. Para contagem fúngica, obtiveram os seguintes valores: 8×10^4 UFC/g; 3×10^4 UFC/g e 4×10^5 UFC/g. Segundo os autores, a elevada contagem pode estar associada à aplicação de resinas epóxi e acrílica como consolidante, com função protetiva, na década de 1970. O material sintético pode ter se comportando como um substrato potencialmente favorável ao crescimento microbiano.

Koburger *et al.* (2011) avaliaram a argamassa de revestimento no interior de um quarto de uma edificação na Alemanha contaminada com crescimento biológico. Neste trabalho obteve-se a quantificação de 1500 UFC/g a partir de amostras obtidas de uma superfície contaminada.

Com base na Figura 62 verifica-se que, entre os ambientes interiores, os que mostraram uma estimativa de crescimento mais elevada a partir do material coletado, foram os ambientes 05 e um dos pontos de coleta do ambiente 08. De fato, visualmente foi possível verificar um crescimento intenso com alteração evidente da coloração do revestimento, bem como desagregação superficial nas inspeções prévias e no momento da coleta.

Figura 62 – Estimativa de UFC/mL para cada ponto de coleta nos Ambientes interiores e exteriores



O local de coleta no ambiente 5 corresponde ao vão de circulação vertical, embaixo da escada. Neste ponto nota-se uma menor circulação de ar com maior possibilidade de retenção de umidade. Considerando os elevados valores de UR verificados no monitoramento microclimático, bem como a higroscopicidade das amostras e, ainda, a ausência de limpeza e manutenção, o substrato mostrou-se favorável ao crescimento intenso de fungos, conforme verificado na contagem.

Com relação ao ambiente 8, o substrato onde foi feita a coleta com a quantificação biológica corresponde a uma parede onde verificou-se a ocorrência de intensa infiltração, favorecendo, portanto, o crescimento biológico.

Para as amostras coletadas nos ambientes exteriores, verificou-se uma maior estimativa em um dos pontos da fachada dos fundos, local onde, embora seja de orientação solar norte, possui o entorno repleto de vegetação, o que contribui para o

sombreamento, maior retenção de umidade, além de maior exposição à diversidade de agentes biológicos.

3.2.3.2 Identificação morfológica - microcultivo

A partir da primeira coleta foram prospectados e cultivados 32 isolados fúngicos, selecionados a partir da diferenciação morfológica das colônias. Na segunda coleta foram isoladas 27 colônias de fungos filamentosos. Todos os isolados foram cultivados em meio ágar Sabouraud. As coletas foram realizadas entre os meses de abril e maio de 2017, correspondendo, portanto, ao período de outono. Do total de colônias diferenciadas, foram selecionadas 15 para identificação, considerando a frequência em que ocorreram nos ambientes interiores e exteriores. A Tabela 19 mostra os gêneros de fungos identificados através do método do microcultivo, bem como os ambientes em que foram encontrados e a frequência em que foi verificada sua ocorrência a partir das coletas. A determinação da frequência foi realizada de modo qualitativo através da observação do crescimento das colônias e contabilização diretamente das placas.

Tabela 19 – Isolados selecionados para identificação através do microcultivo

COLETA	Identificação na coleta	IDENTIFICAÇÃO Microcultivo (gênero)	AMBIENTES	FREQUÊNCIA
1	Isolado 5	NE*	ext. FU.1	+++++
1	Isolado 10	<i>Fusarium</i>	ext. FU.1	+++
1	Isolado 14	<i>Trichoderma</i>	P.1	+++++
1	Isolado 19	NE*	int. 2a	+
			int. 5b	+++++
			int. 5b	+++++
1	Isolado 16/17	<i>Cladosporium</i>	6d.1	+
			int. 2a	+++++
1	Isolado 24	<i>Rhizopus</i>	6.d1 FU.3	
1	Isolado 25	<i>Aspergillus</i>	ext. FU.2	+++
1	Isolado 26	<i>Penicillium</i>	ext. FU.2	+++++
			int. 6d.1	+++++
2	Isolado 1	<i>Trichoderma</i>	Int. 8d.2;	+++++
			ext. FR.2	+++++
2	Isolado 2	<i>Paecilomyces</i>	Int. 2a	+++++

Tabela 20 – Isolados selecionados para identificação através do microcultivo (continuação...)

COLETA	Identificação na coleta	IDENTIFICAÇÃO Microcultivo (gênero)	AMBIENTES	FREQUÊNCIA
			int. 2a	+++++
			int. 4b	+++++
			int. 6D2	+
			int. 8D1	+++++
2	Isolado 6	NE*	6D1	+++++
			ext. FR.1	+
			ext. FR.2	+
			P1	+++
2	Isolado 7	<i>Penicillium</i>	Ext. FR.2	+++
2	Isolado 27	<i>Penicillium</i>	ext.FR.2	+++
			ext.FU2	+++++
2	Isolado 11	<i>Trichoderma</i>	ext.FR.2	+++++
			ext.FU.2	++
2	Isolado 25	<i>Aspergillus</i>	int. 6D1	+++++
			ext. FR.2	++

NE* - Não esporulou

+ baixo crescimento a partir do ponto de coleta da amostra (1 a 2 colônias)

+++ crescimento médio a partir do ponto de coleta da amostra (2 a 10 colônias)

+++++ crescimento intenso a partir do ponto de coleta da amostra (acima de 10 colônias) (S)

A Tabela 21 mostra as placas de crescimento e imagens das estruturas morfológicas identificadas nas lâminas de análise microscópica para cada um dos isolados selecionados.

Tabela 21 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas



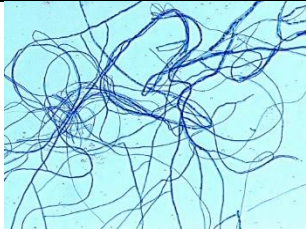


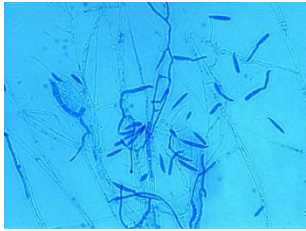
Identificação e local de coleta	Frontal placa	Tardoz da placa	Microscopia óptica (aumento 400x)
Isolado 5 (coleta1) – Não identificado (sem esporos)			
LOCAL: Exterior Fachada fundos (FU.1)			
Isolado 10 (coleta1) <i>Fusarium</i>			
LOCAL: Exterior Fachada fundos (FU.1)			

Tabela 22 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas (continuação...)



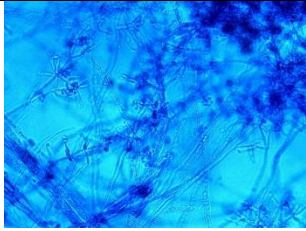


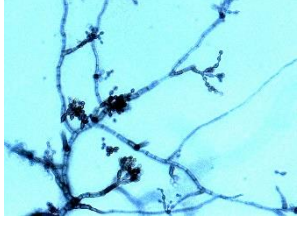


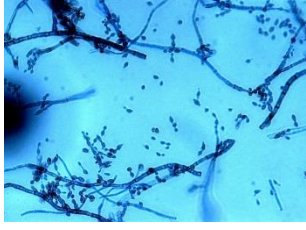




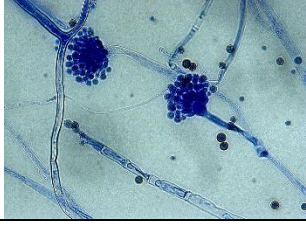


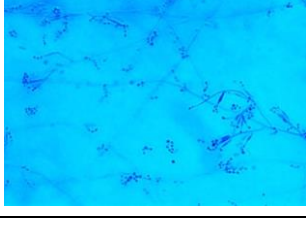
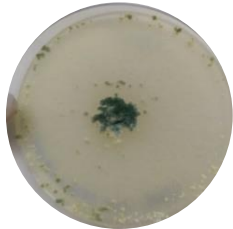

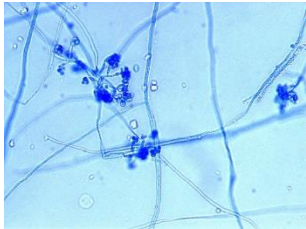

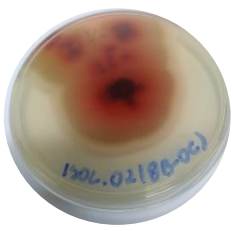
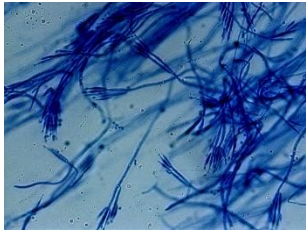

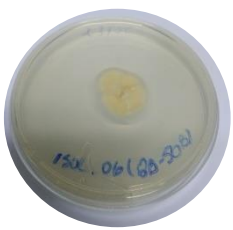
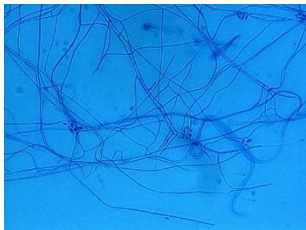
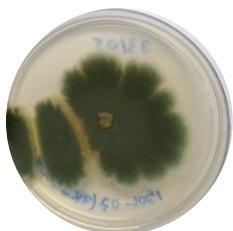
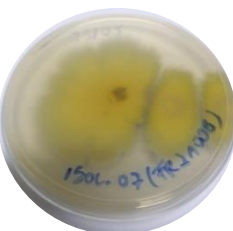
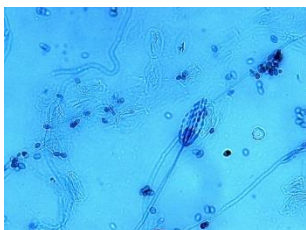


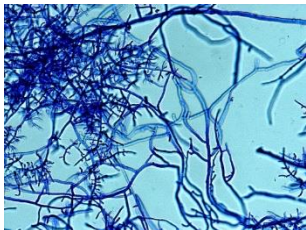


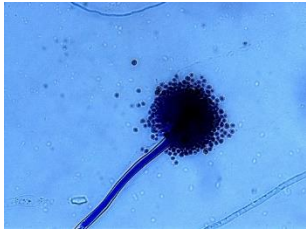
Identificação e local de coleta	Frontal placa	Tardoz da placa	Microscopia óptica (aumento 400x)
<p>Isolado 14 (coleta1) <i>Trichoderma</i></p> <p>LOCAL: Pátio (P.1)</p>			
<p>Isolado 16 (coleta1) – <i>Cladosporium</i></p> <p>LOCAL: Interior Ambiente 2 Ambiente 5 Ambiente 6</p>			
<p>Isolado 17 (coleta1) – <i>Cladosporium</i></p> <p>LOCAL: Interior Ambiente 2 Ambiente 5</p>			
<p>Isolado 19 (coleta1) – <i>Cladosporium</i></p> <p>LOCAL: Interior Ambiente 2 Ambiente 5</p>			
<p>Isolado 25 (coleta1) – <i>Aspergillus</i></p> <p>LOCAL: Exterior Fachada fundos (FU.2)</p>			
<p>Isolado 26 (coleta1) - <i>Penicillium</i></p> <p>LOCAL: Exterior Fachada fundos (FU.2)</p>			

Tabela 23 – Crescimento em placa com meio Ágar Dextrose Sabouraud dos isolados e imagens em microscopia óptica das estruturas fúngicas (continuação...)

Identificação e local de coleta	Frontal placa	Tardoz da placa	Microscopia óptica (aumento 400x)
<p>Isolado 1 (coleta 2) – <i>Trichoderma</i></p> <p>LOCAL: Exterior Fachada frontal e fundos (FU.2, FR.2); Interior: ambientes 6 e ambiente 8</p>			
<p>Isolado 2 (coleta2) – estrutura semelhante ao gênero <i>Paecilomyces</i></p> <p>LOCAL: Interior ambiente 8</p>			
<p>Isolado 6 (coleta2) – Não identificado (sem esporos)</p> <p>LOCAL: Interior Ambiente 2 Ambiente 4 Ambiente 6 Ambiente 8 Exterior: Fachada frontal (FR.1 e FR.2)</p>			
<p>Isolado 7 (coleta 2) - <i>Penicillium</i></p> <p>LOCAL: Exterior: Fachada frontal (FR.2)</p>			
<p>-Isolado 11 (coleta2) <i>Trichoderma</i></p> <p>LOCAL: Exterior: Fachada frontal (FR.2)</p>			
<p>Isolado 25 (coleta2) <i>Aspergillus</i></p> <p>LOCAL: Exterior: Fachada frontal (FR.2) Interior: Ambiente 6</p>			

3.2.3.3 Extração de DNA

Os isolados selecionados para sequenciamento genético foram identificados conforme mostrado na Tabela 24. Conforme descrito no item 3.1.4.3 deste trabalho, foi necessária a utilização de diferentes primers, visto que, para algumas espécies de fungos, a amplificação do DNA apresentou uma melhor resposta com o primer ITS1 e ITS4, enquanto para outros, a adequada amplificação do DNA ocorreu com os primers NL1 e NL4. O Tamanho de Amplicon corresponde ao número de pares de bases de nucleotídeos, obtidos no sequenciamento, considerados válidos para serem comparadas ao banco de dados *BLAST*[®]. A cobertura corresponde ao percentual de alinhamento com a sequência disponível no banco de dados e a identidade a maior porcentagem de identidade de todos os alinhamentos.

Tabela 24 – Identificação molecular dos isolados fúngicos selecionados

COLETA	Identificação na coleta	Gênero/espécie	Primers	Tamanho Amplicon	Score	Cobertura	Identidade
1	Isolado 14	<i>Trichoderma harzianum</i>	NL1/NL4	457pb	1568	100%	100%
1	Isolado 19	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	NL1/NL4	550pb	2852	100%	100%
1	Isolado 16	<i>Cladosporium sp.</i>	ITS1/ITS4	480pb	815	98%	98,45%
1	Isolado 17	<i>Cladosporium halotolerans</i>	NL1/NL4	499pb	922	100%	100%
2	Isolado 1	<i>Trichoderma atroviride</i>	NL1/NL4	432pb	780	100%	99,08%
2	Isolado 2	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	ITS1/ITS4	481pb	752	99%	99%
2	Isolado 6	<i>Acremonium sp.</i>	NL1/NL4	477pb	876	100%	99,79%
2	Isolado 7	<i>Penicillium oxalicum</i>	NL1/NL4	322pb	573	99%	99,06%
2	Isolado 11	<i>Trichoderma sp.</i>	NL1/NL4	350pb	483	100%	95%
2	Isolado 25	<i>Aspergillus niger</i>	ITS1/ITS4	450pb	944	100%	100%

O fungo “Isolado 2”, da coleta 2, foi identificado por microcultivo como sendo do gênero *Paecilomyces*, no entanto, pela identificação genética, foi identificado como *Purpureocillium lilacinum*. Luangsa-Ard *et al.* (2011) afirmam que o *Purpureocillium lilacinum* não é relacionado ao gênero *Paecilomyces*, propondo, assim, o novo nome de gênero *Purpureocillium*.

Na Tabela 25 são apresentados os isolados fúngicos, o traço em massa a partir do substrato coletado, o pH, bem como umidade natural presente a partir das coletas realizadas.

Tabela 25 –substratos coletados, propriedades e fungos identificados

ISOLADOS**																	
Amostra	Cal:areia*	pH	Un** média (%)	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>A. niger</i>	<i>C. sphaerospermum</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Acremonium</i> sp.	<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Trichoderma</i> sp	<i>T. atroviride</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>	Não identificado
AMBIENTE	2d	1:2/1:2,6	9,64	5,99		•	•	•		•							
	4b	1:5/1:5,4	9	1,59				•		•							
	5b	1:3,7/1:4,5	9,34	1		•	•										
	6d	1:4,4/1:4	9,61	8,96	•		•	•				•			•		
	8d	1:4,2,2/1:4,5	9,64	6,82			•	•		•		•					
FACHADAS	FR.1							•									
	FR.2				•			•	•		•	•					
	FU.1													•			•
	FU.2				•							•					•
	FU.3														•		•
	PÁTIO							•					•				•

*Traço do substrato (argamassa)

**Umidade natural da amostra de argamassa

Foi feita a medição de pH nas amostras (medidor de pH mPA210 MS Tecnoyon) através da dissolução de 5g de amostra pulverizada, passante em peneira de malha 150µL em 100mL de água destilada. As argamassas convencionais, de um modo geral, apresentam pH em torno de 12-13, condição desfavorável ao crescimento biológico nas primeiras idades. Ao longo do tempo, os processos de carbonatação reduzem o pH para valores em torno de 9, permitindo o crescimento microbiológico (VERDIER *et al.*, 2014). Valores próximos a este foram verificados nas amostras analisadas, conforme Tabela 25. A suscetibilidade para o crescimento biológico nos materiais de construção depende de vários fatores (disponibilidade nutricional, temperatura, pH e umidade). As diferentes espécies fúngicas requerem diferentes padrões de disponibilidade de água, referida como atividade de água (a_w) (ANDERSEN *et al.*, 2011).

Considerando as condições microclimática verificadas no monitoramento, todos os ambientes da casa permaneceram expostos por longos períodos no decorrer do ano a elevados percentuais de UR e temperatura média favorável aos fungos identificados nas amostras analisadas. Além disso, verificou-se que a elevada umidade relativa não foi a única fonte de umidade verificada. Os diferentes teores de umidade natural,

mostrados na Tabela 25, revelam amostras que estiveram suscetíveis à umidade proveniente de infiltração, tais como as extraídas dos ambientes 2, 6 e 8 que apresentaram valores mais elevados, além de uma maior diversidade de isolados identificados.

Fungos do gênero *Cladosporium* e *Fusarium* necessitam de atividade de água acima de 0,85 (85% de UR) (STERFLINGER *et al.*, 2018b). O fungo *Cladosporium sphaerospermum* foi verificado com maior intensidade no ambiente 5, local de pouca diversidade de isolados. Valores de pH próximos a 9, como verificado em amostra a partir do ambiente 5, favorecem a colonização de argamassas pelo fungo *C. Sphaerospermum* (SHIRAKAWA *et al.*, 2003). Neste ambiente a fonte de umidade corresponde à elevada UR, visto não haver qualquer indício de infiltração.

Shirakawa *et al.* (2003) analisaram amostras de argamassa de cerca de 41 edificações em São Paulo, sudeste brasileiro, e identificaram o fungo do gênero *Cladosporium* como o mais frequente, seguido dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. Com relação à saúde humana, fungos do gênero *Cladosporium* podem estar associados a doenças alérgicas (BOGOMOLOVA; KIRTSIDELI, 2009; HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012).

Shirakawa *et al.* (2003) verificaram que um dos mecanismos de biodeterioração pelo *C. Sphaerospermum* em argamassa contendo CaCO_3 , como as amostras analisadas neste trabalho, envolvia a dissolução do cálcio pela secreção de ácidos orgânicos, seguido pela precipitação de cálcio formando cristais na superfície do material.

O gênero *Fusarium*, isolado a partir de coleta na fachada dos fundos, é relatado por deteriorar pinturas murais (GARG; JAIN; MISHRA, 1995; SUGIYAMA *et al.*, 2017), além de apresentar habilidade para oxidar o elemento enxofre, sendo identificado em pedras areníticas nos monumentos de Angkor no Camboja (LI *et al.*, 2010).

Aspergillus niger, *A. Fumigatus*, *A. versicolor*, *Fusarium* spp. e *Stachybroty* ssp. são mencionados como de forte impacto à saúde humana devido à produção de patógenos e/ou metabólitos secundários capazes de induzir a produção de toxinas (PINHEIRO *et al.*, 2011). Além das alterações provocadas a partir da secreção química de metabólitos, fungos como o *Fusarium* podem danificar os substratos

pétreos e o concreto a partir de ações físicas, principalmente pela penetração de hifas na superfície dos materiais (GIANNANTONIO *et al.*, 2009; GU *et al.*, 1998).

Fusarium é um fungo termotolerante, acidotolerante, oligotrófico, ou seja, capaz de suportar ambientes com baixa disponibilidade nutricional (ABE; HAMADA, 2011; ADAMS *et al.*, 2013; HAMADA; ABE, 2010). Este fungo foi identificado com frequência em amostras de argamassa obtidas a partir de coletas realizadas em São Bernardo do Campo e São Paulo, no sudeste do Brasil (SHIRAKAWA *et al.*, 2003). Os gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Fusarium* tem demonstrado ser os mais abundantes em monumentos investigados (DE LA TORRE *et al.*, 1991; TIANO, 2001).

No ambiente 6, pavimento térreo, a principal fonte de umidade é de origem ascensional, além de infiltração proveniente do pavimento superior. Neste ambiente foi identificado o crescimento de *Aspergillus niger*. Também foram isolados a partir da coleta realizada na fachada frontal da edificação, de orientação sul, os fungos *Cladosporium* sp., *Acremonium* sp., *Trichoderma atroviride* e *Rhizopus*. Estes fungos são de comum ocorrência em superfícies de paredes sob ação de umidade, além dos gêneros *Penicillium*, *Aureobasidium* e *Alternaria* (GAYLARDE *et al.*, 2015). O *Aspergillus niger* é capaz de produzir micotoxinas que podem provocar doenças pulmonares, revelando um potencial risco à saúde das pessoas (ABDEL HAMEED *et al.*, 2012; HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012).

O gênero *Trichoderma* possui cerca de 254 espécies (BISSETT *et al.*, 2015; SUGIYAMA *et al.*, 2017). É um dos mais comuns gêneros encontrados no solo e em madeiras degradadas. Produz ácidos acético, cítrico, fórmico e oxálico (SUGIYAMA *et al.*, 2017). O fungo *Trichoderma atroviride*, verificado nos ambientes interiores, 6 e 8 e fachadas (FR.2 e FU.2), pode estar relacionado a potenciais irritações de mucosas em seres humanos (HALEEM KHAN; MOHAN KARUPPAYIL, 2012; POLIZZI *et al.*, 2011). O *Trichoderma harzianum*, isolado a partir de amostra obtida no pátio interior, é uma espécie comum em edificações expostas à umidade (ANDERSEN *et al.*, 2011).

A espécie *Purpureocillium lilacinum* (\equiv *Paecilomyces lilacinus*) encontrado com intensidade no ambiente 8, pavimento superior, pôde ser verificado por semelhança morfológica de crescimento das colônias em outros locais, tais como 2 e 4. Possui crescimento ótimo entre 25°C e 33°C, é uma espécie formadora de biofilme, sendo

capaz de colonizar superfícies com baixa disponibilidade nutricional (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011). O ambiente 8 possui a superfície exterior em vidro, voltada à orientação norte, o que pode favorecer o alcance de temperaturas mais elevadas, devido à incidência solar. Pessoas com sistema imunológico comprometido podem estar suscetíveis a infecções quando expostas a este fungo (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011). Esta espécie, foi também identificada no interior de câmaras tumulárias de Takamatsuz uka e Kitora no Japão e nas cavernas de Lascaux (SUGIYAMA *et al.*, 2017).

A identificação em nível de espécie demonstra-se importante, pois permite verificar potenciais danos aos materiais das edificações, além de permitir antever possíveis riscos à saúde das pessoas que frequentam ou mesmo que atuam como restauradores em edificações históricas, estando, portanto, expostos a micotoxinas, alergênicos e metabólitos específicos (ANDERSEN *et al.*, 2011).

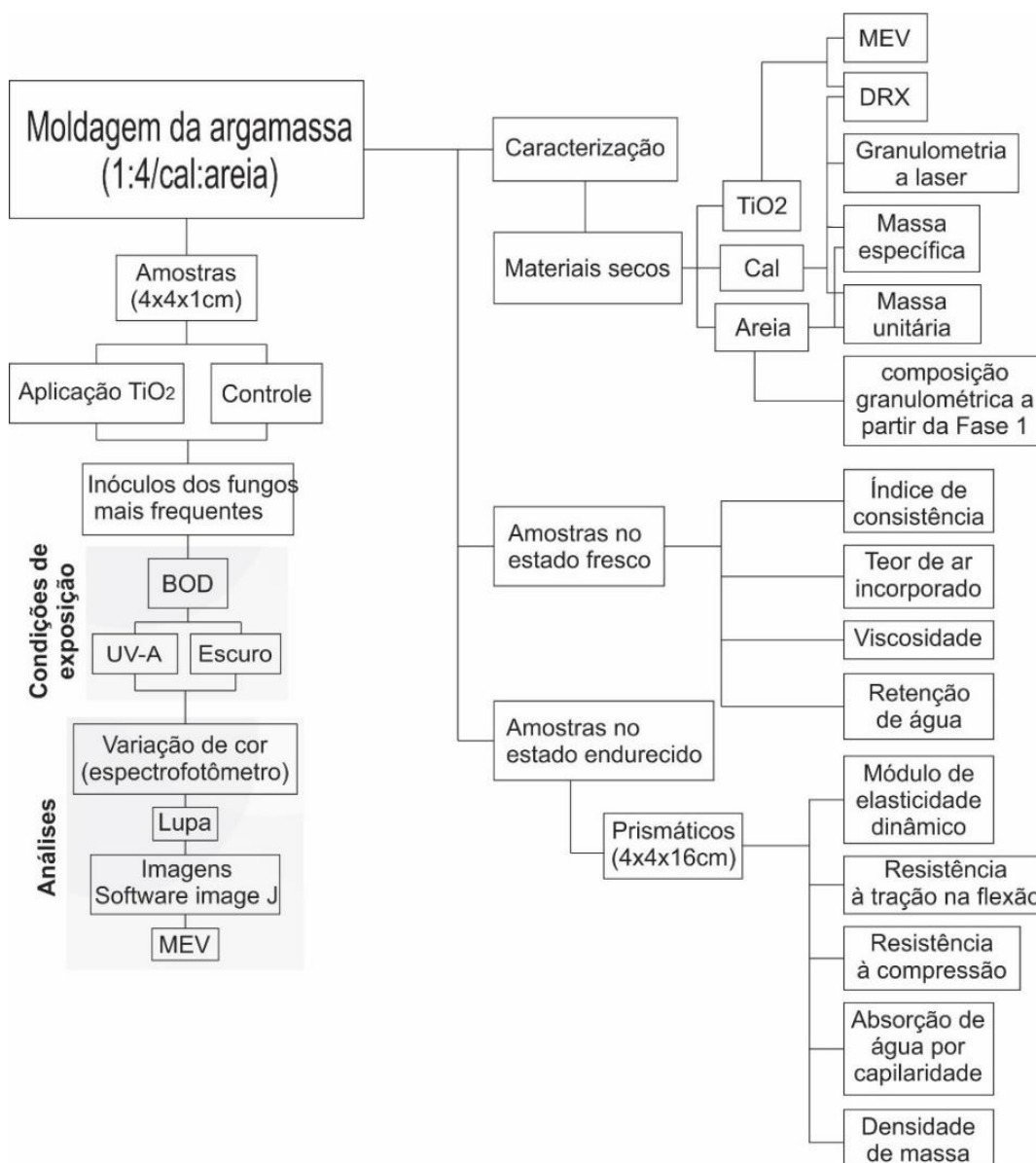
Outro aspecto importante a destacar é que a contaminação por fungos nas superfícies dos materiais quase sempre está associada ao manchamentos de coloração intensa e escura. No entanto, verificou-se neste trabalho, que mesmo coletas realizadas em superfícies deterioradas e com depósitos claros, resultaram no crescimento intenso de colônias de coloração clara, tais como do fungo *Acremonium*, identificado com frequência em diversos ambientes, incluindo o ambiente 4, onde não havia manchamento escuro na superfície, tornando evidente a importância da aplicação de métodos biológicos para caracterização destas manifestações patológicas. Este fungo mostra-se prejudicial à saúde quando da exposição prolongada, resultando em reações alérgicas (Sedlbauer, 2001). O fungo *Acremonium*, assim como o *Fusarium* e o *Cladosporium*, necessita de a_w superior a 0,85 (Sterflinger *et al.*, 2018a).

3.3 FASE 2 – ANÁLISE EM LABORATÓRIO A PARTIR DA CARACTERIZAÇÃO DA EDIFICAÇÃO HISTÓRICA (CASA GODOY)

A partir dos ensaios de caracterização realizados nas amostras extraídas da edificação histórica, bem como dos fungos identificados na etapa anterior (Fase 1), foi definida a Fase 2 deste trabalho, descrita neste capítulo e cujas etapas são mostradas esquematicamente na Figura 63.

Foram moldadas amostras de argamassa de composição similar às históricas, inoculadas com os isolados fúngicos selecionados. A partir destas amostras foram desenvolvidas análises, sob condições controladas de UR, temperatura e incidência de luz UVA, para verificação da eficiência do TiO_2 com relação ao crescimento destes fungos filamentosos para as condições de ensaio propostas.

Figura 63 – Fluxograma das etapas da Fase 2



Inicialmente foram feitos alguns testes preliminares para avaliação da toxicidade do fotocatalisador com relação aos isolados fúngicos, bem como a verificação da influência da luz UVA com relação à esporulação e crescimento das colônias. A seguir são descritas cada uma das etapas desenvolvidas.

3.3.1 Avaliação da toxicidade do fotocatalisador quanto a isolados fúngicos

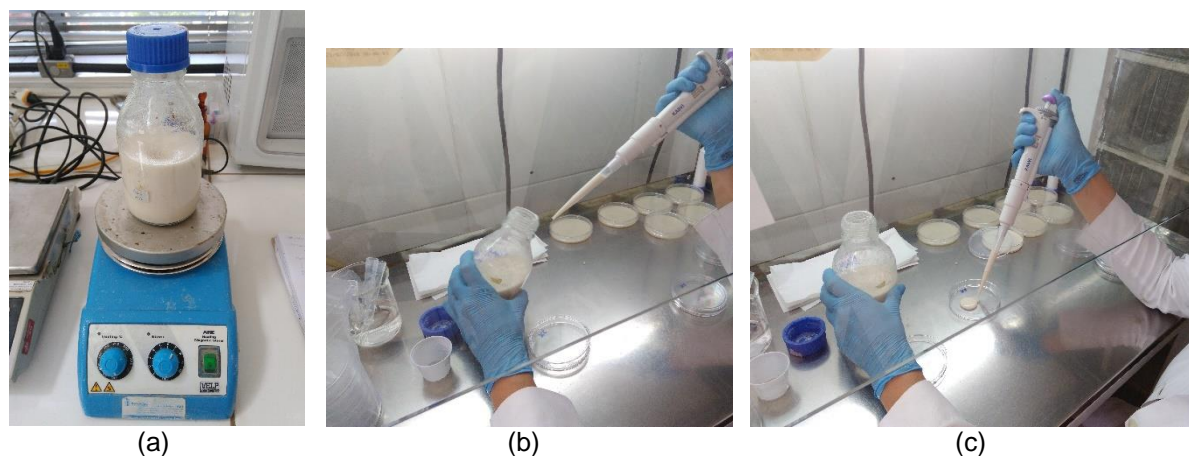
Durante o desenvolvimento do trabalho, considerou-se importante a avaliação da influência do TiO_2 com relação aos principais isolados fúngicos selecionados, sem a interferência dos substratos em argamassa, propostos para o estudo.

Com o objetivo de avaliar a influência de 3 diferentes concentrações de TiO_2 P-25 (1%, 3% e 5%) para os isolados de *Aspergillus niger*, *Purpureocillium Lilacinum* e *Cladosporium Sphaerospermum*. Foram consideradas condição de exposição à luz UVA e condição de escuro.

Realizou-se a renovação das colônias dos três fungos isolados em meio nutricional Ágar Sabouraud. Os isolados foram repicados com auxílio de *swab* estéril, através do esfregação de micélio coletado, permitindo o crescimento em toda superfície do meio nutriente. Foram feitas três repetições para cada isolado. As placas foram dispostas em estufa à 25°C para crescimento ótimo até o quinto dia.

Preparou-se cerca de 450mL de meio nutriente Ágar Sabouraud. Em seguida à autoclavagem, com o meio ainda em estado líquido, foram sendo adicionadas alíquotas do TiO_2 . Iniciou-se pela concentração de 1%, com relação à massa total do meio nutriente. O fotocatalisador era adicionado e, em seguida, promovida a agitação em agitador magnético com aquecimento à 100°C por 10 min. Foi pipetado 15mL em placas de Petri, totalizando seis repetições. Em seguida, corrigiu-se o percentual de TiO_2 para 3% da massa inicial do meio nutriente. Logo foi feita nova agitação magnética por 10 min, com temperatura de 100°C. Outras seis placas foram vertidas com 15mL de meio nutriente e 3% de TiO_2 . Por último, foi adicionada alíquota restante para completar 5% de TiO_2 com relação à massa inicial do meio nutriente. Novamente foi feita agitação, sob as mesmas condições, e o meio suplementado com TiO_2 vertido em outras seis repetições de placas de Petri (Figura 64). O plaqueamento foi realizado dentro de câmara de fluxo laminar.

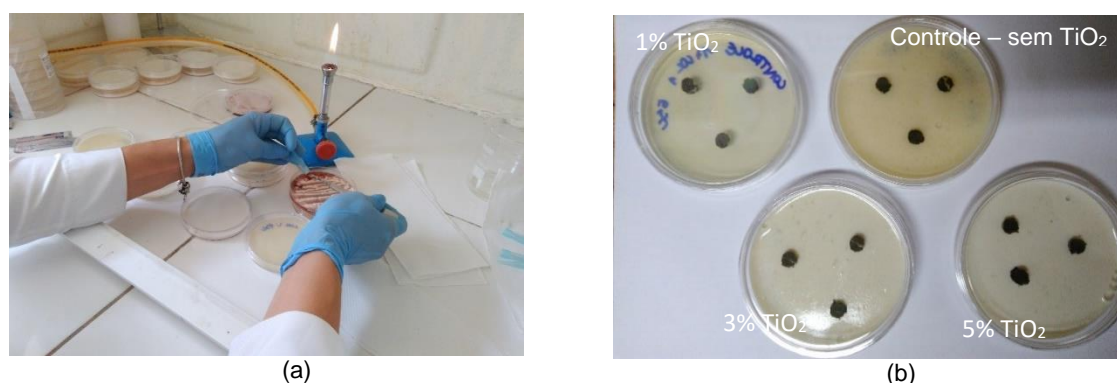
Figura 64 – Preparo do meio nutriente suplementado com TiO_2 : a) agitação magnética com aquecimento; b) pipetagem do meio nutriente com TiO_2 ; c) disposição de 15mL do nutriente em placa de Petri



As placas com os meios nutrientes e as diferentes concentrações de TiO_2 permaneceram em repouso no interior da câmara para solidificação.

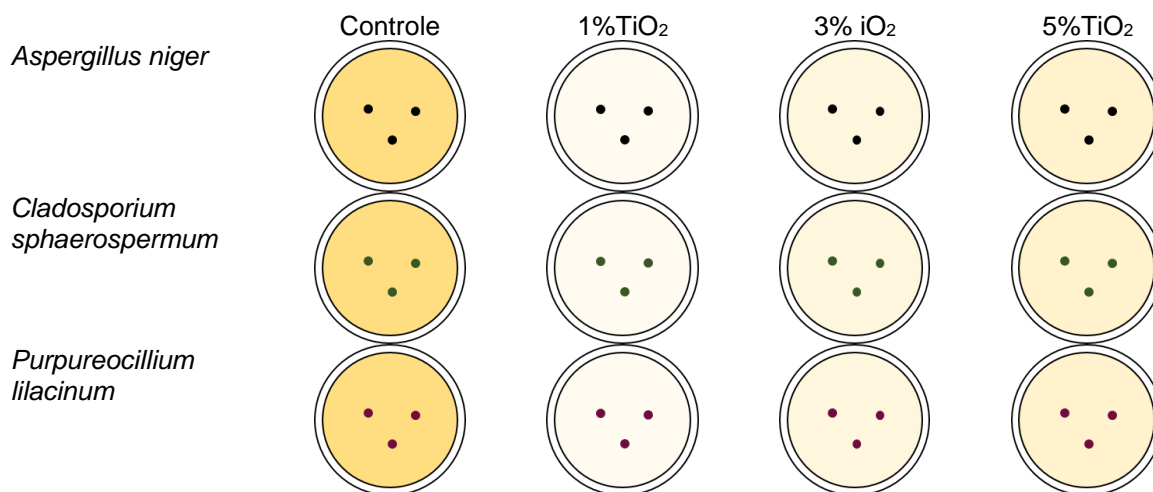
A partir das placas de crescimento das colônias dos isolados selecionados, com auxílio de ponteiros plásticos estéreis, foram recortados pequenos discos, menores que 8mm de diâmetro, dos micélios de cada fungo. Em cada placa com meio nutricional e para cada uma das três diferentes concentrações, além da condição controle (sem TiO_2) foram dispostos três diâmetros do micélio recortado em posição equidistante (Figura 65).

Figura 65 – Extração do micélio para disposição na placa com meio nutriente e diferentes teores de TiO_2 : a) recorte do micélio com ponteira plástica estéril; b) diâmetros de micélio recortados e dispostos nas placas com diferentes teores de TiO_2



As amostras foram, portanto, avaliadas para três diferentes isolados, em três diferentes concentrações (1%, 3% e 5%), além de placa controle, contendo apenas meio nutricional, sem o TiO_2 (Figura 66).

Figura 66 – Configuração do experimento para condição de exposição à luz e para condição de escuro



Foram produzidas repetições para avaliação em duas condições:

- 1) em câmara climatizada, condição de escuro;
- 2) em câmara climatizada, exposição a fotoperíodo de 2 horas diárias com utilização de lâmpada (Black light 24W - PL-L 24W/10 4P – PHILIPS), intervalo 364-384nm, para ativação do fotocatalisador.

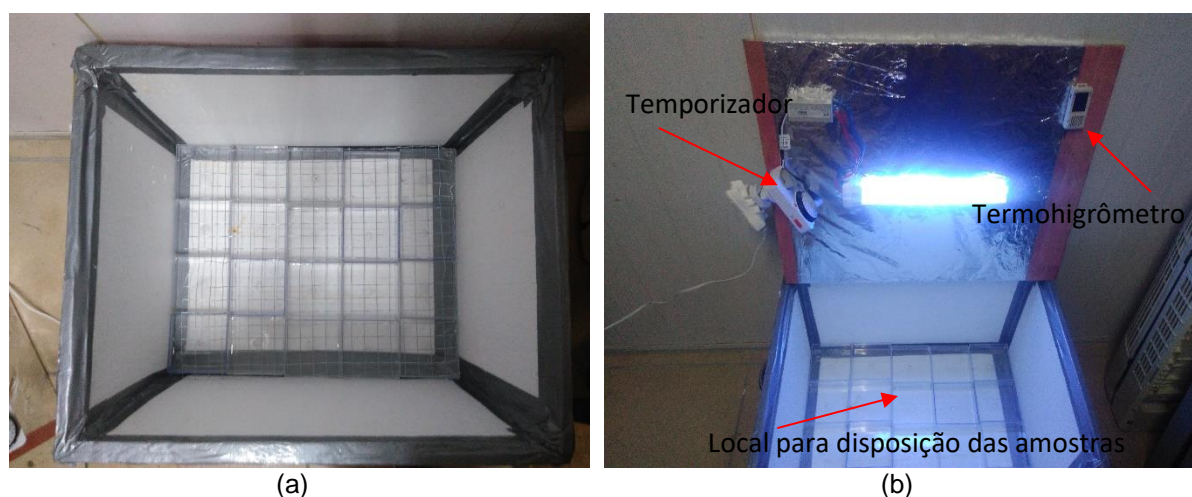
Na condição de escuro, as amostras foram dispostas no interior de um ambiente climatizado, com UR média de 85% e temperatura média de 23°C. A Figura 67(a) mostra a disposição das amostras a serem ensaiadas em prateleira no interior do ambiente climatizado antes de serem recobertas. A Figura 67(b) mostra as mesmas amostras, cobertas durante o ensaio para a condição de escuro.

Figura 67 – Amostras dispostas em câmara para execução de ensaio na condição de escuro: a) amostras dispostas para execução do ensaio; b) amostras cobertas durante a execução do ensaio



Para a avaliação das amostras, sob exposição de lâmpada UVA, foi construída uma câmara em madeira compensada, revestida com lâminas de isopor nas faces internas. Os cantos foram vedados com fita adesiva *Silver Tape*. No interior da câmara foram dispostos recipientes preenchidos com água. Acima dos recipientes, dispôs-se de uma tela metálica para suporte das 12 placas de Petri a serem avaliadas. A água adicionada no interior das caixas, contribuiu para o equilíbrio das condições microclimáticas durante a execução da análise. As condições de UR e temperatura foram registradas durante todo o experimento. A caixa foi constituída de uma tampa de fechamento superior. Na sua face interna foi fixada a lâmpada UVA conectada a um temporizador analógico. O temporizador foi configurado para que a lâmpada permanecesse acesa durante duas horas diárias (Figura 68).

Figura 68 – Câmara para avaliação das amostras sob incidência de luz UVA: a) interior da câmara revestido com isopor e vedado com fita *Silver Tape*; b) Lâmpada fixada a parte inferior da tampa, conectada à temporizador analógico, disposição de termohigrômetro



As amostras foram monitoradas e os diâmetros medidos por um período de 4 dias.

3.3.2 Verificação da influência da luz UVA no crescimento de fungos

Esta análise foi desenvolvida em etapa anterior à coleta e caracterização dos fungos presentes na edificação histórica estudada (Casa Godoy). Desta forma, foram selecionados fungos filamentosos isolados de uma coleta anterior, em etapas preliminares a este trabalho, a partir de outra edificação histórica, localizada em Porto Alegre. Estes isolados foram identificados apenas em nível de gênero.

O ensaio desenvolvido foi uma adaptação do método descrito em García-Cela *et al.* (2015). Foi avaliada a influência da luz UVA quanto aos isolados de fungos, *Cladosporium* e *Penicillium*, para quatro diferentes tempos de exposição à irradiação e posterior incubação em estufa para verificação da influência da luz na esporulação e crescimento do micélio. Considerando que a luz UVA fornece a energia necessária para ativação do *bandgap* do TiO_2 (3,2eV), teve-se por objetivo verificar se, mesmo sem a utilização do fotocatalisador, a luz proporcionaria alguma influência quanto ao crescimento destes fungos.

A partir de placas de crescimento de isolados dos fungos *Cladosporium* e *Penicillium*, foi feita uma suspensão com contagem de esporos, concentração 10^6 esporos/mL. Foi inoculado 5 μ L no centro de placas de Petri contendo meio nutricional mínimo (Meio de Cove).

Foram considerados quatro diferentes tempos de exposição à luz UVA; 1 hora, 2 horas, 4 horas e 6 horas. Foram feitas triplicatas para cada um dos dois fungos. A análise foi desenvolvida em equipamento *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) com UR média de 85% e temperatura média de 25°C com a lâmpada UVA instalada. Foi realizada a medição da intensidade da incidência de luz com auxílio de Medidor de Luz UV (Instrutherm).

Foram ainda produzidas triplicadas-controle (ausência de luz), dispostas às mesmas condições ambientais de umidade relativa (UR) e temperatura.

Em seguida que foi realizada a inoculação, o conjunto de placas do mesmo fungo foi disposto na BOD para início da exposição. Completada uma hora de exposição, uma primeira triplicata foi conduzida à incubadora. O procedimento se repetiu após duas, quatro e seis horas de exposição, onde as triplicatas de cada período eram retiradas e conduzidas à incubadora. As placas foram monitoradas quanto ao crescimento radial das colônias e fotografadas periodicamente, a cada 24 horas, por duas semanas.

3.3.3 Preparo da suspensão de esporos dos isolados mais frequentes a partir da Fase 1 para inóculo em substrato de argamassa

Com o objetivo de avaliar a eficiência do fotocatalisador quanto ao crescimento fúngico em argamassas típicas de edificações históricas, foram selecionados sete isolados a partir das coletas realizadas na edificação histórica. O critério de seleção levou em conta a frequência em que foram identificados a partir das amostras, bem como a coloração das colônias. Considerando que o substrato a ser analisado é de argamassa de coloração branca, para avaliação de forma isolada, foram selecionados dois fungos de intensa pigmentação, tais como o *Aspergillus niger* e o *Purpureocillium lilacinum*. Para os demais fungos selecionados para composição do consórcio, também se levou em conta a frequência nas amostras analisadas, além de serem fungos tipicamente verificados como deteriorogênicos, sendo frequentemente mencionados nos referenciais teóricos. A Tabela 26 mostra a relação dos isolados selecionados.

Tabela 26 – Isolados selecionados para inóculo nas amostras de argamassa

Isolado Fúngico	Condição de inoculação	Identificação e número da coleta
<i>Aspergillus niger</i>	Isolado 1	25 col2
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Isolado 2	2 col2
<i>Fusarium</i> sp.	Consórcio	10 col1
<i>Cladosporium</i> sp.	Consórcio	16 col1
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Consórcio	17 col1
<i>Trichoderma atroviride</i>	Consórcio	1 col2
<i>Acremonium</i> sp.	Consórcio	6 col2

A partir dos isolados selecionados foi preparada uma suspensão de esporos, concentração 10^6 esporos/mL, conforme protocolo utilizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS-UFRGS).

Para os fungos *Aspergillus niger* e *Purpureocillium lilacinum* foram, portanto, preparadas suspensões isoladas de cada espécie. Para os demais fungos foi feito um consórcio, realizando a quantificação de modo a obter uma concentração final de 10^6 esporos/mL de cada fungo para o volume final.

Para a realização do experimento, inicialmente foram renovadas as culturas dos isolados fúngicos em meio nutricional Ágar Sabouraud em placas de Petri.

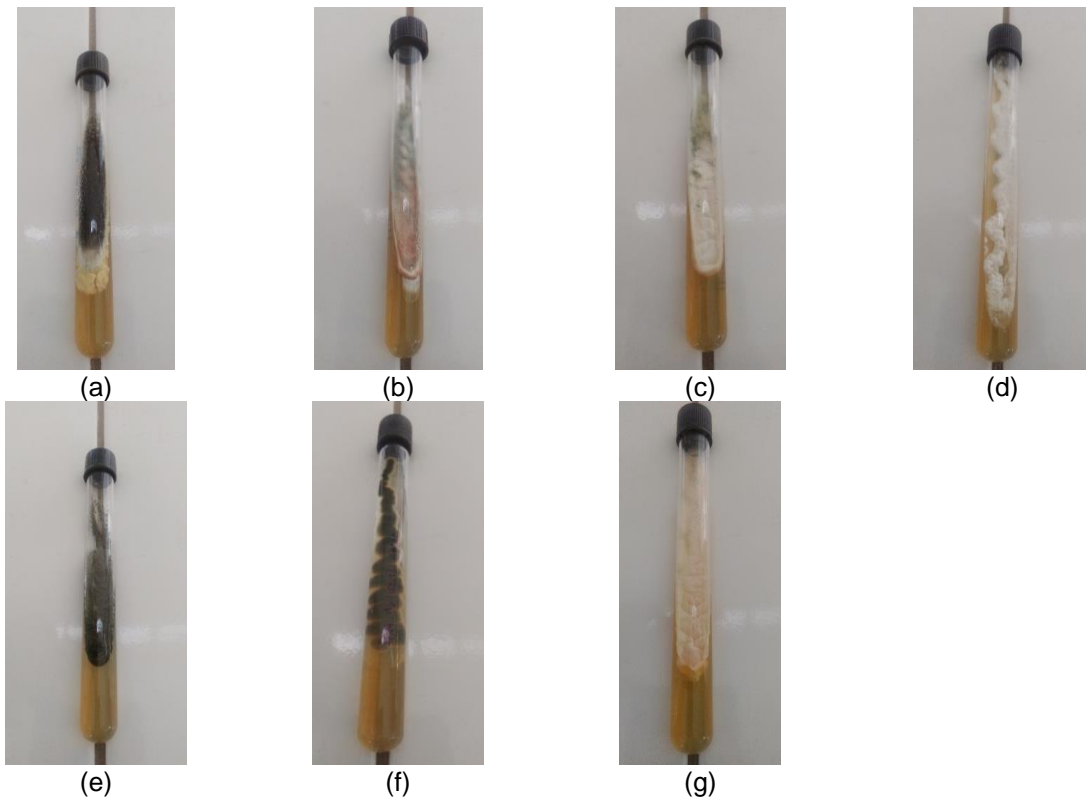
Os novos isolados foram, então, cultivados em tubos de ensaio de vidro autoclavados e vedados com tampa rosca, contendo 10mL de meio Sabouraud Dextrose Ágar, solidificado em posição inclinada de forma a dispor uma maior área de crescimento às colônias. Foram preparados 5 tubos para cada um dos isolados (Figura 69).

Figura 69 – Preparo de meio nutricional para suspensão de esporos: a) meio em processo de solidificação inclinada na bancada; b) meio pronto para inóculo do isolado



A Figura 70 mostra os tubos de crescimento para cada colônia de isolado fúngico selecionado. As amostras foram encubadas em estufa à 25°C por seis dias.

Figura 70 – Isolados fúngicos para suspensão de esporos: a) *Aspergillus niger*; b) *Purpureocillium lilacinum*; c) *Trichoderma atroviride*; d) *Acremonium* sp.; e) *Cladosporium Sphaerospermum*; f) *Cladosporium* sp.; g) *Fusarium* sp.



A etapa seguinte consistiu em adicionar cerca de 3mL de solução Tween 0,01% em cada um dos tubos contendo os isolados. Foi feita a agitação manual do tubo para soltura dos esporos. A suspensão em seguida foi vertida em tubo Falcon estéril e devidamente identificado. Este processo foi realizado para cada uma das cinco repetições de cada isolado, sendo obtido cerca de 15mL de suspensão concentrada de esporos para cada fungo.

Para contagem de células em câmara de Neubauer²² e correção da concentração para 10^6 esporos/mL seguiu-se o seguinte protocolo:

- a) preparou-se 10 *ependorfs* de 2mL para diluições sucessivas de 10^{-1} até 10^{-10} da suspensão concentrada de cada isolado em água destilada estéril;
- b) foi pipetado 900 μ L de água estéril no primeiro *ependorf* e 100 μ L da suspensão concentrada;
- c) agitou-se a suspensão e em seguida foi sendo passado 100 μ L da suspensão, sucessivamente, para os *ependorfs* seguintes, resultando na diluição. Cuidou-se para que fosse realizada corretamente a agitação antes da transferência para o *ependorf* seguinte;
- d) para cada isolado foi escolhida uma diluição inicial para contagem, geralmente em torno de 10^{-2} ou 10^{-3} ;
- e) pipetou-se cerca de 50 μ L em cada lado da lâmina da Câmara de Neubauer;
- f) a câmara era, então, conduzida para contagem em microscópio óptico;
- g) contou-se cinco áreas referentes a um dos lados da câmara, conforme demarcado em azul na Figura 71.

²² Lâmina grossa de vidro. Dimensões: 30 x 70 mm e 4 mm de espessura. É composta por duas câmaras (independentes), uma superior e uma inferior. Cada uma possui uma grade no centro, onde a contagem celular é realizada.

Figura 71 – Câmara de Neubauer e área de contagem considerada na câmara



- h) a correção a partir da contagem para obtenção da concentração de 10^6 esporos por mL foi feita conforme a seguinte correlação:

Contagem Total = nº de células totais/5 (número de espaços contados na câmara), multiplicado pela diluição utilizada para contagem na câmara e multiplicado por 10^4 (fator de correção da câmara).

- i) para o cálculo da diluição utilizou-se a (Equação 4).

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde:

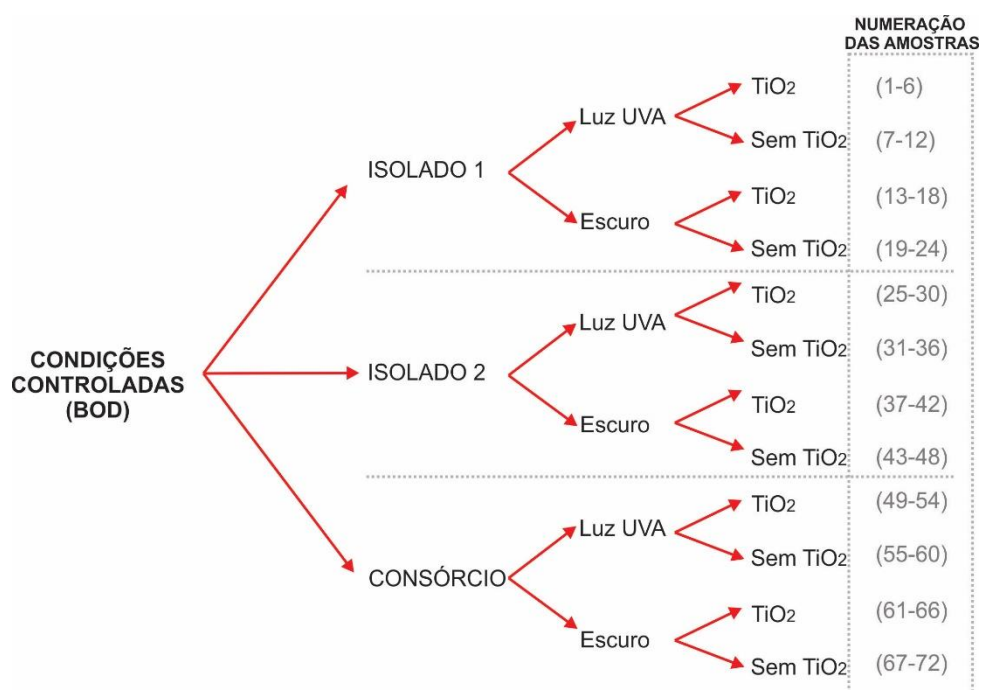
- C_1 – concentração inicial (verificada na contagem)
- V_1 – volume inicial (a descobrir)
- C_2 – concentração desejada, neste caso 10^6
- V_2 – volume final (desejado)

Para cada inóculo foi preparado um volume de 60mL de suspensão 10^6 esporos/mL. Volume suficiente para disposição no total de amostras de argamassa, com dimensão da superfície de 4x4cm, a serem inoculadas e analisadas.

3.3.4 Condições de exposição das amostras

Considerando os aspectos a serem analisados foi composta uma matriz experimental, conforme mostrado na Figura 72. Levou-se em conta o número de repetição de amostras, os isolados a serem analisados, bem como as condições de exposição em microclima controlado em equipamento BOD.

Figura 72 – Matriz das amostras dispostas em condições controladas (BOD)



Considerando esta disposição foram obtidas:

- condição de exposição controlada de UR, temperatura e incidência de luz UVA (em BOD);
- inóculos com dois diferentes isolados fúngicos, além de um consórcio de cinco diferentes isolados;
- aspersão, ou não, do fotocatalisador em água deionizada, concentração 3%;
- exposição à luz ou em condição de escuro.

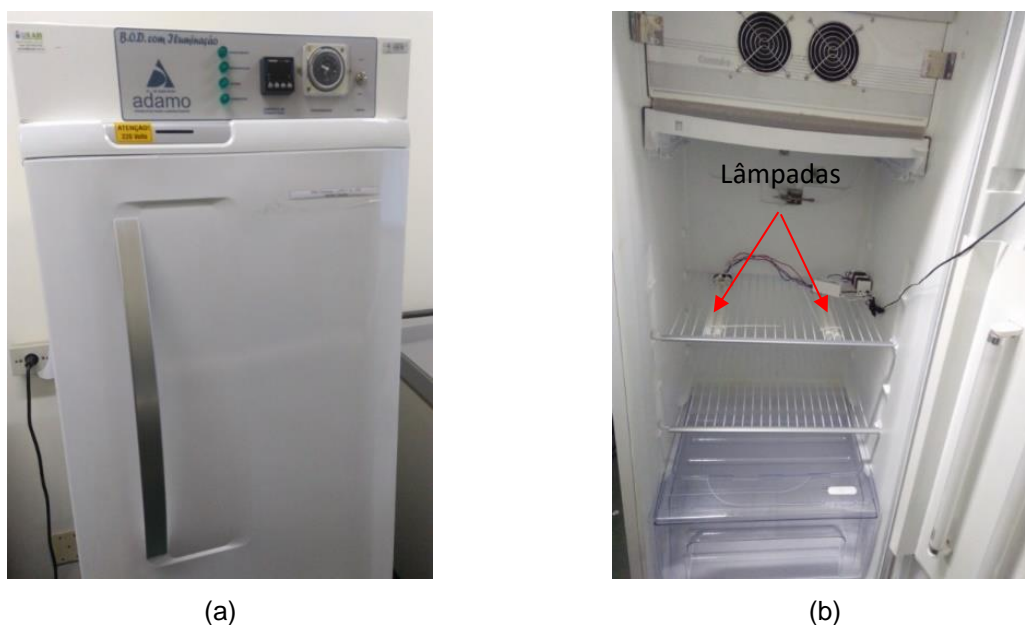
3.3.5 Instrumentação da incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (BOD)

O equipamento utilizado para o desenvolvimento das análises da Fase 2, em condições controladas de UR, temperatura e incidência de luz, foi uma incubadora do tipo BOD com capacidade total de 340L, dimensões internas 1,51x0,53x0,44m com faixa de temperatura de 5 a 55°C, precisão de 0,3°C e sistema de ventilação por fluxo laminar compressor.

O equipamento foi modificado para a instalação de duas lâmpadas do tipo Black Light 24w – PL-L 24W/10 4P, interligadas ao sistema de controle de fotoperíodo, de modo a fornecer incidência lumínica, no comprimento de onda UVA, em ciclos de tempo pré-definidos, de modo preciso durante todo o experimento.

Para a manutenção da UR necessária para manutenção dos fungos em estudo, utilizou-se de um tanque existente na parte inferior do equipamento, o qual foi preenchido com 30L de água destilada. Através de marcação no recipiente, se observou para que o nível de água se mantivesse inalterado. A Figura 73(a) mostra a parte externa do equipamento, com o visor de controle da UR e temperatura, além do controlador de fotoperíodo. A Figura 73(b) mostra o interior da BOD, com as duas lâmpadas instaladas, bem como recipiente inferior preenchido com água destilada. Na parte interior da porta do equipamento foi fixado um sensor de registro de UR e temperatura para que fosse possível obter informações constantes do microclima no interior durante o experimento.

Figura 73 – Equipamento BOD para experimento com controle de UR, temperatura e luz a) parte externa da BOD b) parte interna do equipamento



Para ativação do fotocatalisador foi utilizada lâmpada (Black light 24W - PL-L 24W/10 4P – PHILIPS), intervalo 364-384nm. Foi realizado um ensaio com Espectrorradiômetro ASD, no Instituto de Geociências da UFRGS, para a verificação do espectro de comprimento de onda desta lâmpada, de forma a comprovar sua

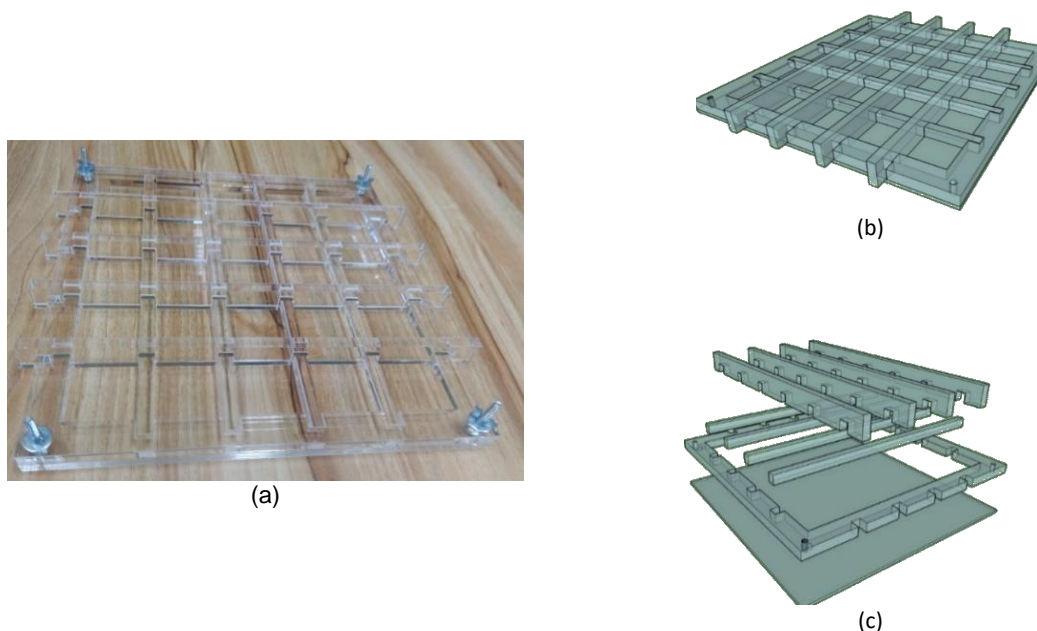
eficiência quanto à emissão de energia necessária para ativação do *bandgap* do fotocatalisador.

3.3.6 Moldagem das amostras de argamassa

Considerando os resultados obtidos na caracterização das amostras extraídas da edificação histórica, foi definida a confecção de uma argamassa simples de cal hidratada CH-I e areia quartzosa de módulo de finura médio, com traço em massa 1:4 (cal:areia).

Foram confeccionados quatro jogos de fôrmas desmontáveis em material acrílico para a moldagem de amostras de dimensão 4x4x1cm. A dimensão das amostras foi definida considerando uma área de superfície de exposição adequada às características das análises (Figura 74).

Figura 74 – Fôrmas acrílicas para moldagem das amostras. a) Imagem das fôrmas; b) graficação tridimensional – projeto; c) Partes desmontáveis da fôrma - projeto



Para moldagem das amostras não foi feito uso de desmoldante, evitando-se, assim, a contaminação das superfícies. Portanto, todas as fôrmas utilizadas foram revestidas com plástico filme, permitindo sua remoção sem alteração superficial. Foram

moldadas também amostras cilíndricas de pequenas dimensões ($d \approx 1\text{cm}$, espessura $\approx 0,3\text{cm}$) para posterior análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para esta moldagem foram utilizadas cartelas descartáveis de medicamento em comprimido.

Todos os materiais secos utilizados na composição das amostras, tais como a cal hidratada, a areia e o TiO_2 , foram devidamente caracterizados, conforme descrito na Tabela 27.

Tabela 27 – Ensaio de caracterização dos materiais secos a serem realizados

	CAL HIDRATADA CH-I	AREIA	TiO_2
ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO MATERIAIS SECOS	Massa unitária NM 45 (ABNT, 2006)	Massa unitária NM 45 (ABNT, 2006)	Especificações do fabricante (Aeroxide P-25)
	Massa Específica NM 23 (ABNT, 2001)	Massa específica NM 52 (ABNT, 2009)	DRX
	Granulometria a laser	Distribuição granulométrica conforme média das amostras obtidas na Fase 1	MEV
	DRX		

Foi realizada a identificação e quantificação das partículas da cal hidratada, através do ensaio de granulometria a laser, nos diâmetros entre $0,04\mu\text{m}$ e $2500\mu\text{m}$. O material em pó foi passado em peneira de malha $300\mu\text{m}$ e encaminhado ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da UFRGS. Utilizou-se o equipamento CILAS 1180, adotando-se como solvente a água, sem adição de dispersantes. Foram aplicados quatro diferentes tempos de ultrassom, 30, 60, 120 e 180 segundos.

Foram moldagens amostras de dimensão $(4 \times 4 \times 1\text{cm})$ para serem avaliadas a partir da inoculação de dois isolados fúngicos (*Aspergillus niger* e *Purpureocillium lilacinum*) e consórcio de cinco isolados (*Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Acremonium* sp. e *Trichoderma atroviride*).

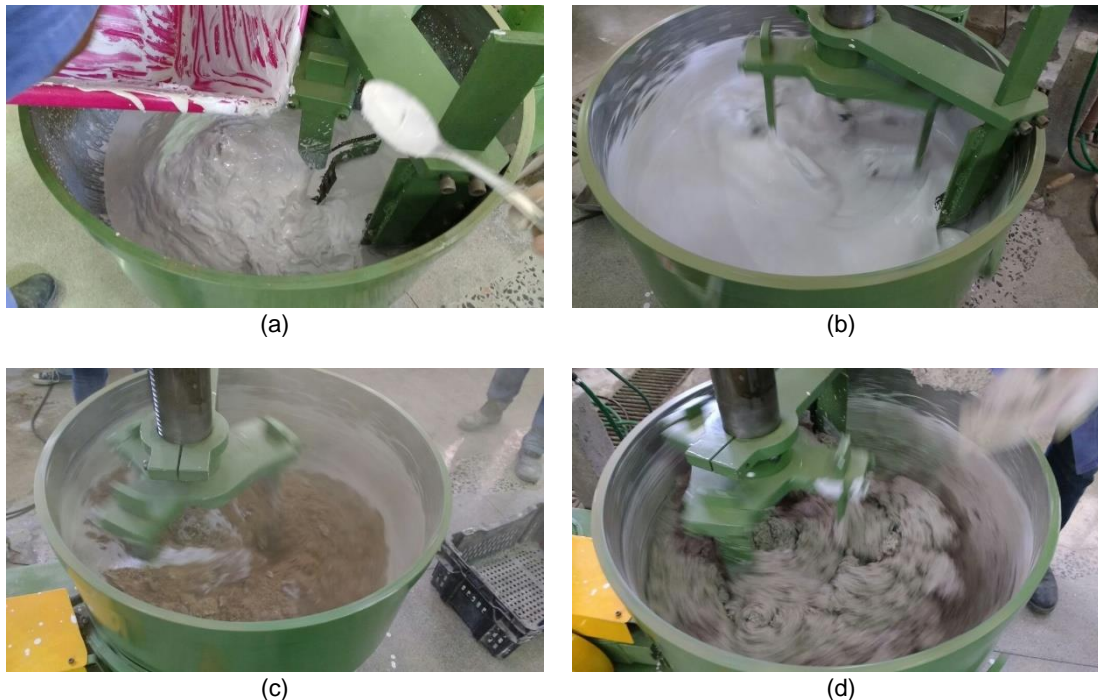
A moldagem foi realizada em março de 2017. Foi realizada a mistura da massa de cal a uma quantidade mensurada de água e disposta à maturação por 15 dias. Deixou-se um filme de água de cerca de 3cm de altura acima da pasta de cal resultante e vedou-se a caixa com sacos plásticos. Após a maturação, antes do início da mistura para

composição da argamassa, o conjunto, caixa plástica e a pasta de cal, foi pesado para verificação de perda de água durante este processo.

A areia utilizada foi peneirada, compondo módulo de finura médio, considerando as curvas granulométricas obtidas a partir das amostras extraídas da casa histórica. A areia foi previamente lavada e seca em estufa.

Para a mistura da pasta de cal com a areia foi utilizada uma betoneira de eixo vertical, capacidade 100L. Inicialmente foi adicionada a cal em pasta, misturando-se por 30 segundos. Em seguida, aos poucos, foi sendo adicionada a areia, até a completa homogeneização (Figura 75). Corrigiu-se a água, com a adição de 9,11L, até que fosse atingido um índice de consistência de 250 ± 20 mm em mesa de consistência manual. Separou-se uma porção do material para execução dos ensaios no estado fresco e o restante foi utilizado na moldagem dos corpos de prova e amostras 4x4x1cm.

Figura 75 – Etapas de mistura da argamassa: a) adição da cal em pasta na betoneira; b) mistura da cal em pasta; c) adição da areia; d) mistura da argamassa



Durante a moldagem foram determinados: o índice de consistência, viscosidade, teor de ar incorporado e retenção de água na mistura. Foram moldados 24 corpos de prova (cp's) prismáticos (4x4x16cm) para caracterização no estado endurecido, 100

amostras (4x4x1cm) e 60 pequenas amostras para microscopia eletrônica de varredura (MEV), considerando eventuais perdas.

Após moldagem as amostras foram cobertas com pano de algodão umedecido e permaneceram em temperatura ambiente até desmoldagem, ao final de 7 dias.

Após a desmoldagem um lote dos corpos de prova (4x4x16cm) foi conduzido à câmara climatizada para cura até idade de 91 dias e os demais corpos de prova, conjuntamente às amostras para utilização nos ensaios para verificação do TiO_2 contra os isolados fúngicos foram conduzidos à uma câmara de carbonatação (5% de CO_2).

A Figura 76 (a) e (b) mostram a etapa de moldagem e as amostras já desmoldadas após a cura, respectivamente.

Figura 76 – Moldagem das amostras de argamassa: a) amostras em fôrma acrílica e moldadas em corpos de prova 4x4x16cm para caracterização no estado endurecido; b) amostras após desmoldagem e em cura na câmara climatizada



A Tabela 28 relaciona os ensaios realizados com as normas adotadas como referência, tanto para o estado fresco, quanto para o endurecido. Foram moldadas seis repetições de corpos de prova para as análises no estado endurecido.

Tabela 28 – Ensaios de caracterização de argamassa no estado fresco e endurecido

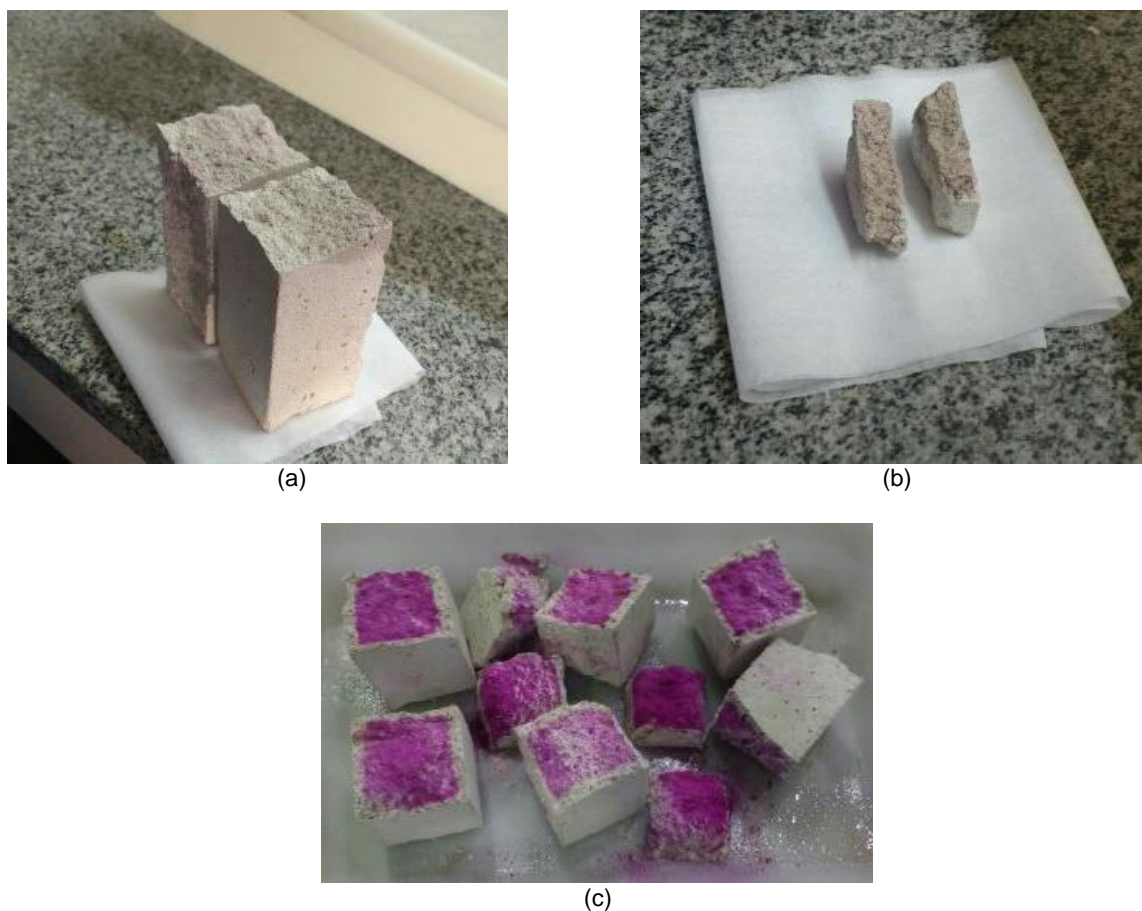
	Argamassa no estado fresco	Argamassa no estado endurecido Idade: 91 dias e pós câmara de carbonatação
CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS MOLDADAS	Índice de consistência NBR 13276 (ABNT, 2002)	Módulo de elasticidade dinâmico NBR 15630 (ABNT, 2008)
		Densidade de massa NBR 13280 (ABNT, 2005)
	Teor de ar incorporado NBR 13278 (ABNT, 2005)	Absorção por capilaridade NBR 15259 (ABNT, 2005)
	Retenção de água NBR 13277 (ABNT, 2005)	Resistência à tração na flexão NBR 13279 (ABNT, 2005)
	Viscosidade (reologia)	Resistência à compressão NBR 13279 (ABNT, 2005)

Com base em metodologia proposta por Shirakawa *et al.* (1999), as amostras (4x4x1cm) moldadas para serem utilizadas nas análises biológicas com relação ao fotocatalisador, foram dispostas em câmara de carbonatação à 5% de CO₂ e 80% UR por um período de 10-56 dias, até completa carbonatação (Figura 77). A realização da carbonatação é essencial para a redução do pH, favorecendo o crescimento biológico, necessário para o desenvolvimento das análises. O grau de carbonatação foi verificado através de teste com fenolftaleína (1%) como indicador de pH. Algumas amostras extras foram fragmentadas e após a aspersão da solução, o surgimento da coloração rosa carmim indicava a não completa carbonatação, já o contrário, ou seja, a ausência de coloração, confirmava a total carbonatação das amostras, estando, portanto, adequada ao prosseguimento das análises (Figura 78).

Figura 77 – Amostras disposta em câmara de carbonatação



Figura 78 – Amostras testadas com fenolftaleína quanto à carbonatação: a) corpo de prova 4x4x16cm; b) amostra de argamassa 4x4x1cm; c) exemplo de amostras de argamassa com o interior não carbonatado



3.3.7 Determinação da concentração e método de dispersão das partículas de TiO_2

O fotocatalisador utilizado na pesquisa foi o TiO_2 Aeroxide P-25, material nanométrico, amplamente estudado. Diferentes métodos de dispersão, aplicação e concentração deste material já foram avaliados e descritos pela pesquisa em âmbitos nacional e internacional, não havendo ainda um consenso, considerando os diferentes substratos e finalidades de aplicação.

No presente trabalho, adotou-se como metodologia a dispersão das partículas de TiO_2 em água deionizada com aplicação de sonda ultrassônica e a aspensão na superfície com auxílio de pistola pressurizada. Optou-se por não utilizar aditivos dispersantes, evitando, assim a inserção de mais uma variável a ser considerada, visto que este produto poderia introduzir elementos de possível influência no desenvolvimento dos fungos.

Para definição da concentração de TiO₂ em água a ser aplicada nas amostras, bem como tempo de dispersão em ultrassom, de forma a reduzir a potencial aglomeração de partículas, desenvolveu-se o seguinte experimento, utilizando-se a caracterização reológica e análises em MEV e lupa estereoscópica como metodologia de análise:

- a) dispersão de duas diferentes concentrações, inicialmente definiu-se as concentrações de 5% e 10% em relação à massa de água, em água deionizada, em quatro diferentes tempos de mistura em ultrassom (30s; 60s; 120s e 180s). O equipamento de ultrassom utilizado foi o *500 Watt ultrasonic processor Sonics®* com amplitude de 20%.
- b) verificação da viscosidade e taxa de cisalhamento através de ensaio de reologia em equipamento rêometro Brookfield R/S Plus, *spindle* do tipo cilindros concêntricos. O equipamento foi programado conforme metodologia aplicada em Vicent *et al.* (2011), de zero à 1000 s⁻¹ em 5 min., mantendo-se em 1000 s⁻¹ por 1 min., retornando de 1000 s⁻¹ a zero em 5 min;
- c) a partir da seleção de dois tempos ótimos de mistura e ultrassom, definidos com base nos resultados do ensaio de reologia, realizou-se a aplicação em amostras de argamassa de composição e proporcionamento iguais aos das amostras utilizadas neste trabalho;
- d) verificação da dispersão em microscopia eletrônica de varredura (MEV), modelo JEOL JSM 6060 e/ou lupa estereoscópica (Zeiss Stemi 508 doc Stereo microscope).

Além desta análise, foram realizados novos testes, com concentrações menores, avaliando a aplicação superficial através de imagens em lupa estereoscópica. Desta forma, optou-se por uma concentração menor, sendo feita a aplicação do TiO₂ em água deionizada com concentração 3% (em relação à massa de água). Para reduzir a aglomeração das partículas de TiO₂ na água foi feita a agitação com sonda ultrassônica por 180s, em equipamento *500 Watt ultrasonic processor Sonics®* com amplitude de 20%.

A suspensão foi aplicada com pistola de pressão para revestimento com tinta (Pistola de Pintura HVLP 1,5mm 600ml de Gravidade PUMA-AS1105) em duas demãos

intercaladas em 24 horas. A pistola foi ligada a um equipamento compressor de ar e a pressão medida com auxílio de barômetro, regulada em 5 Bars.

As amostras foram dispostas em superfície horizontal, ao nível do piso, de forma alinhada, espaçadas em 5cm. Foram dispostas tanto as amostras 4x4x1cm, quanto às amostras destinadas à análise em MEV. Tomou-se o cuidado para que fosse mantida a altura de aplicação em 30cm (+ou- 1cm) (Figura 79).

Figura 79 – Aplicação do fotocatalisador nas amostras



O jato da pistola foi conduzido no sentido horizontal de modo contínuo, tendo-se o cuidado quanto ao controle do tempo de aplicação, fixando em média de 10s para aplicação de cada fileira de amostras.

Finalizada a aplicação das duas demãos, as amostras foram secas à temperatura ambiente e cuidadosamente armazenadas até o desenvolvimento das etapas seguintes de ensaio.

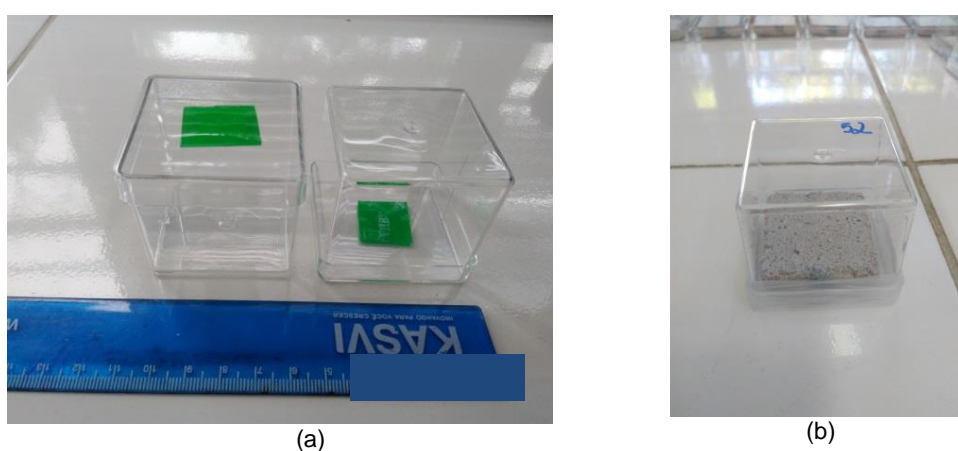
3.3.8 Preparo das amostras pós moldagem, cura e aplicação do TiO_2 para inóculos fúngicos

Verificada a carbonatação total das amostras e após a aplicação do fotocatalisador, estas foram devidamente nomeadas e separadas em lotes, contendo ou não TiO_2 .

As amostras foram cuidadosamente embaladas em sacos especiais para autoclave e esterilizadas à 121°C por 15 min.

Após a autoclavagem, com a finalidade de evitar ao máximo a contaminação das amostras durante a execução das análises, estas foram dispostas individualmente em embalagens acrílicas com tampa. As embalagens foram higienizadas com solução de hipoclorito e álcool 70%. Em seguida foi utilizada uma fita dupla face estrutural para fixação das amostras na embalagem. A fixação das amostras foi necessária para permitir a realização das análises com espectrofotômetro sempre no mesmo ponto de leitura (Figura 80).

Figura 80 – Embalagem acrílica para disposição das amostras a) embalagem com fita dupla face. b) amostra de argamassa fixa na embalagem

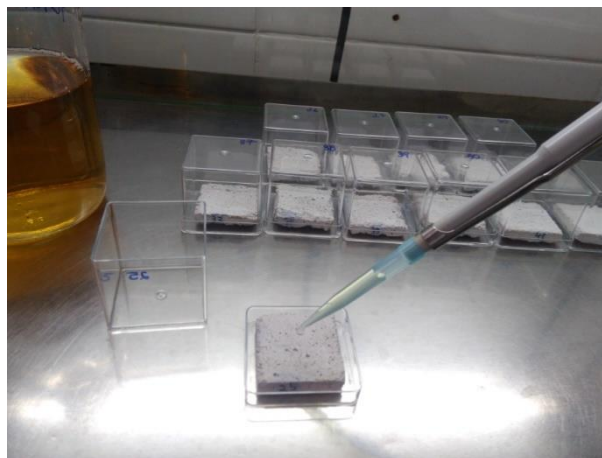


As amostras fixadas aos recipientes permaneceram tampadas até o início do ensaio, sendo posteriormente abertas para exposição à luz UVA.

A disposição no interior das embalagens, das amostras autoclavadas, foi realizada dentro de câmara de fluxo laminar em laboratório de análises biológicas para evitar eventual contaminação.

Em etapa seguinte, foi preparado um meio nutricional líquido (Caldo Sabouraud Dextrose) para o enriquecimento das amostras. Foram pipetados 4mL do nutriente em cada uma das amostras. A aplicação foi realizada em quatro etapas, sendo pipetados 1mL por vez. Desta forma foi possível a absorção total do meio nutriente pela superfície da amostra, sem extravasamento, permitindo que todas fossem enriquecidas com a mesma quantidade de nutriente (Figura 81).

Figura 81 – Aplicação do meio nutricional nas amostras

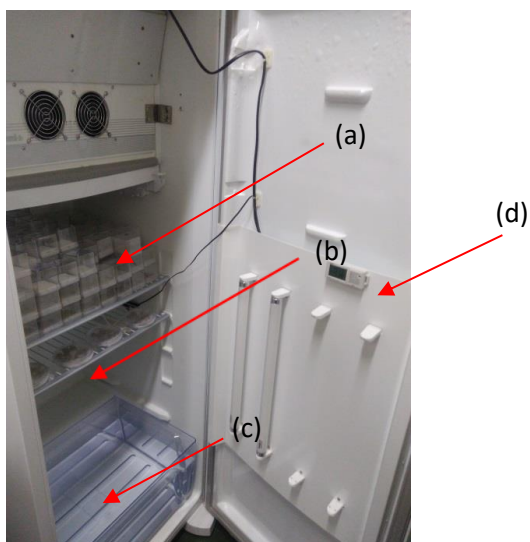


As amostras foram, então, fechadas e secas em câmara climatizada à 80°C por pelo menos 72 horas, conforme sugerido em Shirakawa *et al.* (2003).

As amostras de menor dimensão para análises em MEV foram também enriquecidas com meio nutriente Caldo Sabouraud, sendo mantida a proporção para o volume de nutriente por área de superfície. Foram pipetados 500µL em duas etapas de 250µL, permitindo também a total absorção do meio.

Após enriquecimento as amostras foram dispostas na BOD, com UR (≥90%) à 25°C para aclimação por um período de dez dias (Figura 82).

Figura 82 – Amostras dispostas em BOD para aclimação, (a) amostras 4x4x1cm em caixa acrílica, (b) amostras para MEV em placas de Petri (c) reservatório com água destilada, (d) termohigrômetro



3.3.9 Inoculação e disposição das amostras em BOD

As amostras foram inoculadas uma a uma, com um volume de 1mL de suspensão 10^6 esporos/mL de cada isolado e consórcio, por placa, utilizando uma pipeta automática. Cuidou-se para a homogeneização prévia à cada aplicação. O procedimento foi realizado em capela, próximo à chama de bico de Bunsen. Tomou-se o cuidado para limpeza e esterilização da capela entre as etapas de inoculação dos diferentes isolados. As amostras foram em seguida dispostas em recipientes acrílicos estéreis, vedadas com fita especial *parafilm*.

A disposição de cada conjunto de amostras dentro da incubadora, foi realizada de forma a que todas permanecessem expostas à luz com uma irradiância de luz UVA constante e igual entre si. O conjunto de amostras exposto à luz permaneceu a uma distância de 30cm das lâmpadas, com irradiância média de $2580\mu\text{w}/\text{cm}^2$, verificado periodicamente com o auxílio de Medidor de Luz UVA (Instrutherm).

A Figura 83 mostra as amostras posicionadas no interior da BOD. Foi disposta uma cobertura em papel espesso opaco de cor preta para impedir incidência da luz UVA nas amostras a serem avaliadas em condição de “escuro”, porém mantendo as mesmas condições microclimáticas. Tanto as amostras inoculadas com o Isolado 1, com o Isolado 2 e consórcio, foram ensaiadas conjuntamente dentro do equipamento. Os recipientes com as amostras permaneceram abertos durante todo o tempo de execução de ensaio.

Figura 83 – Amostras dispostas para análise em BOD



As variáveis de resposta esperadas para esta etapa do trabalho foram, portanto:

- a) influência do fotocatalisador quanto ao crescimento de dois isolados fúngicos e consórcio no substrato proposto na presença de luz artificial UVA (BOD);
- b) influência quanto a interação do TiO_2 com os fungos, mesmo em ausência de luz (BOD).

As amostras permaneceram cobertas por sete dias antes do acionamento da lâmpada e início do ensaio para aclimação no equipamento BOD (Figura 84).

Figura 84 – Amostras inoculadas em aclimação na BOD



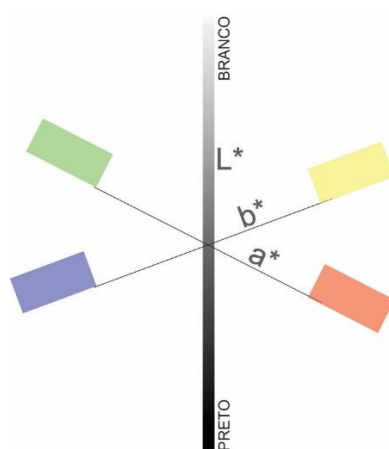
3.3.10 Análise com espectrofotômetro das coordenadas de cor das amostras em BOD

Para verificação da eficiência do fotocatalisador estudado quanto ao crescimento fúngico, um dos métodos utilizados correspondeu à medição da variação colorimétrica ao longo do tempo. Para tal, utilizou-se um espectrofotômetro portátil (modelo Konica Minolta CM 2500d). Este método permite a determinação de coordenadas cromáticas com base na Comissão Internacional de Iluminação ou Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), sendo utilizado em diversos trabalhos (AUSTRIA, 2015; GHERARDI *et al.*, 2014; GOFFREDO *et al.*, 2016; POZO-ANTONIO; DIONÍSIO, 2017; TREVISO, 2016; VÁZQUEZ-NION; SILVA; PRIETO, 2018).

Com base neste sistema, é possível expressar o espaço de cor tridimensionalmente, em coordenadas $L^*a^*b^*$ (Figura 85), onde:

- L^* corresponde à luminosidade;
- a^* corresponde às coordenadas próximas às cores vermelho/verde, sendo “+a” indicação de vermelho e “-a”, indicação do verde;
- b^* corresponde às coordenadas próximas às cores amarelo/azul, sendo “+b” indicação de amarelo e “-b”, indicação do azul;

Figura 85 – Sistema de coordenadas espacial $L^*a^*b^*$



A utilização do espectrofotômetro permite medir a luz refletida por objetos ou superfícies em cada comprimento de onda ou em faixas específicas. A partir disto, é feita a quantificação dos dados espectrais para determinação das coordenadas de cor no espaço $L^*a^*b^*$, apresentando as informações em termos numéricos. A partir destes dados, é determinada a variação de cor ao longo do tempo (ΔE) (GOFFREDO *et al.*, 2016; RUFFOLO *et al.*, 2010), expressa conforme a (Equação 5).

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

ΔE = variação da cor no tempo

$\Delta L^* = L_t^* - L_0^*$

$\Delta a^* = a_t^* - a_0^*$

$\Delta b^* = b_t^* - b_0^*$

Além da variação de cor (ΔE), com base nas análises realizadas por Pozo-Antonio e Dionísio (2017), é possível determinar o valor do croma (C^*_{ab}) a partir das coordenadas de cor a^* e b^* medidas no espectrofotômetro, conforme (Equação 6).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

(Equação 6)

Onde:

C* = medida de croma

a* = medida de cor entre os espectro vermelho-verde

b* = medida de cor entre os espectros azul-amarelo

Neste trabalho, foram considerados para análise com espectrofotômetro, os parâmetros de cor, ΔL^* (variação de luminosidade) e ΔE^*_{Lab} (variação de cor, considerando a luminosidade).

As medidas das coordenadas L* a* b* foram feitas em modo *specular component included* (SCI), com faixa de luz emitido através de abertura fixa de 8mm, sistema de iluminação difusa, 2 flashes de xenônio, 10nm de intervalo de comprimento de onda, conforme especificações do fabricante e utilizado em Pozo-antonio e Dionísio, (2017).

Foram realizadas 10 medições totais para as amostras dispostas na BOD, sendo medidas 65 amostras por medição. Para cada amostra eram realizadas três leituras, totalizando 195 leituras por medição.

Embora o inóculo realizado nos substratos de argamassa tenha seguido o mesmo procedimento para todas as amostras, com controle preciso de volume inoculado e contagem de esporos para cada isolado, o crescimento biológico não ocorreu de modo uniforme nas superfícies. Burford *et al.* (2003) mencionam que a direção de crescimento dos fungos é influenciada pela presença de falhas, saliências e poros no substrato sólido, além de propriedades relacionadas à fragilidade das superfícies minerais. Discorrem, ainda, que a penetração de hifas de fungos na microestrutura das argamassas em revestimentos, observadas em microscopia eletrônica, demonstra sua correlação com a fissuração e desagregação de algumas áreas em revestimentos superficiais.

Desta forma, acredita-se que em função da rugosidade e características superficiais particulares das amostras, embora de mesma composição, no processo de moldagem, resultou em superfícies diferenciadas entre si. Considerando este aspecto e para que fosse possível a observação das alterações ao longo do tempo sempre no mesmo ponto de medição, foi confeccionado um gabarito para disposição do

equipamento sempre no mesmo local, desde a medição inicial, anterior à aplicação do nutriente e inóculo dos fungos.

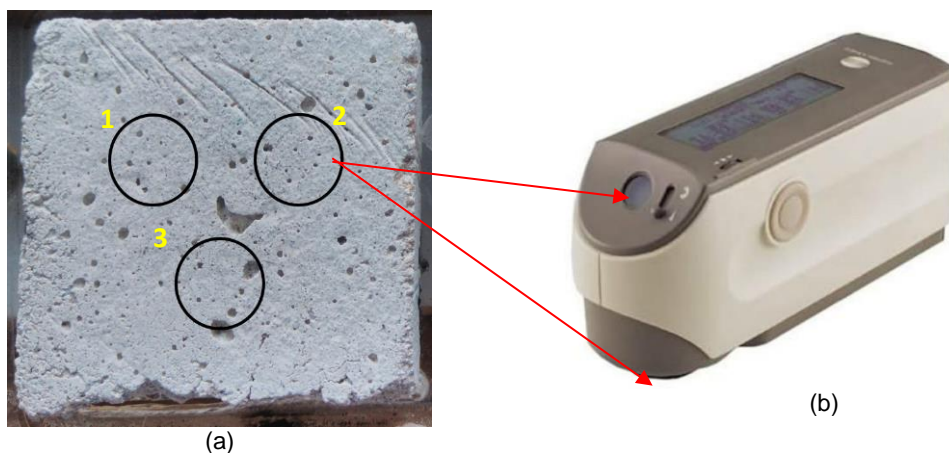
Alguns cuidados foram tomados na confecção do gabarito, visto que este deveria evitar ao máximo o contato com a superfície de crescimento até o final das análises. Desta forma, foi utilizada uma placa de Petri revestida com fita isolante preta, onde foram cortadas aberturas com o diâmetro compatível com a abertura de emissão de luz do espectrofotômetro. Na parte interna da placa foram dispostos anteparos que permitiram o posicionamento das amostras, restringindo sua movimentação durante as medições. As amostras eram então recobertas pelo gabarito, deixando expostos apenas os diâmetros para posicionamento do espectrofotômetro, permitindo a realização da leitura sempre no mesmo local. Foram confeccionados três gabaritos, sendo um utilizado de modo exclusivo para as medições nas amostras inoculadas com o isolado 1, outro para as amostras com o isolado 2 e um terceiro para as amostras inoculadas com o consórcio de fungos (Figura 86).

Figura 86 – Gabarito para medição com espectrofotômetro: a) parte superior para cada uma das condições de inóculo; b) parte inferior com anteparo para fixação das amostras



Como todas as medições foram realizadas nos mesmos três pontos em cada uma das amostras para as diferentes configurações propostas, e, reconhecendo o crescimento heterogêneo dos fungos nas superfícies, a avaliação considerou a evolução das características lidas através do espectrofotômetro ponto a ponto sempre com relação à mesma amostra. Esta determinação prévia dificultou a obtenção de alguns resultados, visto que em algumas amostras, o crescimento fúngico ocorreu fora da área pré-definida. A Figura 87 mostra o posicionamento aproximado dos pontos de medição nas amostras, bem como imagem do equipamento utilizado. Os diâmetros 1, 2 e 3 da amostra, destacados na Figura 87 mostram o local de posicionamento e leitura do equipamento.

Figura 87 – Representação esquemática do posicionamento do espectrofotômetro para medição nos pontos pré-determinados em uma amostra: a) ordenação dos três pontos de medição, com diâmetro correspondente à abertura da lente para emissão do *flash*; b) espectrofotômetro utilizado



3.3.11 Verificação da influência da fotocatalise heterogênea no crescimento de fungos nos substratos de argamassa

Finalizadas as etapas de preparo das amostras de argamassa, preparo de inóculos fúngicos, instrumentação dos equipamentos e disposição das amostras em equipamento com incidência de luz artificial, foram iniciadas as etapas de medição com espectrofotômetro, visualização em lupa estereoscópica e obtenção de imagens para análise em software *ImageJ*. Por fim foram obtidas imagens em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3.3.11.1 Análise de imagens fotográficas

Durante todo o período de execução do experimento e a cada leitura realizada com espectrofotômetro, eram obtidas imagens fotográficas das amostras. Evitando a excessiva manipulação dessas, bem como elevado tempo de exposição fora do equipamento (BOD), as análises em lupa estereoscópica, com obtenção de imagem, foram realizadas apenas no final do experimento, quando as amostras foram retiradas definitivamente do equipamento.

De modo complementar à quantificação da variação de cor ao longo do tempo, realizada com a utilização de espectrofotômetro, utilizou-se o Software *ImageJ*²³ para quantificação das áreas de crescimento fúngico, para as diferentes configurações propostas ao longo do tempo. O software disponibiliza um plugin, *Threshold*, que permite binarizar as imagens em 8 bits, usando vários métodos de limites globais (derivados de histogramas). As imagens são apresentadas em escalas de preto e branco e sua respectiva intensidade de pixels. As imagens foram previamente tratadas para apresentarem a mesma proporção de pixels, permitindo, assim, a comparação quantitativa da área de crescimento.

3.3.11.2 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Por fim, complementando as análises anteriores, foi realizada a análise em MEV nas amostras especificamente moldadas para este fim. As amostras, com diâmetro ~1cm, foram tratadas e inoculadas conjuntamente às demais amostras, seguindo mesma metodologia e expostas às mesmas condições.

Embora moldadas em tamanho reduzido, durante o preparo das amostras foi preciso fragmentá-las em frações ainda menores. Desta forma, os pequenos fragmentos de amostras, de todas as configurações propostas, bem como para todos os inóculos aplicados, foram aderidas aos *stubs* com fita carbono dupla face. Foi analisado 1 exemplar de cada configuração, com 3 ou 4 ampliações (500x, 2.500x, 5.000x e 10.000x), em equipamento Zeiss EVO MA-10. A Tabela 29 mostra a nomenclatura adotada para cada configuração analisada. As amostras foram dispostas para secagem em dessecador com sílica-gel e dispostas em geladeira por 24h para fixação das estruturas fúngicas. Em seguida foram mantidas no dessecador à temperatura ambiente. Finalizado o tratamento das amostras, estas foram reservadas para serem metalizadas à ouro e em seguida encaminhadas à análise e obtenção de imagens em MEV.

²³ *Image J* é um programa computacional *freeware* utilizado em diversas áreas acadêmicas. O *download*, assim como plugins e demais informações podem ser encontrados em www.imagej.net

Este método de tratamento das amostras foi adotado com o objetivo de preservar as estruturas biológicas presentes no substrato analisado.

Tabela 29 – Identificação das amostras encaminhadas para análise em MEV

Amostra	Inóculo	Luminosidade	Fotocatalisador
5	<i>Aspergillus niger</i>	Luz	com TiO ₂
11	<i>Aspergillus niger</i>	Luz	sem TiO ₂
17	<i>Aspergillus niger</i>	Escuro	com TiO ₂
22	<i>Aspergillus niger</i>	Escuro	sem TiO ₂
51	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Luz	com TiO ₂
36	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Luz	sem TiO ₂
53	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Escuro	com TiO ₂
37	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Escuro	sem TiO ₂
55	Consórcio	Luz	com TiO ₂
40	Consórcio	Luz	sem TiO ₂
57	Consórcio	Escuro	com TiO ₂
42	Consórcio	Escuro	sem TiO ₂
178	Consórcio	CONTROLE	
88	Consórcio		

3.4 RESULTADOS DA FASE 2

A seguir são descritos os principais resultados obtidos durante o desenvolvimento das análises referentes à Fase 2 deste trabalho. Inicialmente são mostrados os resultados do ensaio de verificação da toxicidade com relação aos isolados fúngicos selecionados e da influência da luz UVA. Em seguida, apresentam-se os dados da caracterização dos materiais secos utilizados na moldagem das amostras; do TiO₂ aplicado na superfície; das caracterizações das argamassas no estado fresco e endurecido. Na sequência são discutidos os dados com relação à definição da concentração de TiO₂ em água deionizada a ser aplicado nas amostras de argamassa e, por fim, o monitoramento realizado a partir das medições com espectrofotômetro, análise das imagens com o software *ImageJ* e lupa estereoscópica, além das imagens obtidas em MEV.

3.4.1 Toxicidade do TiO₂ com isolados fúngicos selecionados

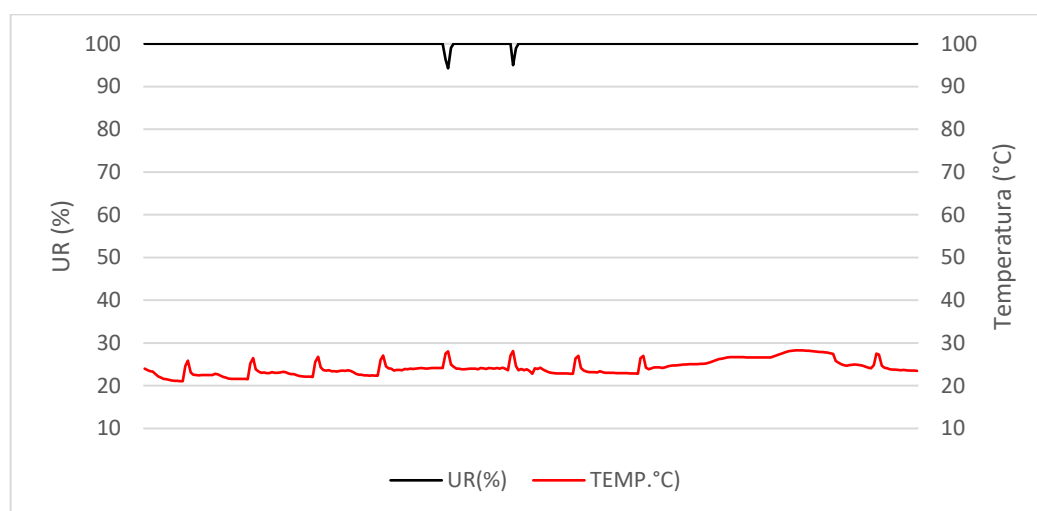
São apresentados neste item os resultados das análises realizadas com três dos isolados fúngicos selecionados: *Aspergillus niger*, *Purpureocillium lilacinum* e

Cladosporium sphaerospermum, avaliando particularmente a influência do TiO₂ no crescimento das colônias destes fungos. Desta forma, foi feito o monitoramento do crescimento de três pequenos discos de colônias previamente cultivadas, dispostos sobre o meio nutriente em placas de Petri, conforme metodologia descrita no item 3.3.1 deste trabalho. Os dados apresentados referem-se às médias dos diâmetros medidos em cada um dos três pequenos discos dispostos em cada placa. Cada disco teve o diâmetro medido por duas vezes em posição perpendicular.

As amostras que foram expostas à luz UVA permaneceram no interior de uma câmara, cujas leituras horárias da UR e da temperatura são mostradas na Figura 88. A exposição lumínica correspondeu a um período de 2 horas diárias.

As amostras em condição de escuro permaneceram no ambiente onde estava condicionada a câmara para exposição de luz UVA. O ambiente possui controle climático, cujo registro apontou UR média ~85% e temperatura média ~25°C).

Figura 88 – Leituras do microclima no interior da câmara onde permaneceram as amostras expostas à luz UVA

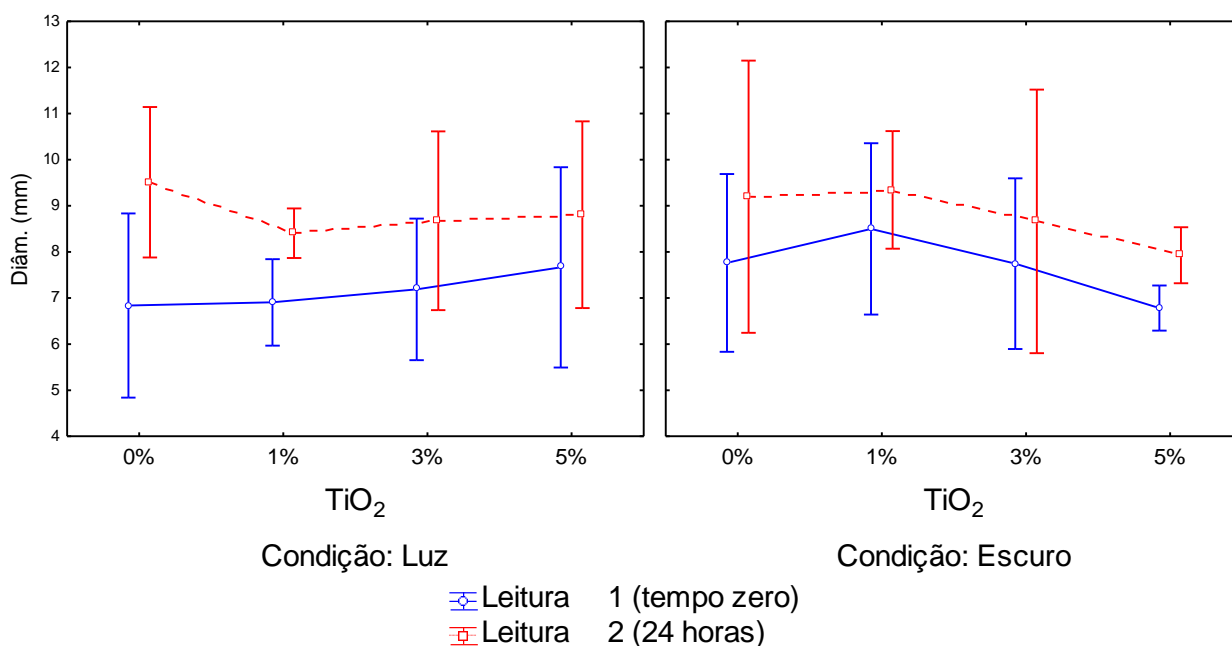


As amostras, expostas no interior da câmara com instalação da lâmpada UVA, permaneceram expostas a condições de UR bastante elevadas (atingindo a condensação). As amostras em condição de escuro permaneceram em ambiente climatizado com umidade elevada, porém inferior com relação às demais amostras.

A Figura 89 mostra os resultados obtidos para a análise de variância (ANOVA) fatorial, considerando os diâmetros de crescimento do fungo *Aspergillus niger* para as condições de exposição à Luz UVA e escuro, para as diferentes concentrações de

TiO₂ (0, 1, 3, e 5%). A Leitura 1 é a leitura inicial e a Leitura 2 corresponde aos diâmetros medidos 24 horas após o início do ensaio. As análises foram desenvolvidas a partir do software STATISTICA.

Figura 89 – ANOVA (fatorial) para o isolado de *Aspergillus niger* com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO₂



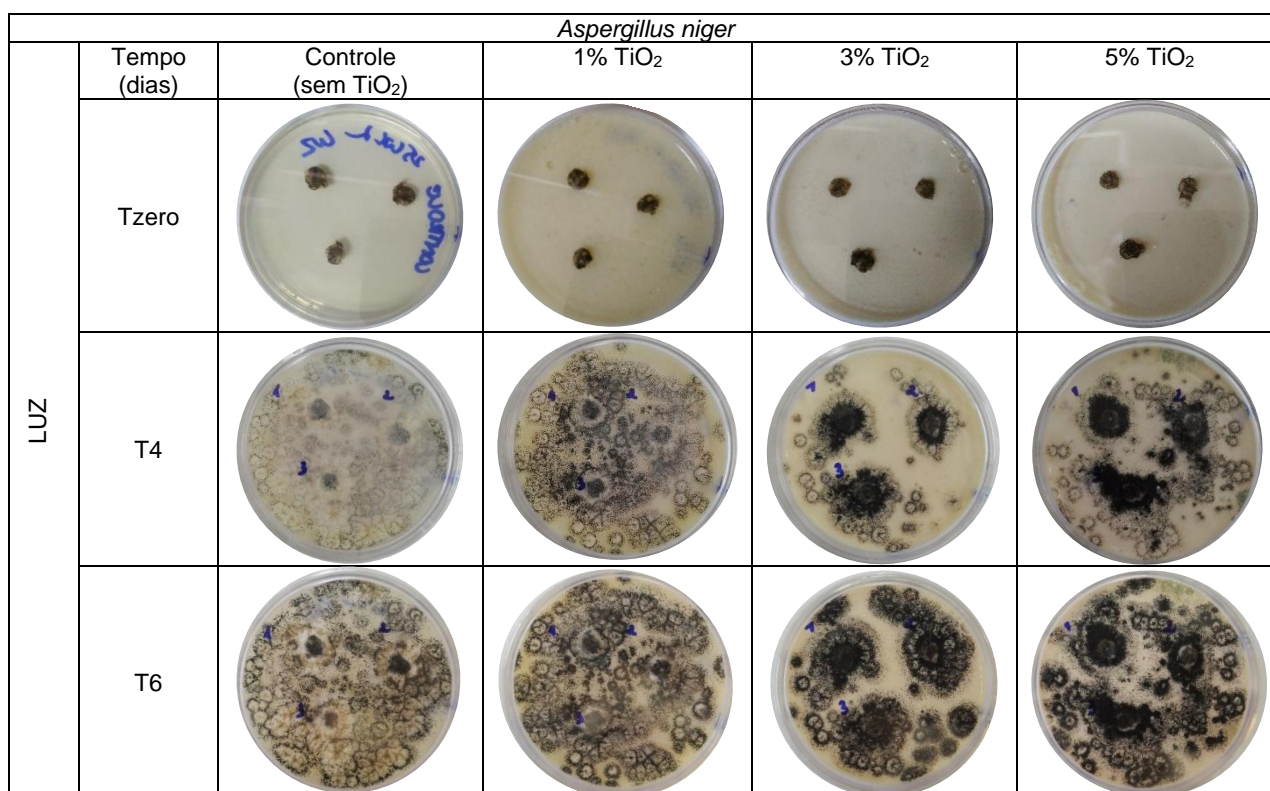
Observa-se que na condição de exposição à luz houve um maior aumento dos diâmetros de crescimento na condição controle (Zero), entre a primeira e a segunda leitura, quando comparado às demais concentrações de 1, 3 e 5%, demonstrando uma inibição inicial no crescimento quando há a presença do TiO₂ em exposição à luz UVA, embora a diferença não seja estatisticamente significativa. A diferença de crescimento entre a Leitura 1 e a leitura 2 para a concentração de 5% foi a menor verificada, o que demonstra uma provável influência inibitória do fotocatalisador para esta concentração comparada às demais.

Para as amostras que permaneceram no escuro não houve diferença significativa entre o crescimento dos diâmetros, independente da concentração do fotocatalisador.

Observa-se, ainda, que o TiO₂ apresentou, para este fungo, uma maior influência no crescimento quando em condição de exposição à luz, tendendo à inibição, quanto maior a concentração de TiO₂.

A Figura 90 mostra as placas de crescimento para o mesmo fungo (*Aspergillus niger*), considerando amostras controle (sem adição de TiO_2), com adição de 1%, 3% e 5%, no tempo inicial (ZERO) e após 4 e 6 dias. A partir do quarto dia não foi possível a medição dos diâmetros, visto que o crescimento fúngico ocorreu em praticamente toda a superfície das placas. Desta forma, foram consideradas as leituras dos diâmetros até 24h (não apresentadas nas imagens).

Figura 90 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Aspergillus niger* – exposição à luz



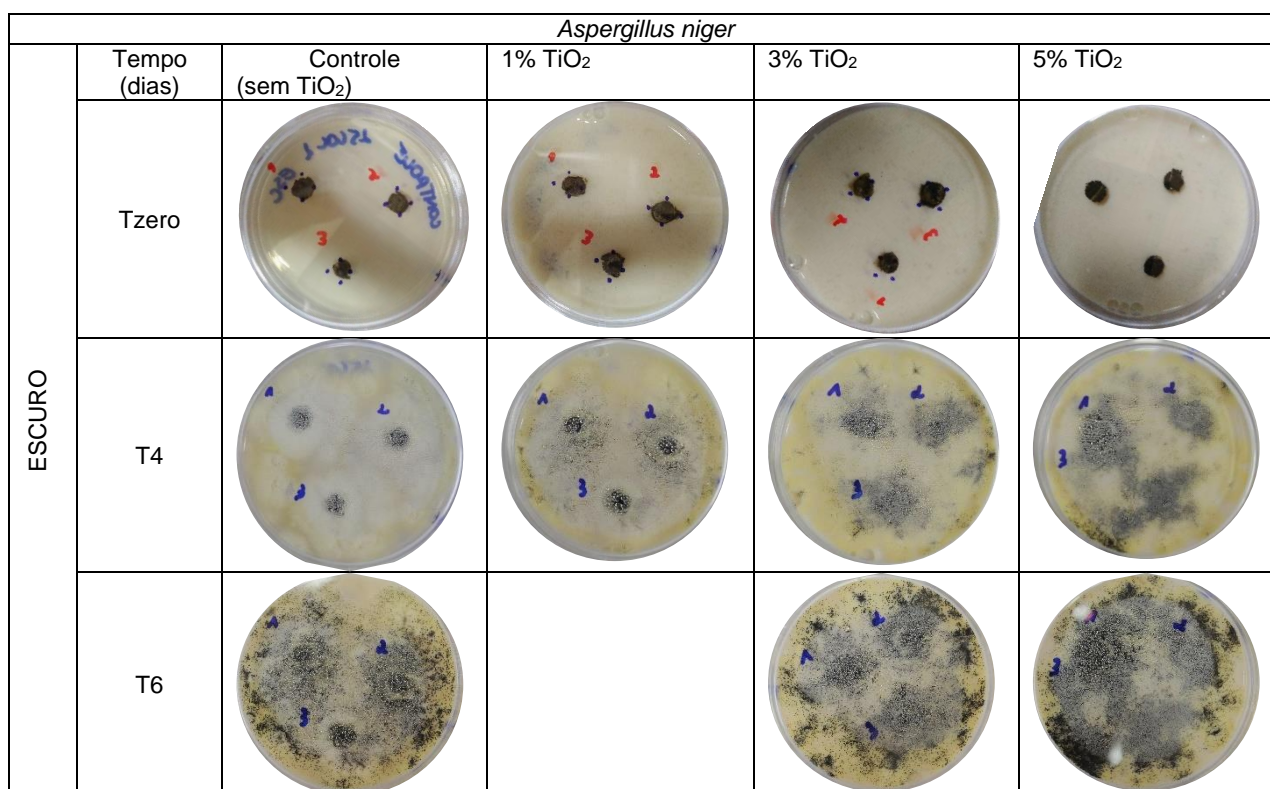
A Figura 91 mostra as mesmas condições para as amostras em condição de escuro. É possível verificar, também, que a partir do quarto dia há uma notável diferença quanto à forma de crescimento das colônias. Quanto maior a concentração de TiO_2 , verificou-se a tendência a uma aglomeração do crescimento ao redor do disco de micélio adicionado sobre o substrato de análise, enquanto nas menores concentrações, ou mesmo na ausência do TiO_2 , o crescimento ocorreu de maneira mais dispersa.

Destaca-se que o fungo *Aspergillus niger* apresenta um crescimento com característica pulverulenta, que facilita sua dispersão na superfície em que está desenvolvendo-se. Assim, a simples movimentação da placa durante o ensaio pode

ter favorecido sua dispersão, o que impediu a leitura dos diâmetros pós 24 horas de ensaio.

As amostras que permaneceram no escuro apresentaram um crescimento morfológicamente semelhante entre si, o que evidencia a interferência do TiO_2 quando exposto à luz no crescimento das colônias.

Figura 91 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Aspergillus niger* – condição de escuro



Chen, Yang e Wu (2009) avaliaram a atividade fotocatalítica do TiO_2 P25 contra o fungo *Aspergillus niger* em substrato de madeira, revestido com filme do fotocatalisador e sob incidência de luz UVA (365nm). Os autores observaram que não houve crescimento visível durante a exposição intermitente à luz, no entanto, quando em condição de escuro, o crescimento reiniciava, indicando que a reação fotocatalítica inibe o crescimento fúngico, porém não promove a total desinfecção contra este fungo, O experimento foi conduzido durante 20 dias.

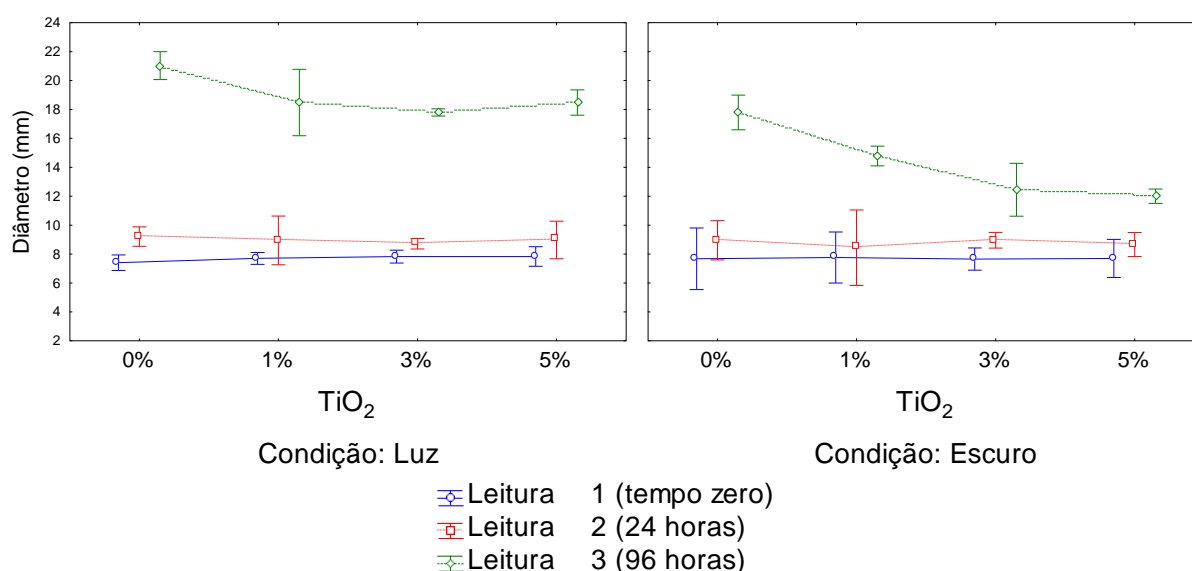
Erkan; Bakir; Karakas (2006) também avaliaram a ação fotocatalítica do TiO_2 , dopado com paládio (Pb), sob incidência lumínica (280 e 780nm) contra o fungo *Aspergillus*

niger, as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e a levedura (fungo unicelular) *Saccharomyces cerevisiae*. Os autores verificaram que o fotocatalisador foi menos eficiente com relação ao fungo *Aspergillus niger* do que com as bactérias, justificando que a principal interação do fotocatalisador com os microrganismos ocorre através da membrana celular. Considerando que os fungos possuem uma parede celular composta por quitina e glucano, polissacarídeos que formam uma capa protetora ao redor dos esporos e hifas, estes microrganismos conseguem sobreviver a condições bastante adversas, retomando o crescimento quando o ambiente se torna mais favorável.

Com base nestes estudos pode-se deduzir que o tempo de exposição adotado no ensaio proposto, correspondendo a duas horas diárias de luz UVA, pode ter sido insuficiente para a verificação efetiva da inibição do crescimento deste fungo.

A Figura 92 mostra os resultados da ANOVA fatorial das médias dos diâmetros medidos para o isolado *Purpureocillium lilacinum*. Para este fungo foi possível a realização de três leituras, a inicial (tempo zero), a leitura 2 (24 horas) e a terceira leitura (4 dias).

Figura 92 – ANOVA (fatorial) para o isolado de *Purpureocillium lilacinum* com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO_2



Analisando a Figura 92 é possível observar que houve uma maior inibição quanto ao crescimento na condição de escuro do que quando exposto à luz UVA. Recorda-se, no entanto, que este aspecto pode estar associado à uma exposição a valores

menores de UR, visto que as amostras em condição de escuro ficaram expostas à ~85% de UR, enquanto as amostras expostas à luz, no interior da câmara, a valores próximos à 100%. Observa-se, ainda, que maiores concentrações de TiO_2 intensificaram a inibição mesmo na ausência de luz.

As amostras expostas à luz UVA mostraram um menor crescimento das colônias com TiO_2 quando comparada às amostras sem aplicação.

Este fungo apresentou um crescimento mais lento comparado ao *Aspergillus niger*, desta forma a leitura no quarto dia de crescimento evidenciou o comportamento com relação às diferentes concentrações e luminosidade. A Figura 93 mostra as placas de crescimento para o fungo *Purpureocillium lilacinum* quando exposto à luz e a Figura 94 para condição de escuro. As imagens correspondentes ao sexto dia mostram a contaminação das amostras, inviabilizando a medição dos diâmetros nesta idade.

Figura 93 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Purpureocillium lilacinum* – exposição à luz

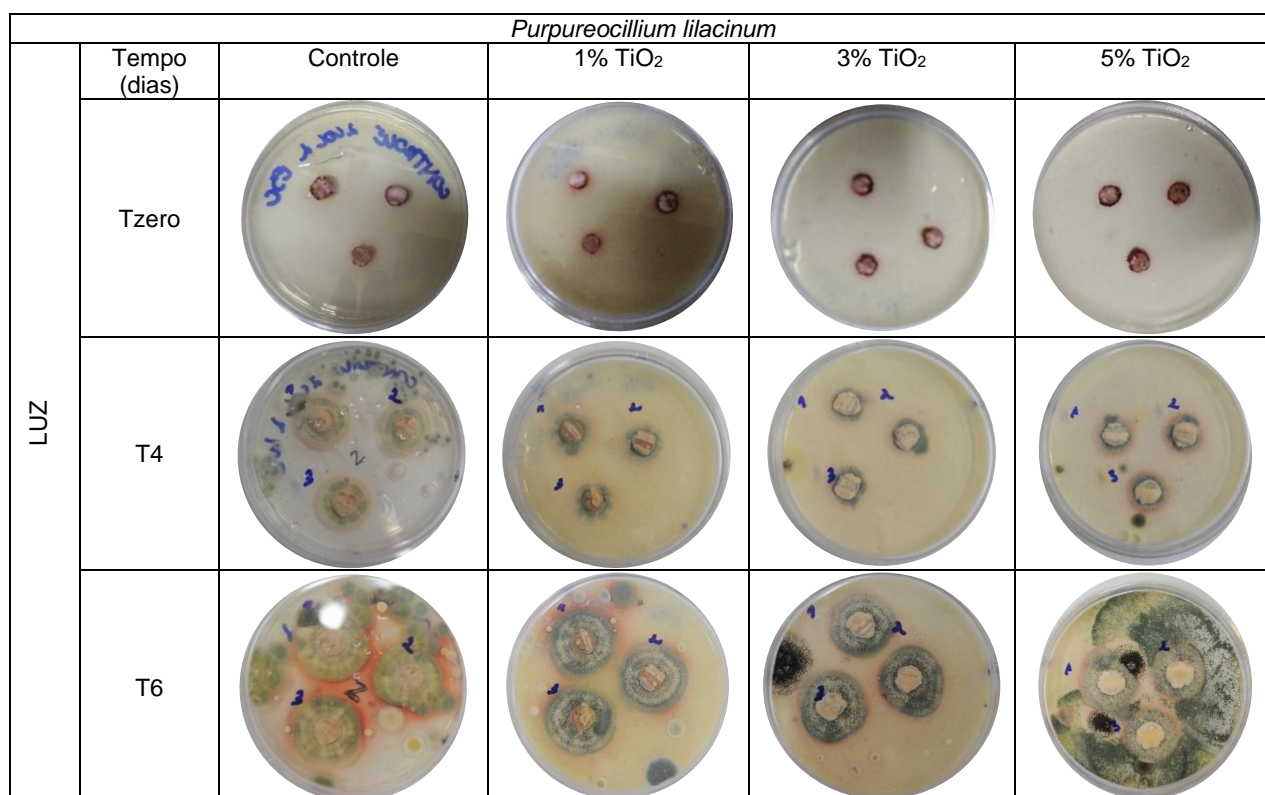
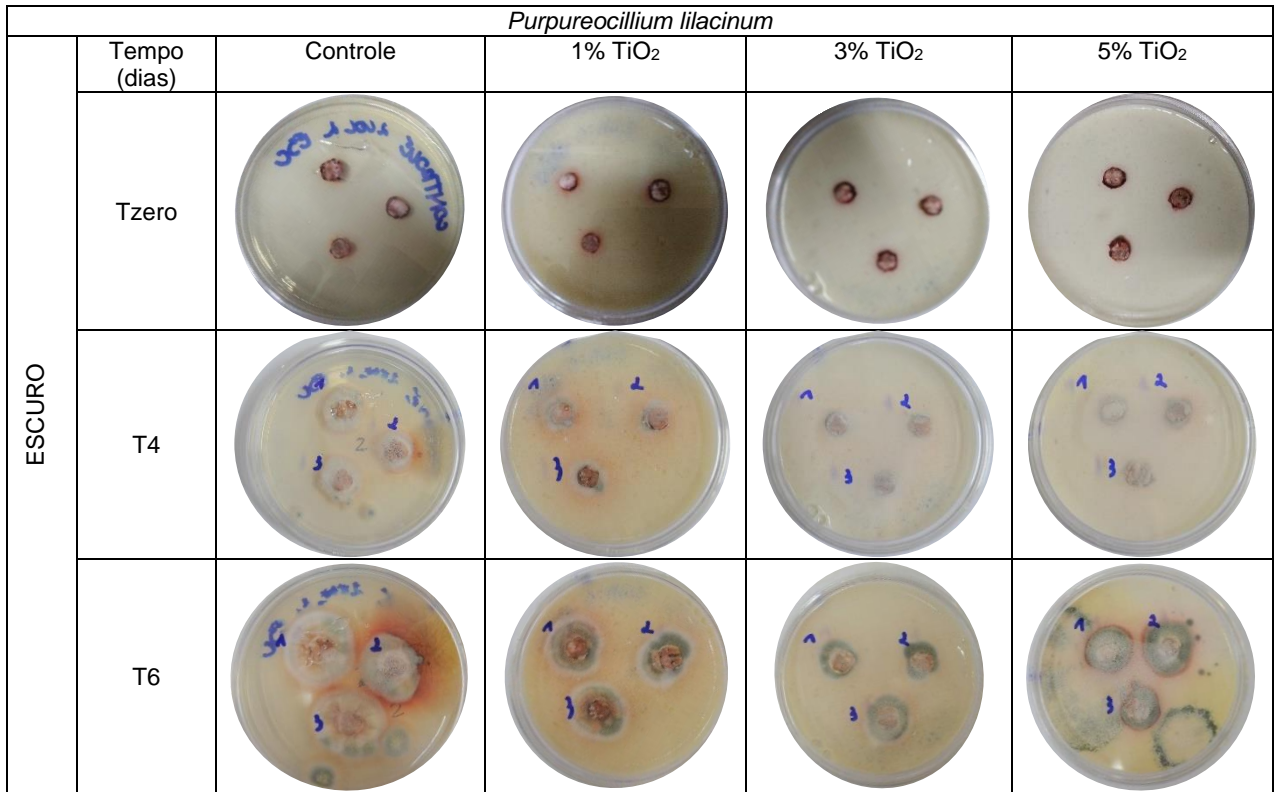
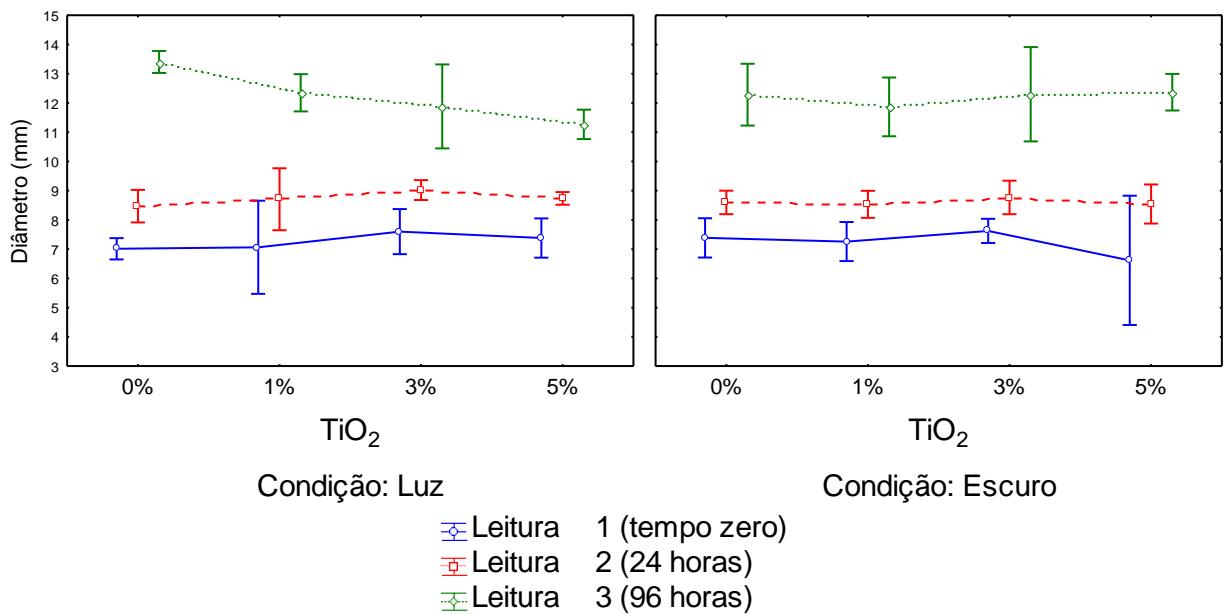


Figura 94 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Purpureocillium lilacinum* – condição de escuro



A Figura 95 mostra os resultados obtidos para o fungo *Cladosporium sphaerospermum* até o quarto dia de medição.

Figura 95 – ANOVA (fatorial) para o isolado de *Cladosporium Sphaerospermum* com relação à incidência ou não de luz e para as diferentes concentrações de TiO₂



É possível verificar que maiores concentrações do fotocatalisador provocaram uma maior inibição do crescimento das colônias quando expostas à luz UVA, um comportamento diferenciado com relação ao fungo *Purpureocillium lilacinum*. Os diâmetros medidos na amostra controle (sem TiO_2) foram significativamente maiores quando comparados aos diâmetros obtidos a partir da amostra com 5% de TiO_2 quando exposto à luz.

A Figura 96 mostra o crescimento do fungo *Cladosporium sphaerospermum* para as diferentes configurações propostas quando exposto à luz. A Figura 97 refere-se à condição de escuro. Assim como nas demais amostras, após o quarto dia não foi mais possível realizar a medição dos diâmetros.

Figura 96 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Cladosporium sphaerospermum*

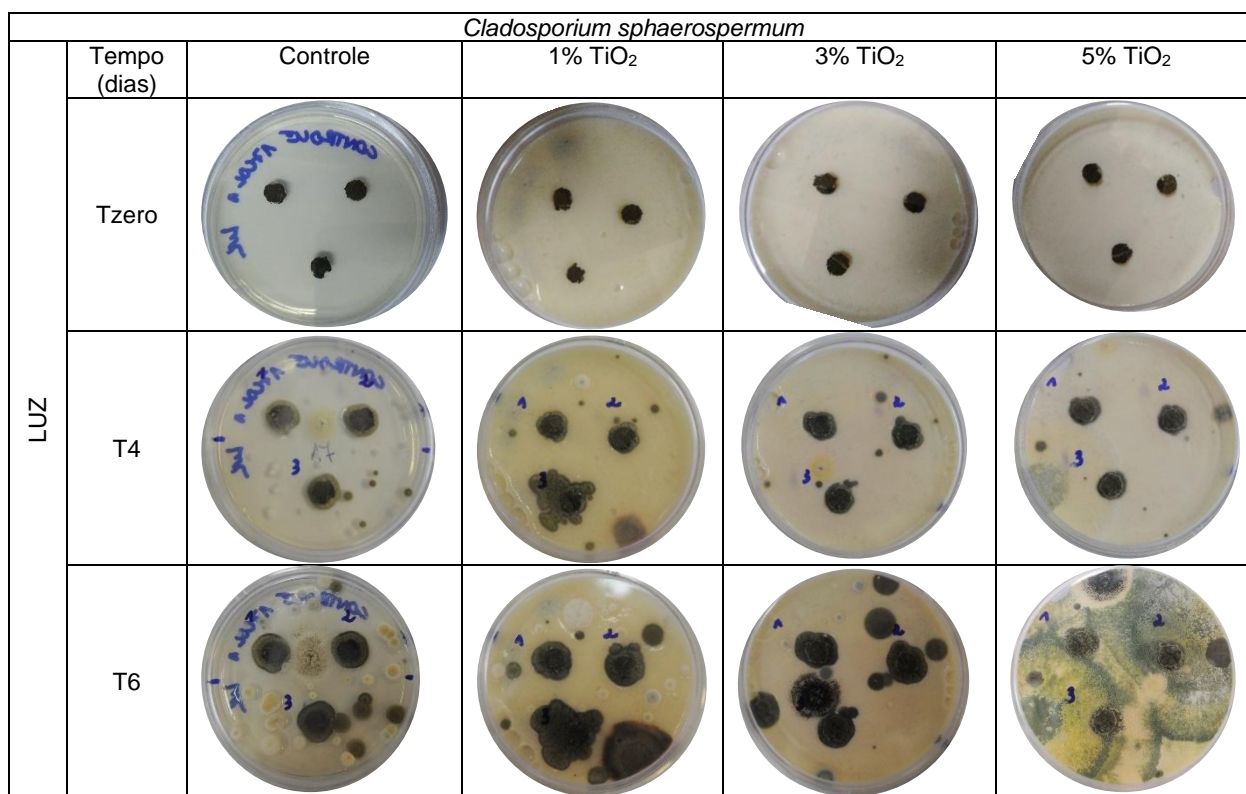
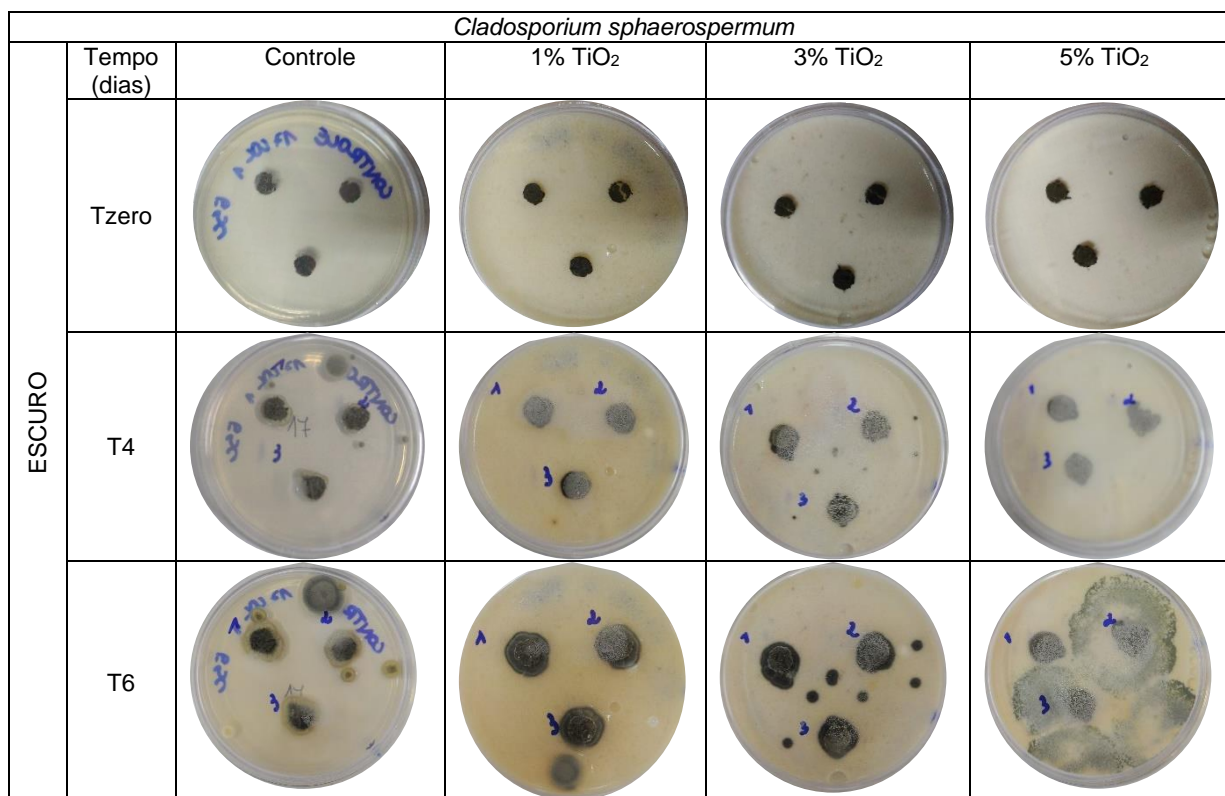


Figura 97 – Imagens das placas de crescimento do ensaio de toxicidade para *Cladosporium sphaerospermum*

Esta análise, embora tenha mostrado resultados com diferenças não significativas estatisticamente, mostrou-se bastante relevante, pois permitiu verificar que diferentes concentrações de TiO₂, condições de exposição à luz UVA e mesmo a particularidade de cada isolado fúngico analisado, interferem de maneira diferenciada na eficiência do fotocatalisador.

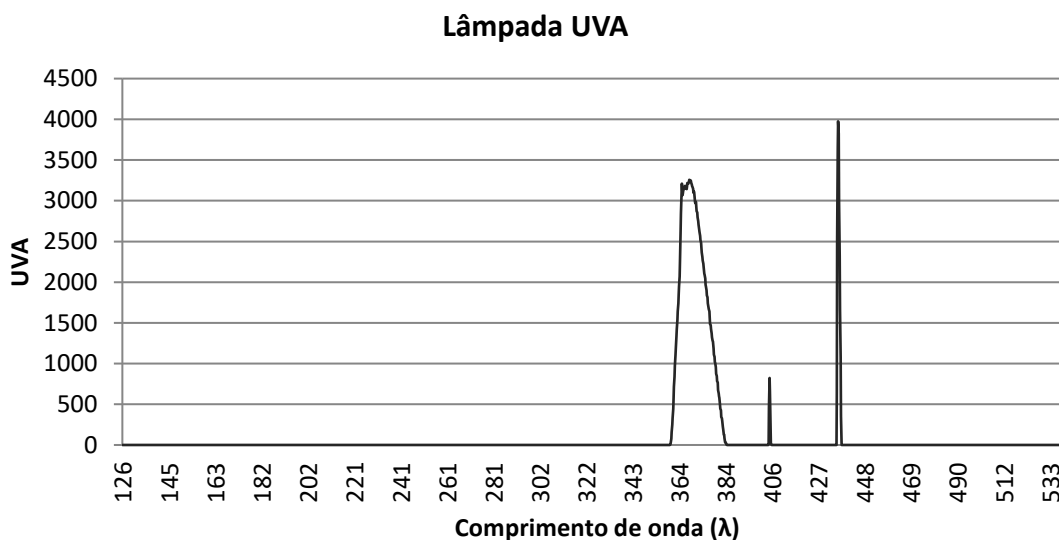
Esta constatação foi observada também em Markowska-Szczupak *et al.* (2015). Os autores avaliaram a eficiência do mesmo fotocatalisador, TiO₂ P-25, isolando as fases anatase e rutilo, contra diferentes isolados fúngicos, *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium apiospermum*, *Pseudallescheria ellipsoidea*, *Scedosporium aurantiacum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Stachybotrys chartarum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus melleus*, em condição de escuro e de exposição à luz UVA. Neste trabalho, verificaram que a eficiência fotocatalítica do TiO₂ foi confirmada para várias espécies, inclusive em condição de escuro. No entanto, mostrou-se resistentes à espécie *Aspergillus versicolor*. Observaram, ainda, que principalmente com relação à fase Anatase, sob incidência de luz, ocorreu um estímulo ao crescimento fúngico, possivelmente devido às propriedades

superhidrofílicas da superfície ativada, influenciando na acessibilidade à água pelos fungos.

3.4.2 Verificação da influência da luz UVA no crescimento de isolados fúngicos

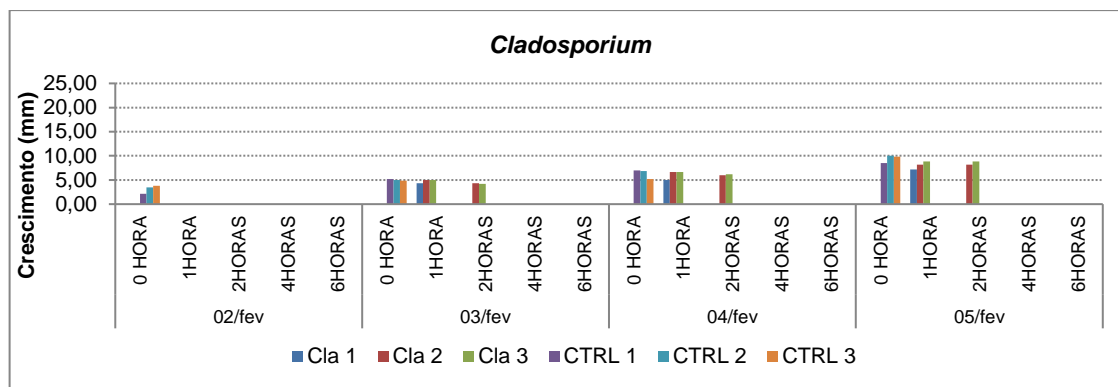
A lâmpada utilizada em todos os experimentos propostos neste trabalho, bem como neste ensaio, cuja metodologia foi descrita no item 3.3.2, foi a Black Light 24w – PL – L 24W/10 4P Philips. O comprimento de onda foi verificado em análise de espectralradiometria, com SM-240 Spectrofotômetro CVI, do Instituto de Física da UFRGS. Os dados obtidos no ensaio são mostrados na Figura 98.

Figura 98 – Verificação do comprimento de onda da lâmpada UVA utilizada no experimento



A Figura 99(a) e Figura 99(b) mostram a evolução no crescimento das triplicatas de placas de crescimento do fungo *Cladosporium* durante oito dias de verificação do diâmetro das colônias, para as condições de não exposição a luz UVA (0 hora), exposição de 1 hora de luz, 2 horas, 4 horas e 6 horas.

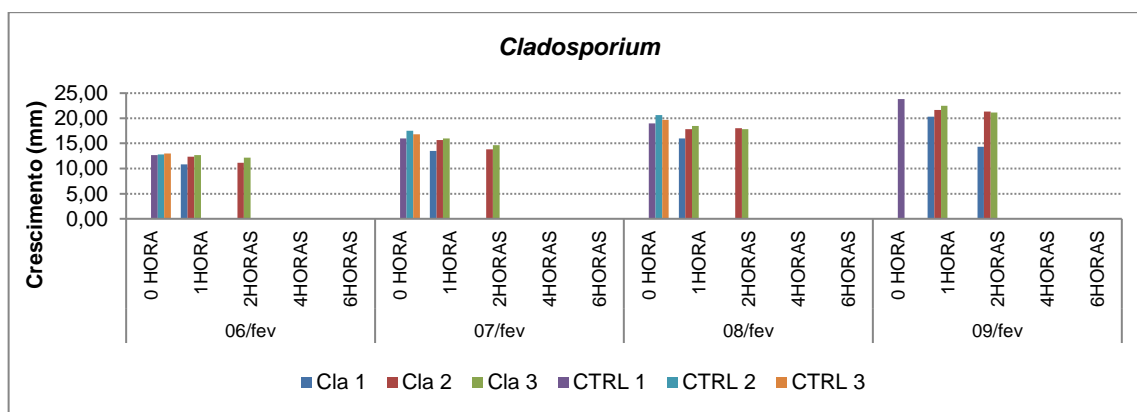
Figura 99 – Avaliação do crescimento do fungo *Cladosporium* sob incidência de luz UVA: a) primeiro ao quarto dia de medição; b) quinto ao oitavo dia de medição



(a)

Cla: gênero *Cladosporium*

CTRL: amostras controle



(b)

Cla: gênero *Cladosporium* sp.

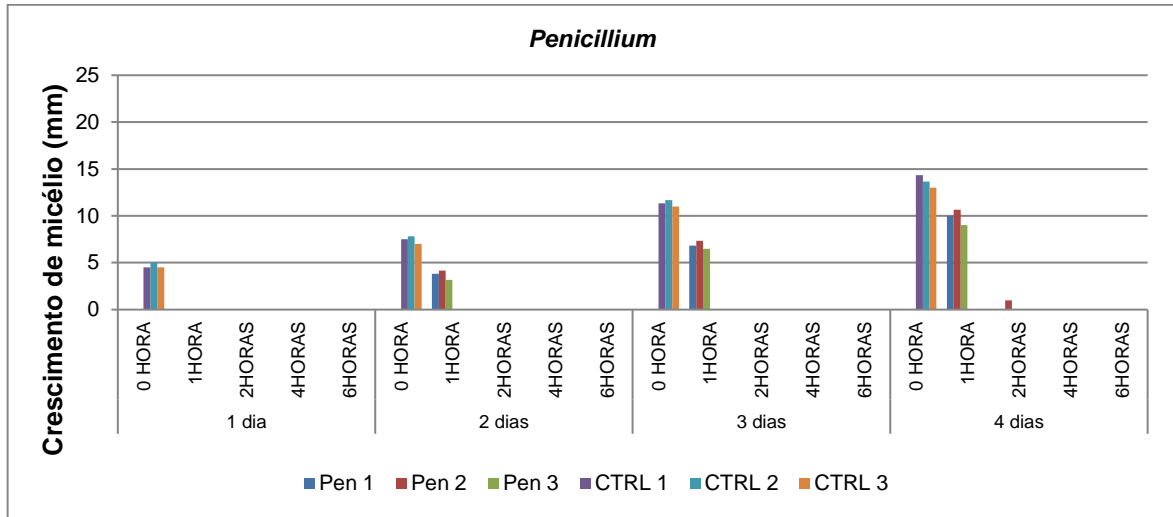
CTRL: amostras controle

Verifica-se que há uma correlação entre o tempo de exposição à luz e o início do crescimento das colônias. As placas de crescimento com as colônias que não foram expostas à luz (amostras controle, CTRL1, CTRL2, CTRL3) tiveram o crescimento iniciado 1 dia após o início do ensaio. As placas que foram expostas à 1 hora e 2 horas de luz UVA, tiveram o crescimento iniciado a partir de 48 horas do início da incubação. Nas placas que ficaram expostas à exposição lumínica por 4 e 6 horas, não apresentaram crescimento visível à olho nu até o oitavo dia de ensaio. Desta forma, para o fungo *Cladosporium*, verificou-se que há influência da luz UVA no início do crescimento das colônias, permitindo seu desenvolvimento de forma mais lenta quando expostas até 2 horas de exposição à luz.

Semelhante ao fungo do gênero *Cladosporium*, o gênero *Penicillium* também demonstrou sensibilidade quanto ao crescimento inicial quando as colônias foram

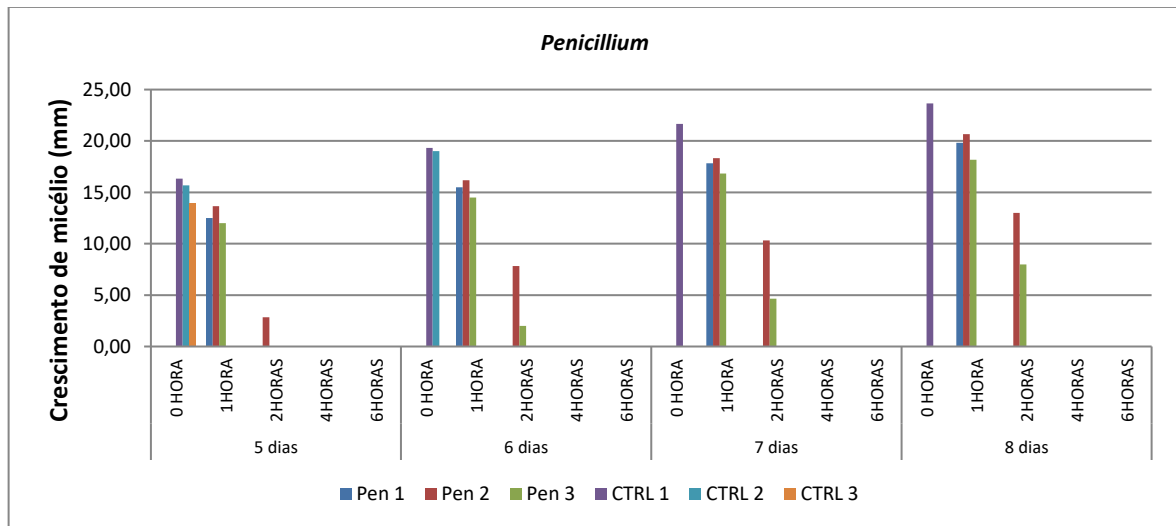
expostas à luz UVA a partir de 1 hora de exposição, conforme Figura 100(a) e 101(b). Exposições de 4 e 6 horas luz UVA resultaram na ausência de crescimento visível ao olho nu, mesmo após oito dias de incubação.

Figura 100 – Avaliação do crescimento do fungo *Penicillium* sob incidência de luz UVA: a) primeiro ao quarto dia de medição; b) quinto ao oitavo dia de medição



(a)

Pen: gênero *Penicillium* sp.
CTRL: amostras controle



(b)

Pen: gênero *Penicillium* sp.
CTRL: amostras controle

Osman *et al.* (1989) investigaram o efeito da irradiação UVA na germinação dos conídios (esporos) e crescimento dos fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium notatum*. Os autores observaram que ocorreu a inibição da germinação dos conídios de *P.*

notatum e *A. niger* quando expostos à luz em comparação com as amostras dispostas para incubação em escuro. As amostras que permaneceram expostas a luz obtiveram cerca de 3% de germinação, enquanto as amostras em condição de escuro, tiveram cerca de 80% de germinação.

Cheong *et al.* (2016) avaliaram os efeitos da luz, em diferentes comprimentos de onda (740nm, 625nm, 445nm e 366nm) no crescimento dos fungos *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus westerdijkiae*. Os autores verificaram que a luz não reduz o crescimento de micélio fúngico. No entanto, alguns comprimentos de onda interferiram na formação dos esporos. Verificou-se a redução no crescimento do fungo *A. westerdijkiae* sob incidência de luz UVA (366nm). Observaram também que fungos com alto teor de melanina (coloração escura) podem resistir aos efeitos inibitórios da exposição à luz.

O ensaio desenvolvido no presente trabalho, permitiu verificar a influência da luz UVA, no desenvolvimento dos fungos, principalmente na fase de esporulação (início do crescimento das colônias). Além disto, observou-se que esta influência varia para diferentes fungos, e está de acordo com a literatura.

3.4.3 Caracterização dos materiais secos

Foram realizados os principais ensaios de caracterização dos materiais secos utilizados na moldagem das amostras de argamassa, tais como a cal hidratada e a areia, além do TiO₂, aplicado superficialmente após etapa de cura, cujos resultados são descritos a seguir.

Foi utilizada a cal hidratada CH-I calcítica, faixa de concentração de hidróxido de cálcio entre 89 e 95%, peso molecular: 74,09 g/mol, pH 12,6 (solução saturada, temperatura 20°C), ponto de fusão à 580°C, conforme especificação do fabricante. Foram determinados os valores de massa unitária e massa específica, conforme valores expostos na Tabela 30.

Tabela 30 – Massa unitária e massa específica da Cal hidratada CH-I

MASSA UNITÁRIA (g/cm ³)	MASSA ESPECÍFICA (g/cm ³)
0,522	2,306

Os valores determinados mostram-se coerentes, correspondendo de modo aproximado aos verificados na literatura, tais como em Scartezini, L. M. e Carasek, H. (2003); Recena (2011) e Romano *et al.* (2014).

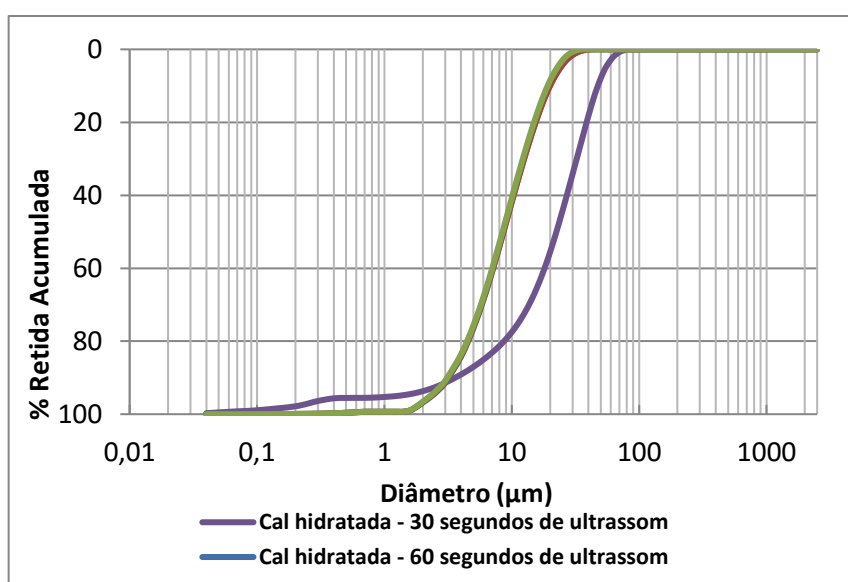
A Tabela 31 mostra os resultados obtidos através do ensaio de granulometria a laser.

Tabela 31 – Granulometria a laser da cal hidratada

DIÂMETRO (μm)	TEMPO DE ULTRASSOM			
	30 segundos	60 segundos	120 segundos	180 segundos
Diâmetro 10%	3,58	4,75	4,66	3,01
Diâmetro 50%	22,41	24,65	23,50	18,69
Diâmetro 90%	47,51	44,36	41,06	38,19
Diâmetro médio	24,45	24,99	23,54	19,99

A curva granulométrica para os diferentes tempos de ultrassom é mostrada na Figura 101, onde se observa a diferença entre as curvas, comparando os maiores e os menores tempos de dispersão com ultrassom. A cal é um material de elevada finura e fácil aglomeração, visto que não foram utilizados dispersantes, considerou-se que os tempos mais elevados de ultrassom, tais como 120 e 180 segundos, correspondem com maior precisão à granulometria do material analisado. Os valores encontrados estão coerentes com os verificados em Giordani, C. (2017).

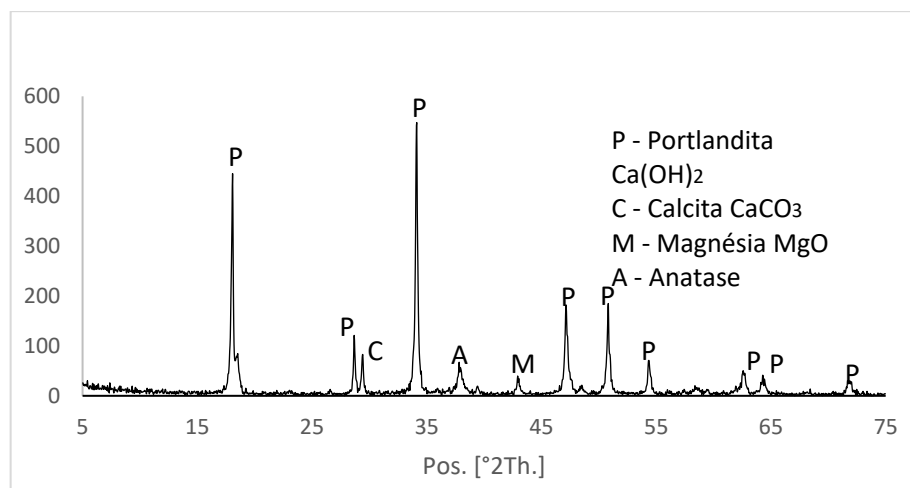
Figura 101 – Curva granulométrica da cal hidratada CH-I



Através da análise de DRX foi possível identificar os principais compostos cristalinos presentes na cal utilizada, conforme Figura 102. Os principais picos identificados correspondem à portlandita $\text{Ca}(\text{OH})_2$, além da presença de Calcita (CaCO_3) e pico

referente ao óxido de magnésio (MgO). A caracterização química da cal utilizada corresponde, portanto, ao ligante identificado na caracterização das argamassas históricas verificadas na Fase 1 deste trabalho.

Figura 102 – DRX da cal hidratada utilizada nas moldagens



Como agregado miúdo, utilizou-se areia quartzosa, obtida em rio. Para composição granulométrica, adotou-se como referência a distribuição granulométrica identificada na Fase 1. Assim, a areia foi peneirada e devidamente quantificada para compor a granulometria desejada, conforme Tabela 32.

Tabela 32 – Distribuição granulométrica adotada

Distribuição média (a partir da Fase 1)		
Abertura das peneiras (mm)	Média Retida Acumulada (%)	
Diâm. máx.	4,75	
	Retida acumulada	Porcentagem individual
4,75	5	5
2,36	20	15
1,18	42	22
0,6	65	22
0,3	88	23
0,15	96	8
0,075	100	4
Módulo de Finura	3,16	

Quanto ao fotocatalisador, foi utilizado na pesquisa o TiO₂ Aeroxide P-25, produto largamente utilizado em muitas pesquisas (BERGAMONTI *et al.*, 2017; FUJISHIMA;

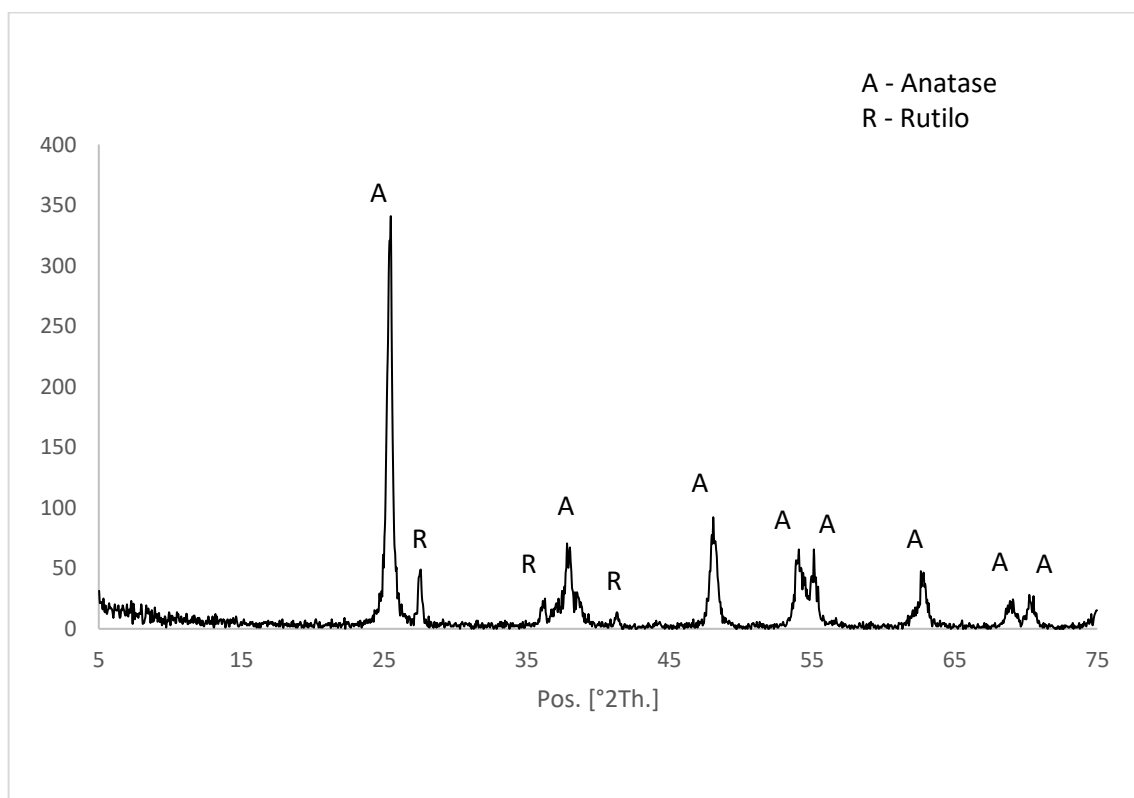
ZHANG; TRYK, 2008; HOLMBERG *et al.*, 2013; LA RUSSA *et al.*, 2012; MANSUROV *et al.*, 2017; MARKOWSKA-SZCZUPAK *et al.*, 2015; RUFFOLO *et al.*, 2017), entre outros. A Tabela 33 apresenta as características do produto, descritas pelo fabricante.

Tabela 33 – Caracterização industrial do TiO₂ P25

Aeroxide TiO ₂ P25	
Diâmetro médio das partículas	21nm
Densidade compactada (DIN EN ISO 787)	130g/l
Área superficial (BET)	50±15 m ² /g
Proporção Anatase/Rutilo	80/20
pH (em 4% de dispersão)	3,5-4,5
Umidade	≤1,5%

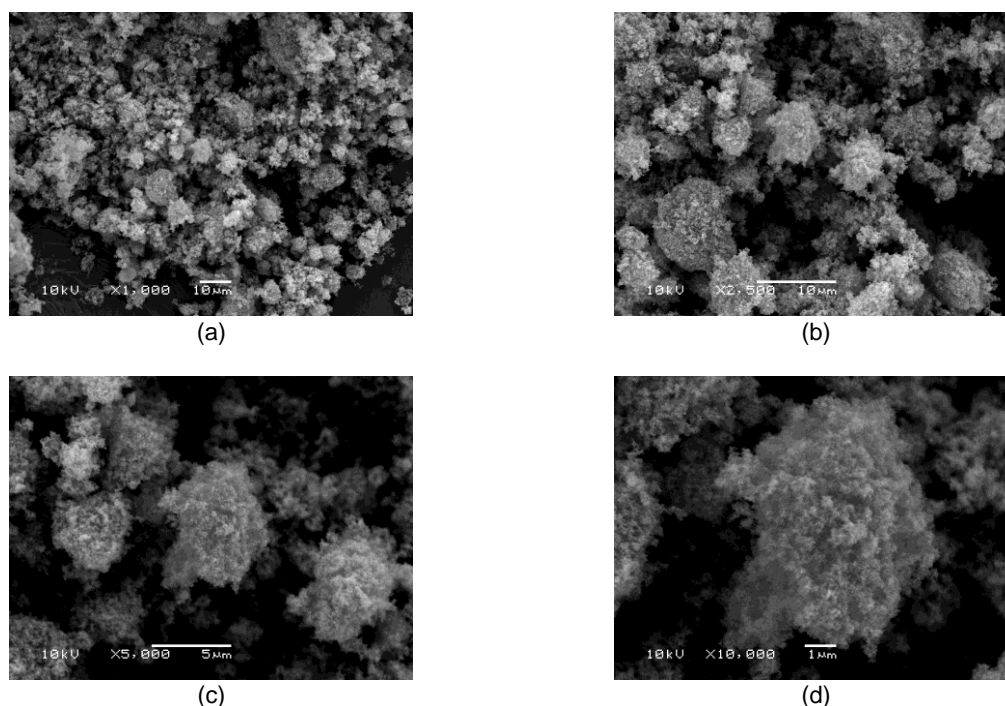
De modo complementar, foram realizadas análises de DRX e Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) do produto. A Figura 103 mostra os picos característicos da fase Anatase, com pequenas ocorrências da fase rutilo, correspondendo às especificações descritas pelo fabricante com relação a ocorrência das duas fases, conforme mostrado na Tabela 33.

Figura 103 – DRX do TiO₂ P25



A Figura 104 mostra as imagens obtidas em MEV, realizada em equipamento JEOL JSM 6060 – Centro de Microscopia Eletrônica (CME-UFRGS), evidenciando a reduzida dimensão das partículas e o aspecto aglomerado do material, em escala nanométrica.

Figura 104 – MEV por elétrons secundários do TiO₂ utilizado nas análises: a) aumento de 1000x; b) aumento de 2500x; c) aumento 5000x; d) aumento 10000x



3.4.4 Ensaios da argamassa no estado fresco

A Tabela 34 mostra os valores obtidos nos ensaios de caracterização no estado fresco das argamassas, tais como consistência, massa específica, teor de ar incorporado, teor de retenção de água e relação água/ligante (a/l).

Tabela 34 – Caracterização no estado fresco das argamassas

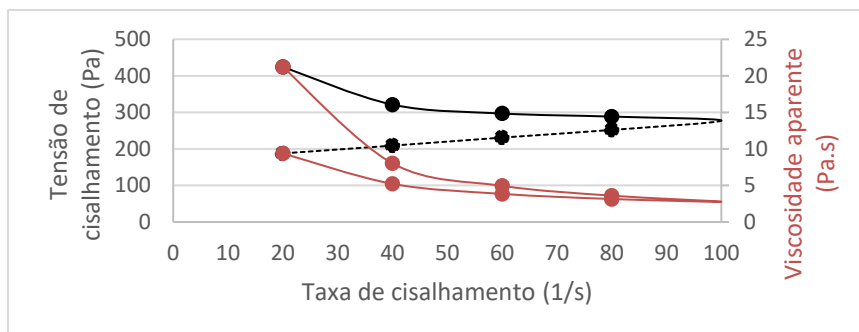
Argamassa TM 1:4	Consistência (mm)	ρ médio (g/cm ³)	Teor de ar incorporado (%)	Teor de retenção de água (%)	a/l
	252,00	2,2	1,2	97	1,09

a/l: relação água/ligante | ρ : densidade de massa

A partir do ensaio de reometria rotacional foram obtidos os dados de tensão de cisalhamento e viscosidade aparente, resultantes das taxas de cisalhamento aplicadas. A curva da viscosidade aparente relaciona-se com a curva da tensão de

cisalhamento pela taxa de cisalhamento. Quanto maior a taxa de cisalhamento, observa-se um menor valor de viscosidade.

Figura 105 – Tensão de cisalhamento x taxa de cisalhamento da argamassa



3.4.5 Ensaio em argamassa no estado endurecido

Considerando que foram realizados dois tipos de cura para a argamassa, sendo um lote disposto em câmara climatizada (85%UR e 25°C) por 97 dias e as demais amostras em câmara de carbonatação (5%CO₂), a seguir são mostrados os valores obtidos para caracterização no estado endurecido.

Os resultados referentes à massa específica aparente, correlacionados aos valores de relação água/ligante e índice de consistência, são mostrados na Tabela 35.

Tabela 35 – Massa específica aparente, relação água ligante e índice de consistência das argamassas aos 97 dias

Idade: 97 dias					
Argamassa TM 1:4	Massa específica aparente			a/l	Índice de consistência (mm)
	ρ (kg/m ³)	DP (MPa)	CV (%)		
	1802,40	41,94	2	1,09	252,00

a/l: relação água/ligante

A Tabela 36 mostra os resultados para as amostras dispostas em câmara de carbonatação.

Tabela 36 – Massa específica aparente, relação água ligante e índice de consistência das argamassas pós-carbonatação em câmara de CO₂

Carbonatação em câmara de CO ₂					
Argamassa TM 1:4	Massa específica aparente			a/l	Índice de consistência (mm)
	ρ (kg/m ³)	DP (MPa)	CV (%)		
	1861,40	18,38	1	1,09	252,00

a/l: relação água/ligante

A Tabela 37 mostra os valores obtidos quanto à resistência à compressão axial e à tração na flexão aos 97 dias. A Tabela 38 mostra os resultados destes ensaios para as amostras dispostas na câmara e carbonatação.

Tabela 37 – Resistência à compressão axial e tração na flexão (NBR 13.279) das argamassas aos 97 dias

Idade: 97 dias						
Argamassa TM 1:4	Resist. Compressão			Resist. Tração		
	R _c média (MPa)	DP (MPa)	CV (%)	R _t média (MPa)	DP (MPa)	CV (%)
	0,53	0,05	10	0,51	0,07	14,57

DP: Desvio Padrão | CV: Coef. Variação

Tabela 38 – Resistência à compressão axial e tração na flexão (NBR 13.279) das argamassas pós carbonatação

Carbonatação em câmara de CO ₂						
Argamassa TM 1:4	Resist. Compressão			Resist. Tração		
	R _c média (MPa)	DP (MPa)	CV (%)	R _t média (MPa)	DP (MPa)	CV (%)
	5,56	0,44	8	2,54	0,15	5,83

DP: Desvio Padrão | CV: Coef. Variação

Para o ensaio de absorção por capilaridade, aos 97 dias, foram obtidos os resultados mostrados na Tabela 39, assim como os resultados para as amostras carbonatadas em câmara são mostrados na Tabela 40.

Tabela 39 – Absorção por capilaridade (NBR 15.259) aos 97 dias

Idade: 97 dias			
Argamassa TM 1:4	C _m médio (g/dm ² .min. ^{1/2})	DP (g/dm ² .min. ^{1/2})	CV (%)
	7,57	0,15	1,95

DP: Desvio Padrão | CV: Coef. Variação

Tabela 40 – Absorção por capilaridade (NBR 15.259) pós carbonatação

Carbonatação em câmara de CO ₂			
Argamassa TM 1:4	C _m médio (g/dm ² .min. ^{1/2})	DP (g/dm ² .min. ^{1/2})	CV (%)
	2,19	0,15	6,91

DP: Desvio Padrão | CV: Coef. Variação

A Tabela 41 mostra os resultados do ensaio para determinação do módulo de elasticidade dinâmico aos 97 dias e a Tabela 42 para as amostras dispostas na câmara de carbonatação.

Tabela 41 – Módulo de elasticidade dinâmico (NBR 15.630) aos 97 dias

Idade: 97 dias				
Argamassa TM 1:4	Tempo médio (μ s)	Ed médio (MPa)	DP (MPa)	CV (%)
	85,59	5542,54	293,92	5,3

Tabela 42 – Módulo de elasticidade dinâmico (NBR 15.630) pós carbonatação

Argamassa TM 1:4	Carbonatação em câmara de CO ₂			
	Tempo médio (μ s)	Ed médio (MPa)	DP (MPa)	CV (%)
	51,29	15972,28	970,34	6,08

DP: Desvio Padrão | CV: Coef. Variação

3.4.6 Verificação da concentração ideal e tempo de ultrassom do TiO₂ em água deionizada

A partir da caracterização reológica foram verificados os melhores tempos de ultrassom para dispersão do TiO₂ em água deionizada para as duas concentrações inicialmente estabelecidas (5 e 10%).

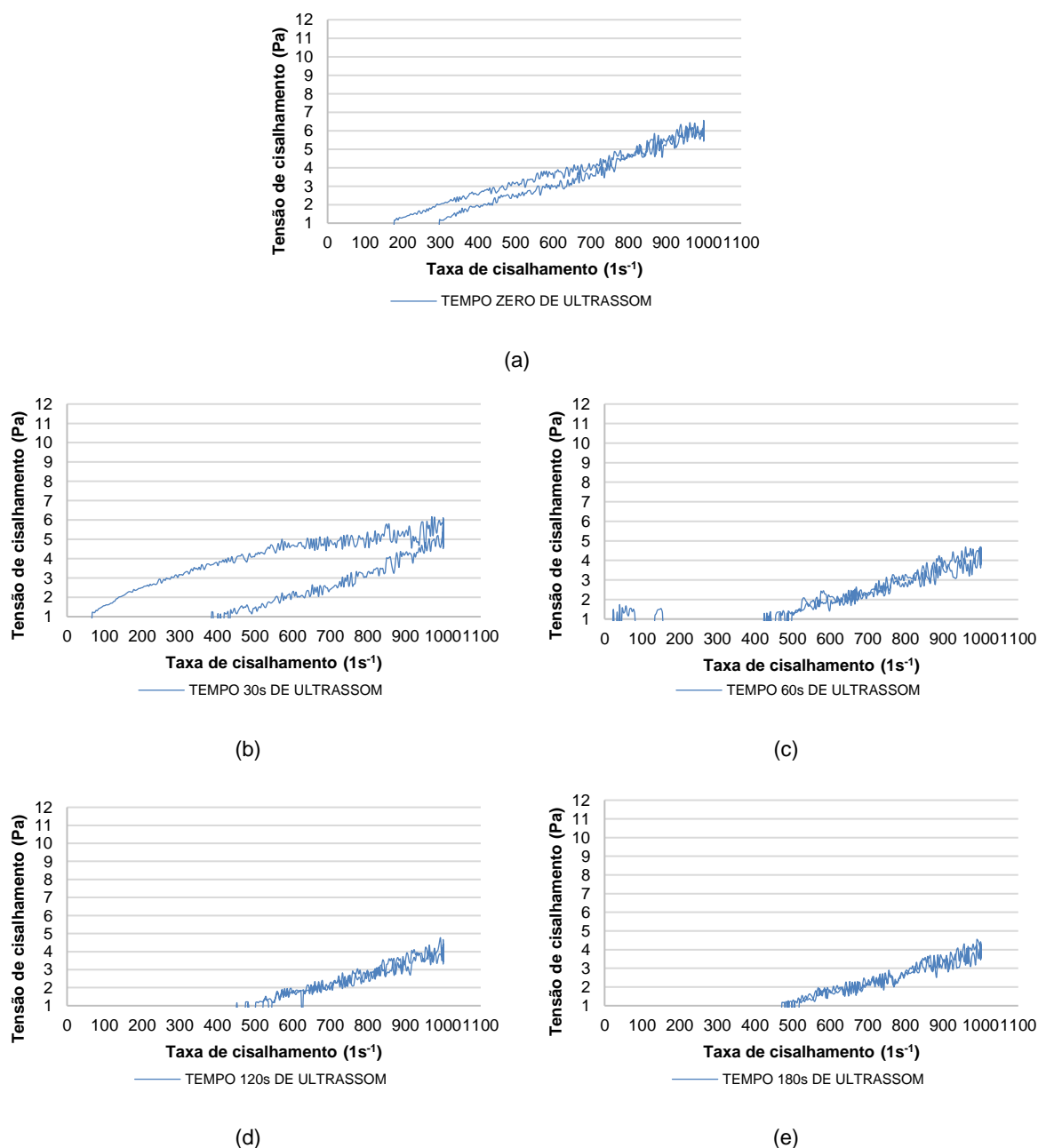
Conforme descrito em Arcaro *et al.* (2016), onde adotou-se metodologia semelhante para verificação da dispersão de suspensões em meio aquoso para diferentes concentrações e tempo de ultrassom, a elevação do tempo de ultrassom tende a provocar a redução na tensão de cisalhamento. Este comportamento deve-se a uma possível quebra das partículas inicialmente aglomerada. Tais partículas são, então, desagregadas quando ocorre aumento da dispersão com o aumento do tempo de ultrassom, resultando em partículas soltas no sistema.

A Figura 106 mostra os perfis gerados para a concentração de 5% de TiO₂ desde o tempo zero de ultrassom (Figura 106(a)) até 180s (Figura 106(e)).

O gráfico gerado para a amostra controle (sem tempo de ultrassom), Figura 106(a), mostra valores elevados quanto à tensão de cisalhamento, tanto na ida quanto na volta do percurso, mostrando uma provável aglomeração das partículas. Nota-se na Figura 106(b) que a partir do tempo de 30 segundos de ultrassom para a concentração de 5% ocorre uma alteração no comportamento da suspensão, onde a tensão de cisalhamento é mais elevada no tempo inicial do ensaio, ocorrendo a redução no retorno do perfil nos tempos finais do ensaio. Essa defasagem entre os perfis demonstra que a suspensão não se encontra homogeneamente dispersa. Quando foi feita a caracterização reológica para a suspensão que ficou durante 180s em agitação ultrassônica, conforme Figura 106(e), nota-se uma redução na taxa de cisalhamento

(em torno de 4,5Pa), além do encontro dos perfis de ida e volta no tempo de ensaio. Nestas condições, portanto, entende-se que a suspensão atingiu adequada homogeneidade e dispersão para as condições propostas.

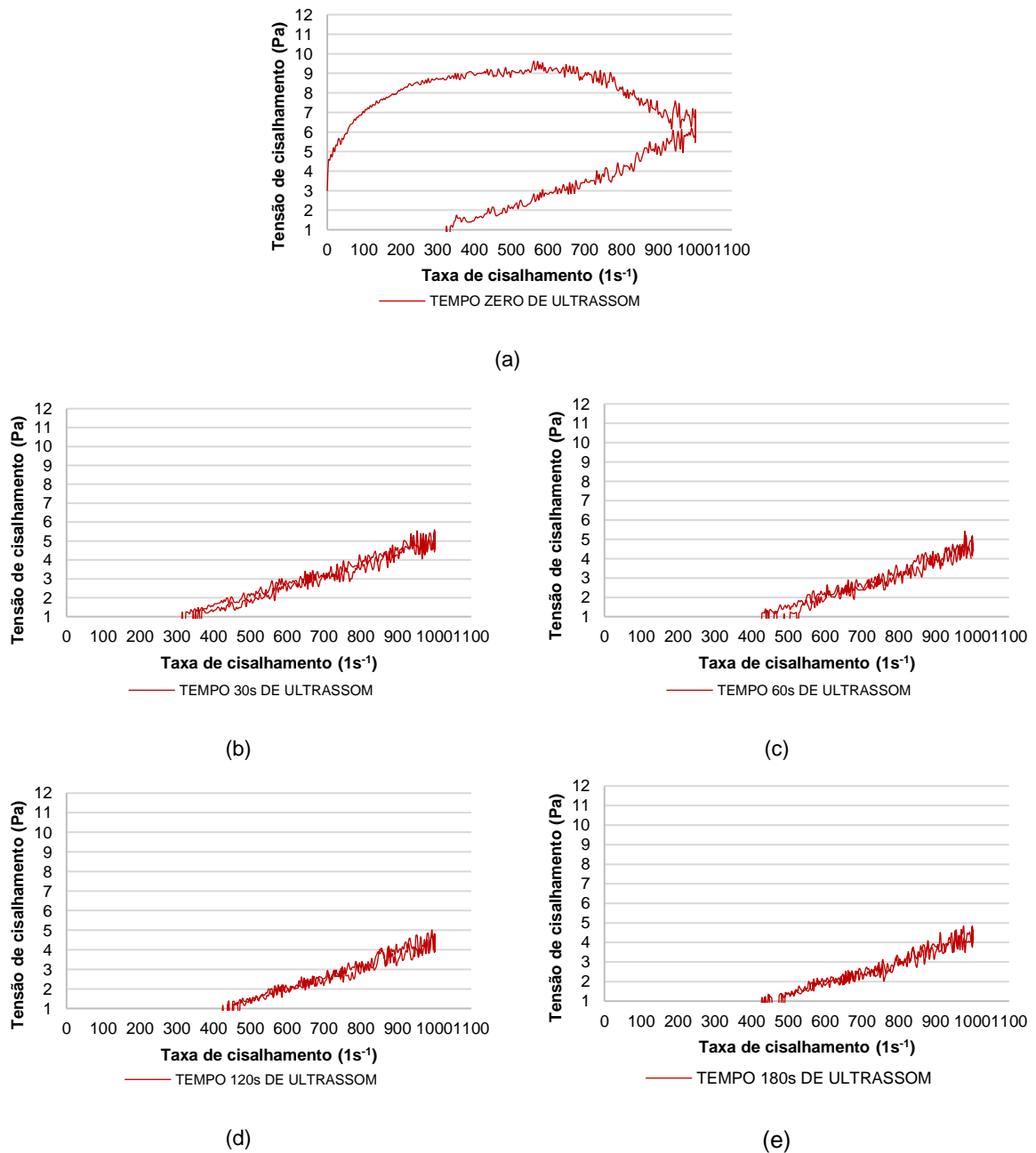
Figura 106 – Reologia da dispersão com concentração de 5%: a) tempo zero de ultrassom; b) 30 segundos de ultrassom; c) 60 segundos de ultrassom; d) 120 segundos de ultrassom; e) 180 segundos de ultrassom



A Figura 107 mostra os perfis gerados para a concentração de 10%, também considerando os diferentes tempos de ultrassom (zero a 180s). Verifica-se na Figura 107(a), sem a aplicação de ultrassom na suspensão, uma elevada tensão de cisalhamento, além da diferença no comportamento do perfil, revelando uma amostra

de dispersão heterogênea e pouco eficiente. Este comportamento já era esperado com o aumento da concentração. A partir do tempo de 30s de ultrassom (Figura 107(b)), já é possível observar a homogeneização na dispersão, pela aproximação dos perfis. No entanto, embora tenha ocorrido uma redução, comparada ao tempo zero, ainda é elevada a tensão de cisalhamento. Já na Figura 107(e) percebe-se uma redução na tensão de cisalhamento, além da aproximação das curvas do perfil.

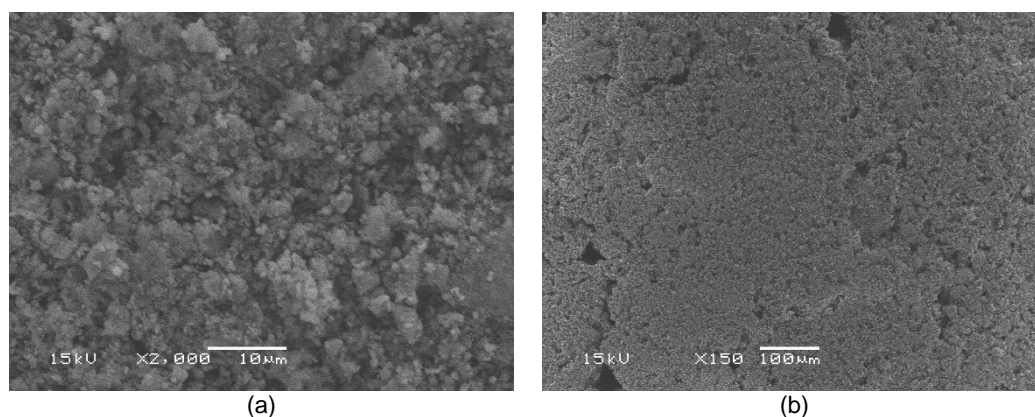
Figura 107 – Reologia da dispersão com concentração de 10%: a) tempo zero de ultrassom; b) 30 segundos de ultrassom; c) 60 segundos de ultrassom; d) 120 segundos de ultrassom; e) 180 segundos de ultrassom

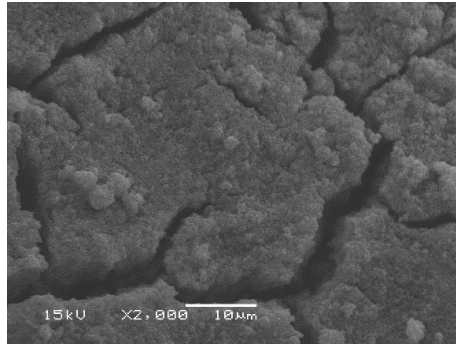


A partir das análises reológicas, foram selecionados os dois melhores tempos de ultrassom (120 e 180 segundos). As suspensões, considerando as duas concentrações (5 e 10% de TiO_2), foram aplicadas com pistola pressurizada em amostras de argamassa de mesma composição das utilizadas nas análises neste trabalho (consideradas amostras-teste). Após 24h de secagem as amostras foram analisadas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), equipamento JEOL JSM 6060. As Figura 108(a) e 109(b) mostram as amostras-controle (sem aplicação do TiO_2). As amostras com 5% de TiO_2 são mostradas na Figura 108(c) e 109(d) para 120 segundos de ultrassom e Figura 108(e) e 109(f) com 180 segundos de ultrassom. Nesta concentração, pelas análises em MEV, não foi possível visualizar diferença quanto à aplicação para os diferentes tempos de ultrassom. O mesmo ocorre para as amostras com 10% de TiO_2 para 120 e 180 segundos de ultrassom (Figura 108(g), 109(h), 109(i) e 109(j)).

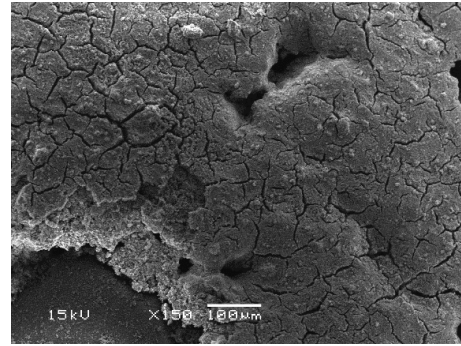
No entanto, para as duas concentrações analisadas, verificou-se uma camada excessiva do fotocatalisador recobrindo a amostra. Para ambas as concentrações, verifica-se a fissuração da superfície em consequência da evaporação da água utilizada na suspensão aplicada. É possível, inclusive, notar a cobertura de TiO_2 soltando-se em placas da superfície, como pode ser visualizado com intensidade na Figura 108(f) e (j).

Figura 108 – MEV por elétrons secundários das amostras-teste para dispersão superficial do TiO_2 : a-b) amostras controle (sem TiO_2); c-d) amostras com 5% de TiO_2 e 120 segundo de ultrassom; e-f) amostras com 5% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom; g-h) amostras com 10% de TiO_2 e 120 segundo de ultrassom; i-j) amostras com 10% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom.

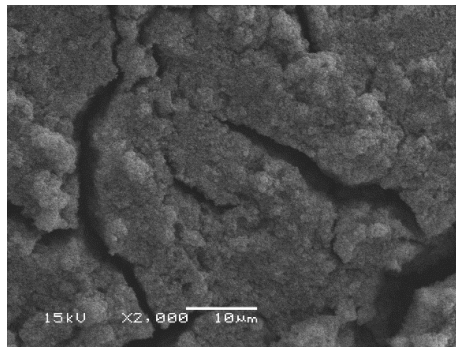




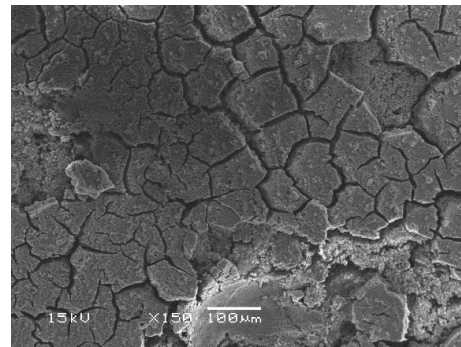
(c)



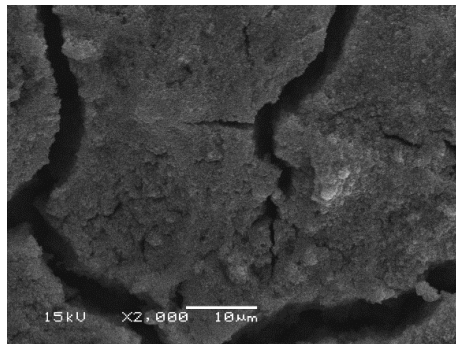
(d)



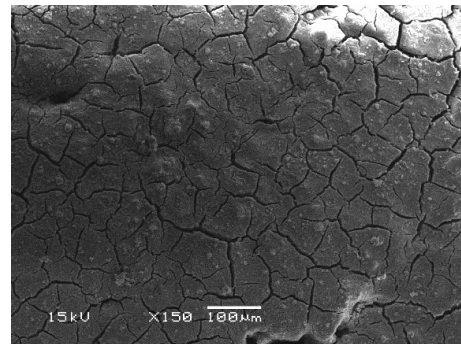
(e)



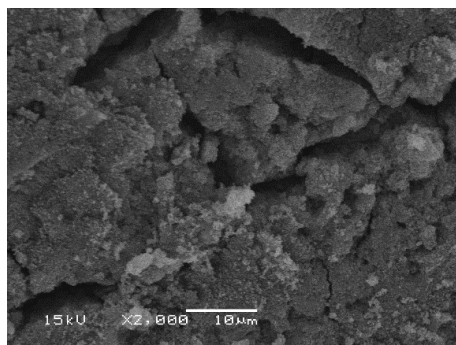
(f)



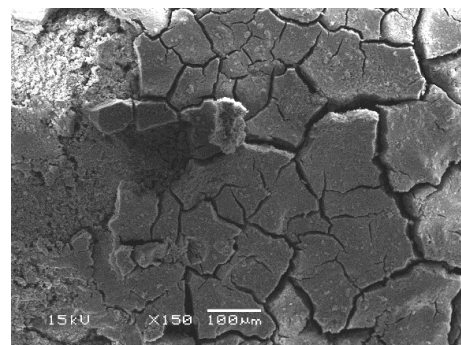
(g)



(h)



(i)



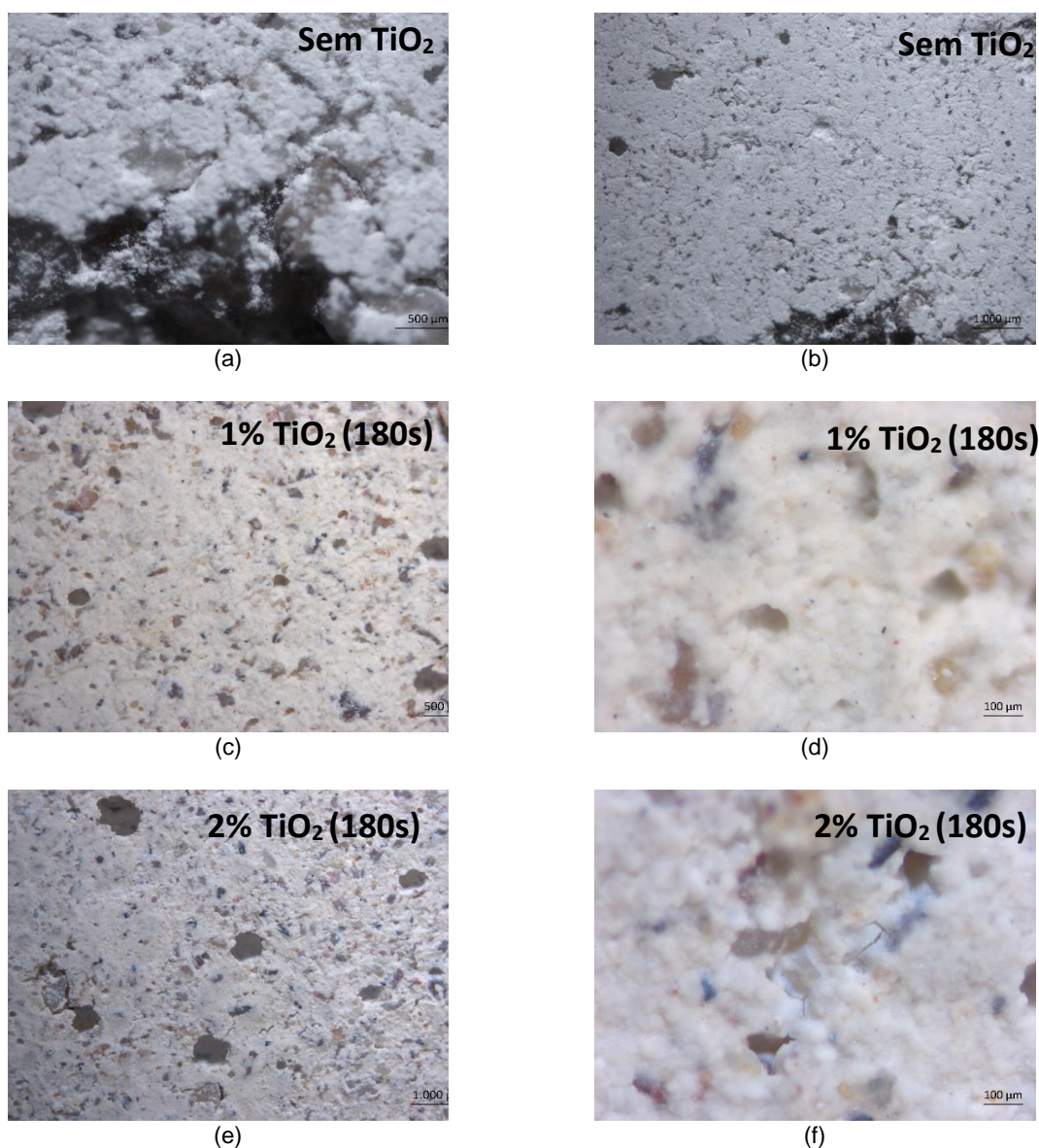
(j)

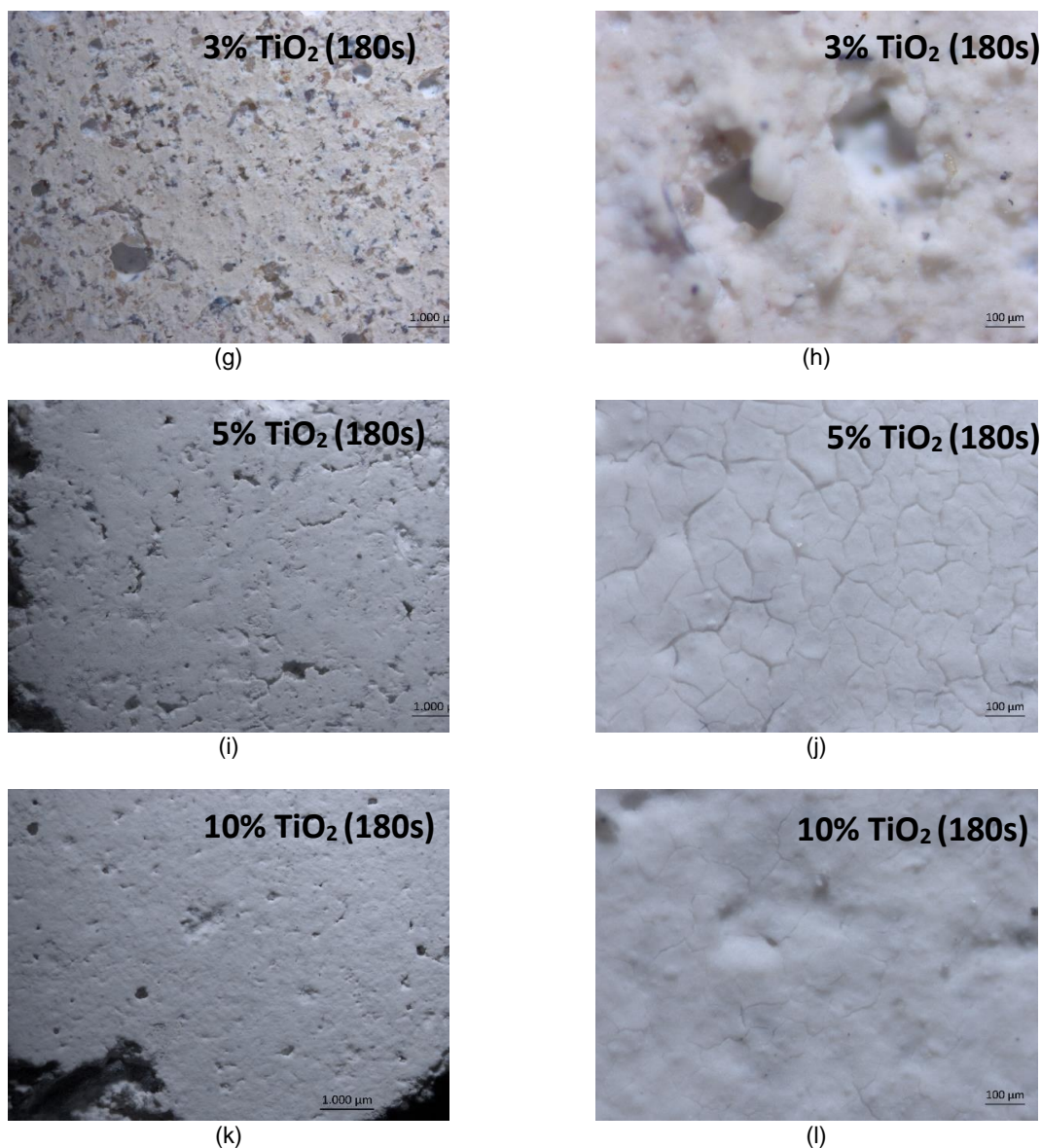
Com base nas observações realizadas através das análises em MEV, optou-se por avaliar a aplicação em concentrações menores de TiO_2 . Desta forma, foi mantido o tempo considerado ótimo de ultrassom (180 segundos) e foram aplicadas

concentrações menores em amostras-teste de argamassa para verificação do cobrimento superficial.

Nesta nova verificação, as amostras foram visualizadas em lupa estereoscópica (Zeiss Stemi 508 doc Stereo microscope), com aumento de até 100x. A Figura 109 mostra as imagens obtidas, considerando amostras-controle, amostras com concentração de 1, 3 e 5%. Na Figura 109(j), onde foi aplicada a concentração de 5%, verifica-se, novamente, a fissuração na superfície.

Figura 109 – Imagens em lupa estereoscópica das amostras-teste para dispersão superficial do TiO_2 : a-b) amostras controle (sem TiO_2); c-d) amostras com 1% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom; e-f) amostras com 2% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom; g-h) amostras com 3% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom; i-j) amostras com 5% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom; k-l) amostras com 10% de TiO_2 e 180 segundo de ultrassom.





Com base nestas observações, adotou-se a concentração de 3% com tempo de ultrassom de 180 segundos para a aplicação nas amostras a serem analisadas neste trabalho. Na Figura 109(h), onde verifica-se a aplicação da concentração 3%, é possível verificar um adequado cobrimento da superfície.

3.4.7 Monitoramento das amostras de argamassa inoculadas

Neste item são apresentados os resultados referentes às análises realizadas nas amostras de argamassa moldadas em laboratório, com aplicação ou não do TiO₂, inoculadas com os fungos selecionados a partir da Fase 1 deste trabalho.

A Figura 110 apresenta a configuração do ensaio proposto considerando as variáveis de análise: isolados fúngicos e consórcio, aplicação ou não do fotocatalisador, exposição ou não à luz UVA.

Figura 110 – Configuração das amostras dispostas para análise na BOD

ISOLADO 1 <i>Aspergillus niger</i>	ISOLADO 2 <i>Purpureocillium lilacinum</i>	CONSÓRCIO (5 fungos)*
Com TiO ₂ (dispersão em água a 3% do volume) e luz UVA		
Sem TiO ₂ e luz UVA		
Com TiO ₂ (dispersão em água a 3% do volume) e escuro		
Sem TiO ₂ e escuro		

* *Fusarium* sp.; *Cladosporium* sp.; *C. sphaerospermum*; *Trichoderma atroviride*; *Acremonium* sp.

A Figura 111 mostra o cronograma detalhado das medições realizadas em todas as amostras dispostas na BOD, onde são descritas as etapas correspondentes à medição efetuada.

Figura 111 – Cronograma das medições das coordenada L*a*b* com espectrofotômetro ao longo do tempo e condições da amostra e exposição à lâmpada UVA

	DATA	DESCRIÇÃO	Tempo de Luz UVA (dias)
Medição 1	20/out/17	Amostras carbonatadas (com e sem TiO ₂), antes do enriquecimento nutricional. Data da aplicação do nutriente, Caldo Sabouraud (4mL por amostras), disposição em BOD para aclimação.	Zero
Medição 2	28/nov/17	Amostras com nutriente (aclimatadas na BOD), antes da inoculação com os isolados.	Zero
Medição 3	29/nov/17	Logo após inóculo (amostras úmidas).	Zero
Medição 4	04/dez/17	Disposição na BOD (sem acionamento da lâmpada).	Zero
Medição 5	11/dez/17	Antes do acionamento da lâmpada. Data do acionamento da lâmpada (fotoperíodo 1 hora/dia).	Zero
Medição 6	18/dez/17	Após acionamento da lâmpada (fotoperíodo 1 hora/dia).	7
Medição 7	10/jan/18	Após acionamento da lâmpada (fotoperíodo 1 hora/dia).	30
Medição 8	30/jan/18	Após acionamento da lâmpada (fotoperíodo 1 hora/dia). Data do aumento do fotoperíodo para 2 horas/dia.	50
Medição 9	22/mar/18	Após acionamento da lâmpada (fotoperíodo 2 horas/dia). Data do aumento do fotoperíodo para 4 horas/dia.	101
Medição 10	10/jul	Após acionamento da lâmpada (fotoperíodo 4 horas/dias).	210

Durante a realização do ensaio foi feito o registro da UR e temperatura a cada 30 minutos no interior da BOD com auxílio de termohigrômetro. Foram registrados cerca de 8.000 dados no período de 1 ano de ensaio. A Figura 112 mostra o registro completo do período. A UR média verificada em todo o período foi de 76,85% e a temperatura média de 25°C. No entanto em cerca de 52% do tempo de registro, a UR esteve acima de 80%, conforme mostrado na Tabela 43. Destaca-se que nos

períodos em que as lâmpadas permaneciam acionadas ocorria o aumento da temperatura no interior da BOD, com a conseqüente redução da UR. A temperatura máxima atingida foi de 36°C, estando apenas 5% do tempo total com a temperatura acima de 25°C. Este comportamento resultou na oscilação constante do microclima.

Figura 112 – Monitoramento da UR (%) e temperatura (°C) no interior da BOD durante 1 ano de ensaio

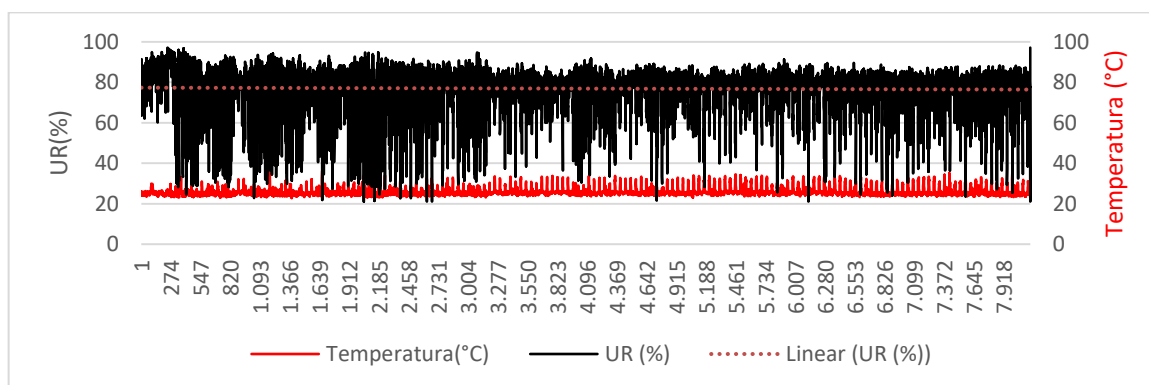


Tabela 43 – Percentual de ocorrência das taxas de UR no período de ensaio na BOD

	Umidade Relativa (UR)				
	< 60%	Entre 60-70%	Entre 70-80%	Entre 80-90%	>90%
Percentual de ocorrência	9,8%	8,5%	26%	52,7%	3%

Para cada uma das configurações propostas, considerando os isolados fúngicos, *Aspergillus niger*, *Purpureocillium lilacinum*, bem como o consórcio a partir de cinco fungos selecionados (*Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *C. sphaerospermum*, *Trichoderma atroviride* e *Acremonium* sp.) para amostras com ou sem o fotocatalisador, nas condições de exposição à luz ou escuro, foram formuladas fichas com os principais resultados obtidos.

As fichas constam das imagens das amostras monitoradas ao longo do tempo, um gráfico da variação de cor (ΔE), considerando a média das três medições de cada amostra, um gráfico da variação de luminosidade (ΔL), também considerando as médias, além de algumas imagens das estruturas fúngicas no substrato de argamassa, obtidas a partir da análise em lupa estereoscópica (Zeiss Stemi 508 doc Stereo microscope). Primeiramente são apresentadas as fichas referentes ao fungo *A. niger*, em seguida realizados os comentários quanto aos dados obtidos (Figura 113, Figura 114, Figura 115 e Figura 116).

Figura 113 – Compilação de dados Isolado 1 com TiO₂ exposto à luz UVA

ISOLADO 1

Aspergillus niger

**Amostras com TiO₂
Exposição à luz UV-A**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



Placa de petri (100x20mm)
Crescimento inferior



Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 20x

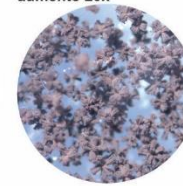
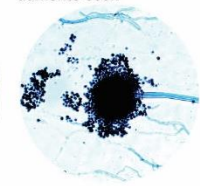
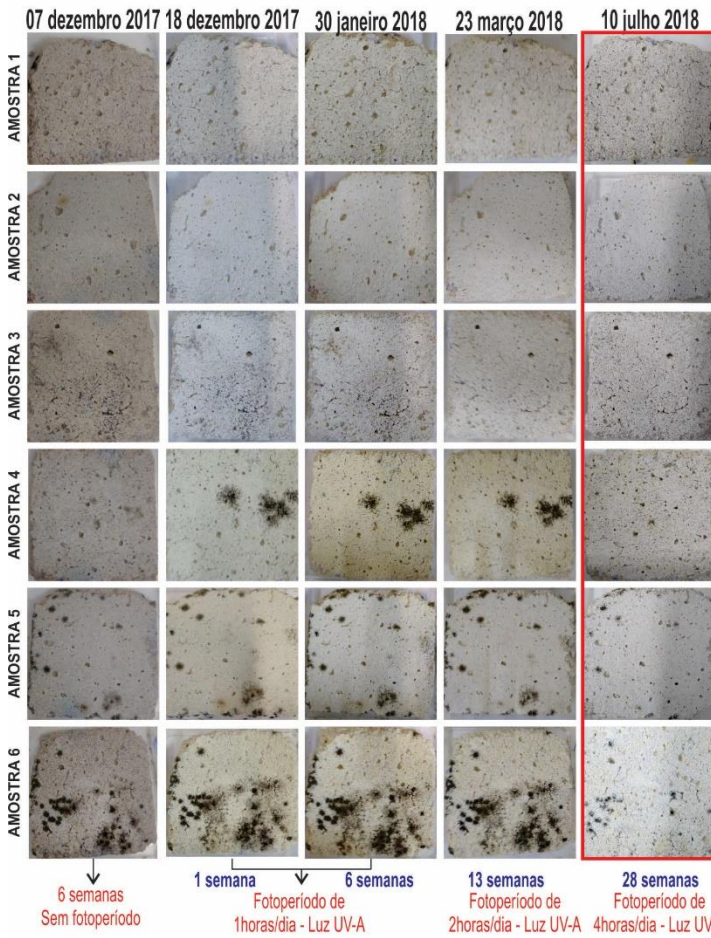


Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

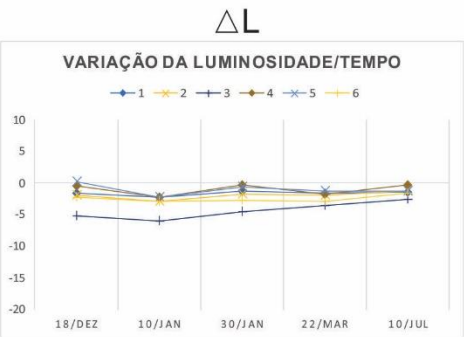
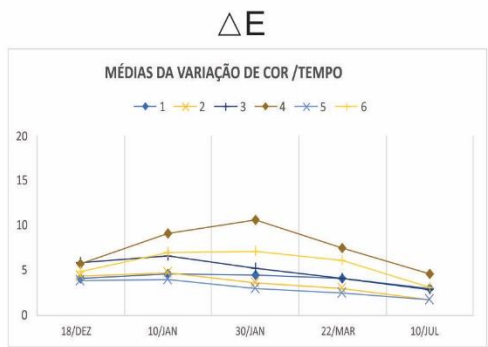


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

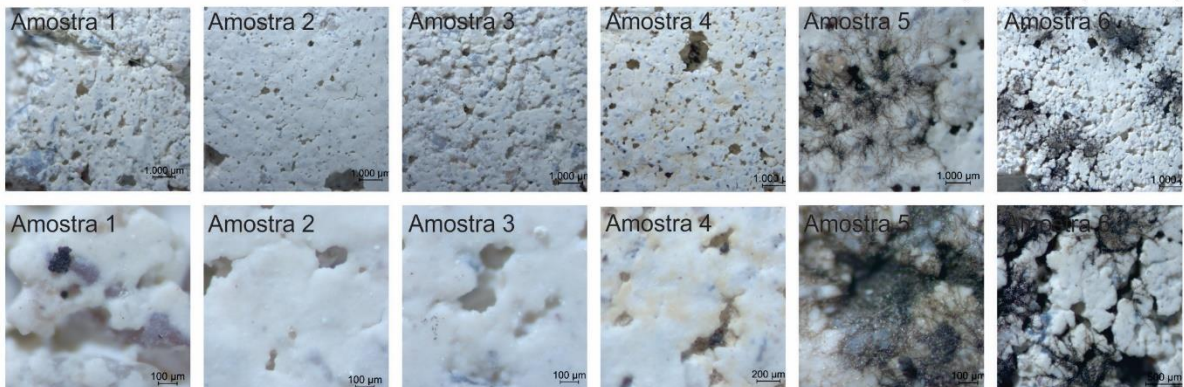


Figura 114 – Compilação de dados Isolado 1 sem TiO₂ exposto à luz UVA

ISOLADO 1

Aspergillus niger

**Amostras sem TiO₂
Exposição à luz UV-A**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



Placa de petri (100x20mm)
Crescimento inferior



Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 20x

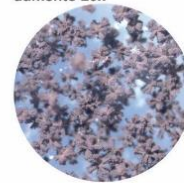
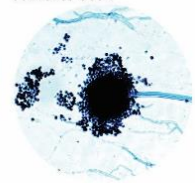
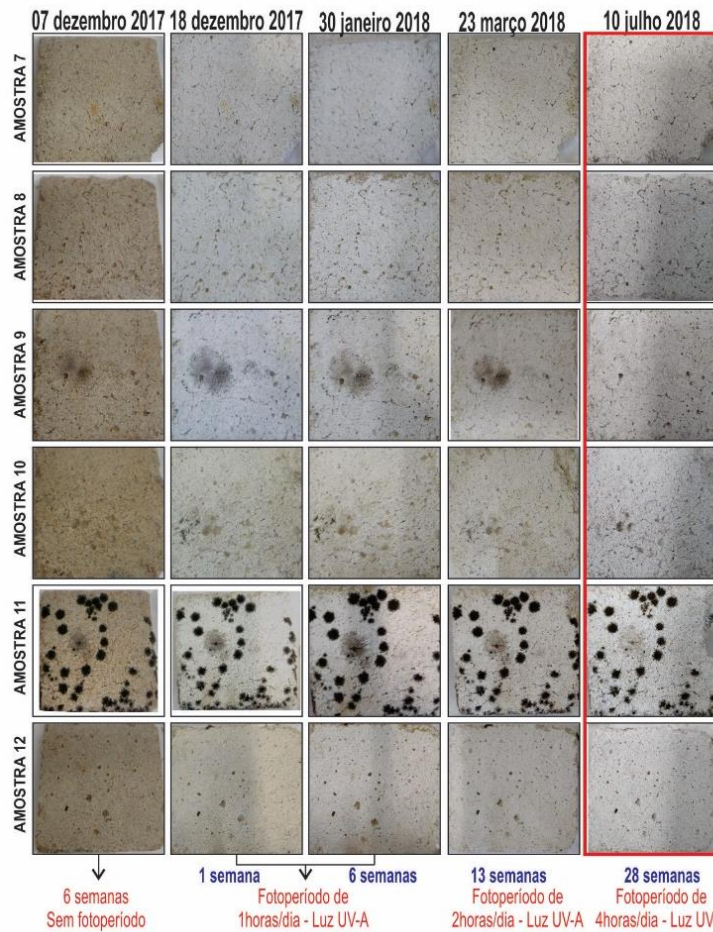


Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

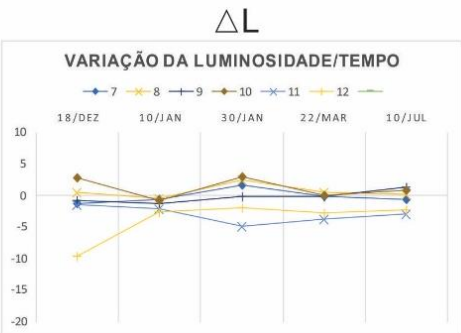
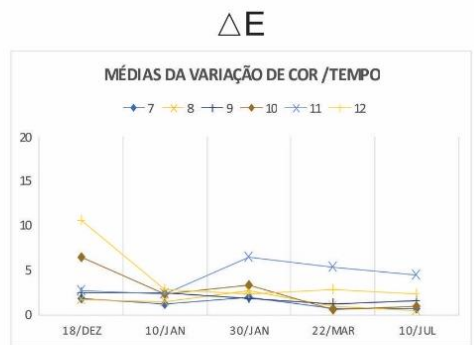


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

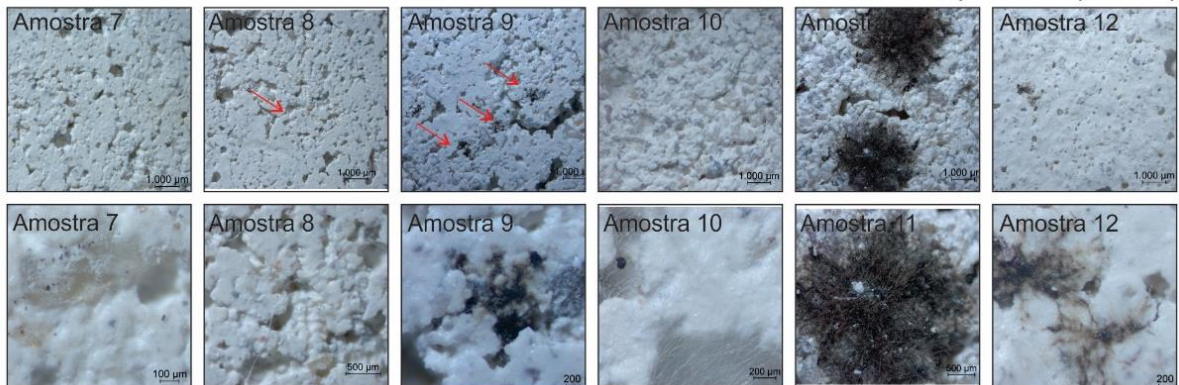


Figura 115 – Compilação de dados Isolado 1 com TiO₂ condição de escuro

ISOLADO 1

Aspergillus niger

**Amostras com TiO₂
Condição escuro**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



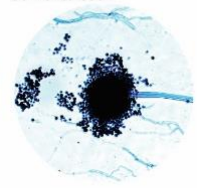
Placa de petri (100x20mm)
Crescimento posterior



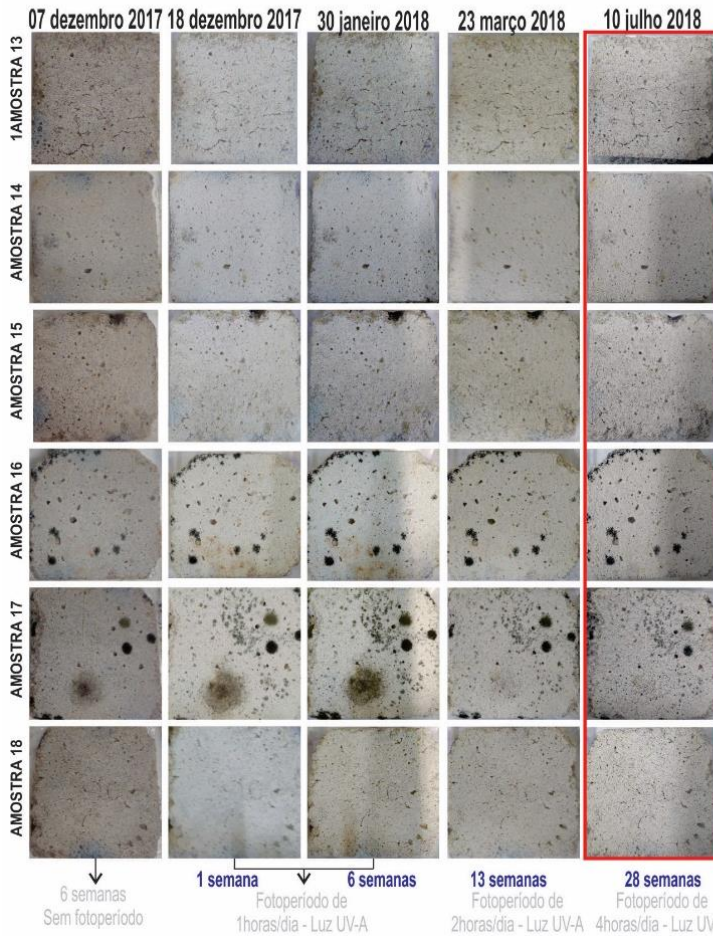
Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 20x



Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

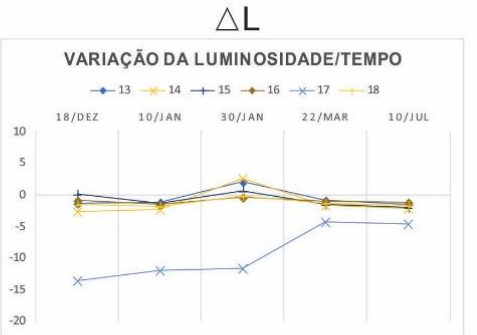
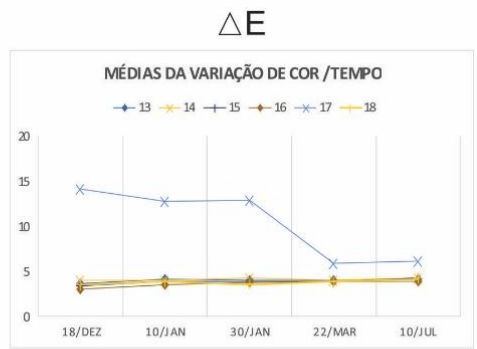


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

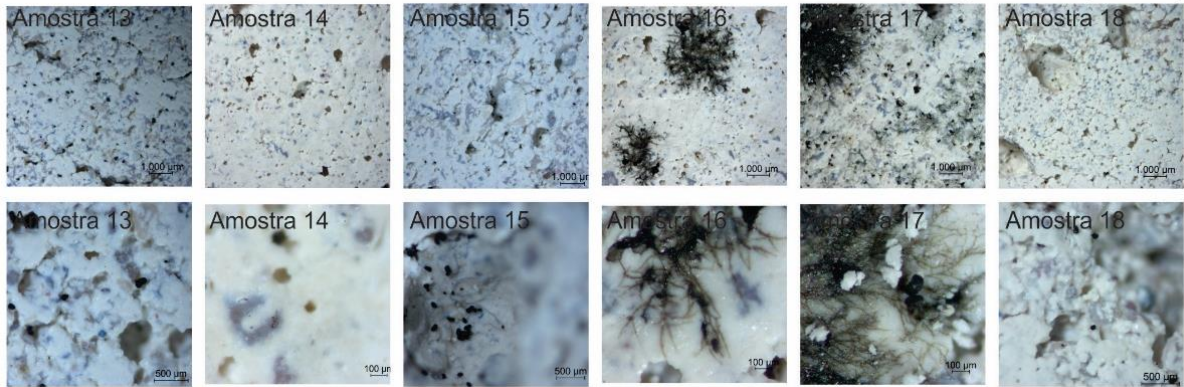


Figura 116 – Compilação de dados Isolado 1 sem TiO₂ condição de escuro

ISOLADO 1

Aspergillus niger

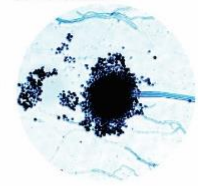
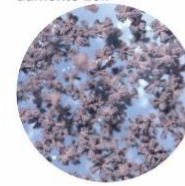
**Amostras sem TiO₂
Condição escuro**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior

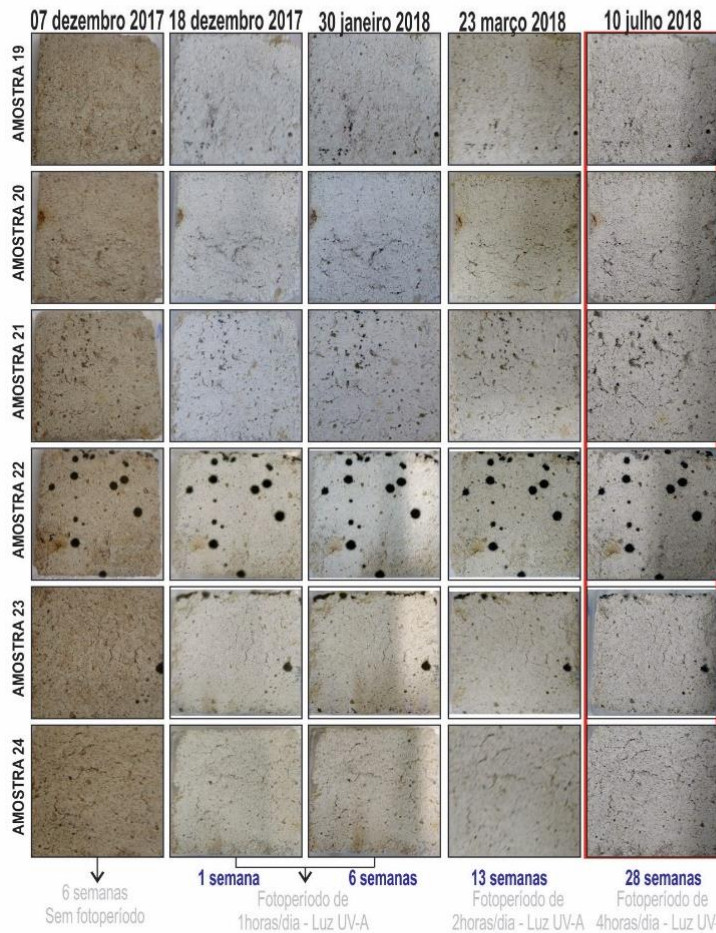
Placa de petri (100x20mm)
Crescimento posterior

Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 20x

Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



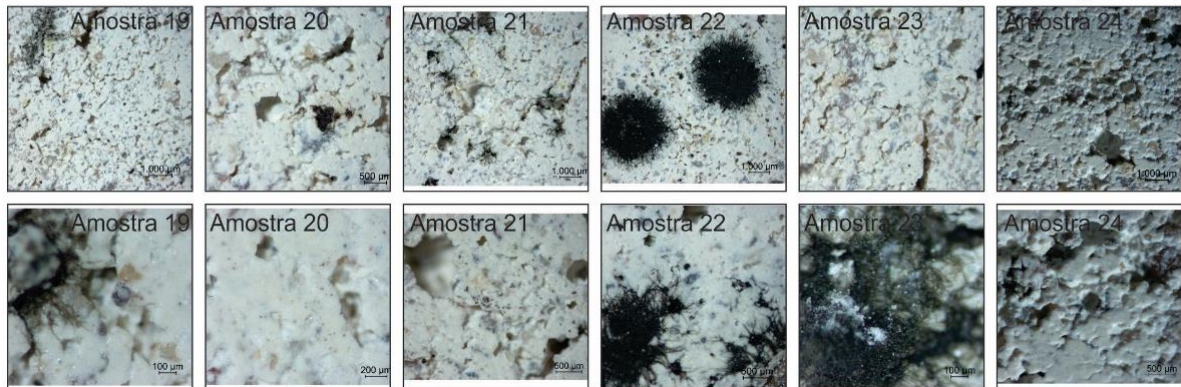
IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO



IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)



Com base nos dados apresentados na Figura 113, para a condição de aplicação do TiO_2 , e exposição à luz, para o isolado 1 (*A. niger*), ocorreu o crescimento predominante das colônias nas amostras 4 e 6. Observando o gráfico para variação de cor (ΔE), inicialmente há um aumento da variação, com a posterior redução, principalmente após a exposição de 2 horas luz/dia. Após 4 horas de exposição ao dia, o clareamento foi ainda maior. Desta forma, destaca-se a eficiência do fotocatalisador com relação ao fungo *A. niger* a partir de 2 horas diárias de luz para estas amostras.

Para a condição sem TiO_2 e com exposição à luz (Figura 114) verificou-se muito pouco crescimento nas amostras quando visualizadas a olho nu. Na amostra 11 verificou-se o crescimento efetivo do fungo inoculado, com a elevação no ΔE . Visualmente as colônias permaneceram com a coloração bastante intensa, embora as médias calculadas para a variação de cor mostrem uma tendência leve à redução após 2 horas diárias de exposição à luz UVA.

As amostras com a aplicação do TiO_2 e em condição de escuro (Figura 115) também apresentaram reduzido crescimento. Na amostra 17, onde houve a formação de colônias visíveis, observou-se a redução na diferença de cor, demonstrando haver uma provável influência do fotocatalisador mesmo em condição de escuro.

As amostras sem a aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro apresentaram muito reduzido crescimento, com exceção da amostra 22 que apresentou crescimento de colônias. Nesta amostra não houve alteração efetiva.

Desta forma, comparativamente às demais condições de exposição das amostras, é possível inferir que há a interferência tanto da luz UVA quanto do fotocatalisador no crescimento do fungo *A. niger*. Nas duas amostras com o fotocatalisador e expostas à luz, em que se verificou o crescimento intenso das colônias, foi efetiva a propriedade autolimpante do TiO_2 , principalmente após 4 horas de exposição diária à luz UVA.

A Tabela 44 mostra os valores calculados para variação de cor (ΔE) para todas as dez medições, conforme descrito na Figura 111, correspondentes à cada um dos três pontos das seis repetições das amostras com aplicação do TiO_2 , inoculadas com o fungo *A. niger* e expostas à luz UVA. Junto à tabela, apresenta-se uma legenda

proposta por Petter; Gliese (2004) *apud* Fioretti (2010) para classificação da distinguibilidade da variação da cor relacionada à percepção humana a olho nu.

Os valores de ΔE calculados referem-se sempre à medição 1, realizada em 20 de outubro, com as amostras carbonatadas, com aplicação ou não do fotocatalisador, antes da aplicação do nutriente e inóculo do fungo. Verifica-se que, a partir da exposição à luz, todas as amostras apresentaram redução da variação de cor, resultante da secagem das amostras devido ao acionamento das lâmpadas.

Tabela 44 – ΔE para as amostras do Isolado 1 **com** aplicação do TiO_2 e expostas à luz

Diferença de cor		
	0 - 0,2	Imperceptível
	0,2 – 0,5	Muito pequena
	0,5 – 1,5	Pequena
	1,5 – 3	Distinguível
	3 – 6	Facilmente distinguível
	> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)					Com luz (Tempo em semanas)				
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	FINAL
1	1.1	11,83	12,07	13,00	12,66	4,23	5,13	4,82	3,94	2,97
	1.2	11,21	10,73	11,76	11,65	4,10	4,09	4,25	4,18	3,24
	1.3	11,94	12,02	13,16	13,34	4,04	4,69	4,45	4,24	2,86
2	2.1	12,34	17,86	17,18	13,53	5,02	6,01	5,47	4,72	2,85
	2.2	11,16	11,78	13,94	12,60	4,17	4,76	3,04	2,24	1,14
	2.3	12,34	12,66	13,46	13,02	4,01	3,39	2,28	1,93	1,26
3	3.1	11,12	11,94	16,22	13,60	5,53	7,01	5,22	3,80	2,25
	3.2	11,00	12,28	12,93	12,17	5,04	5,64	4,32	4,40	2,88
	3.3	13,37	14,25	16,33	15,89	6,85	7,24	6,12	4,01	3,32
4	4.1	9,80	11,55	12,24	11,47	5,77	9,17	10,68	8,00	6,02
	4.2	7,46	7,41	8,24	7,68	5,86	8,80	10,74	7,65	5,11
	4.3	10,50	11,18	11,89	10,87	5,65	9,41	10,45	6,86	2,47
5	5.1	10,11	11,42	11,49	11,47	3,94	3,82	2,78	2,55	1,17
	5.2	11,18	12,05	12,20	12,37	4,16	4,92	3,48	2,97	2,54
	5.3	11,22	11,89	12,24	12,17	3,34	3,29	2,48	1,79	1,36
6	6.1	11,03	11,82	11,37	11,64	4,64	7,13	7,94	7,19	3,88
	6.2	10,61	10,68	12,08	13,35	5,04	7,88	8,04	6,39	3,11
	6.3	12,96	11,99	11,62	14,63	4,98	5,87	5,43	4,53	2,44

*Antes do inóculo

**Após inóculo

As amostras 4 e 6 (Tabela 44) mesmo após o acionamento da luz, apresentaram o crescimento das colônias, com a posterior redução após 4h/dia de incidência lumínica.

A Tabela 45 apresenta os valores de ΔE para as amostras sem aplicação do fotocatalisador, inoculadas com o mesmo fungo (*Aspergillus niger*) e expostas à luz UVA.

Tabela 45 – ΔE para as amostras do Isolado 1 **sem** aplicação do TiO₂ e expostas à luz

Diferença de cor	
0 - 0,2	Imperceptível
0,2 – 0,5	Muito pequena
0,5 – 1,5	Pequena
1,5 - 3	Distinguível
3 - 6	Facilmente distinguível
> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)					
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	FINAL
7	7.1	13,55	13,29	13,55	12,75	1,97	0,83	2,12	0,85	0,91
	7.2	13,21	12,83	13,71	13,51	2,81	2,32	1,84	0,89	0,97
	7.3	15,57	14,76	14,00	13,05	0,72	0,58	1,98	0,50	0,37
8	8.1	11,98	13,60	11,70	13,59	1,57	1,52	2,15	0,73	0,34
	8.2	12,67	12,36	13,17	13,30	2,26	1,69	2,78	1,13	0,42
	8.3	13,41	13,52	12,51	13,95	1,48	1,25	3,24	1,18	0,43
9	9.1	14,33	15,29	14,99	17,08	4,81	5,22	2,80	1,82	1,28
	9.2	12,73	14,68	13,71	13,95	1,48	2,06	1,62	1,13	1,89
	9.3	14,23	15,19	15,36	14,31	1,18	0,20	0,95	0,84	1,51
10	10.1	15,32	15,29	15,33	16,31	5,58	2,67	2,30	0,76	0,59
	10.2	15,93	16,20	15,45	15,38	8,45	2,24	3,15	0,67	1,06
	10.3	15,84	16,01	16,96	16,67	5,55	2,24	4,57	0,34	1,32
11	11.1	15,44	13,38	17,46	25,55	3,98	4,74	16,99	13,42	10,57
	11.2	13,88	15,12	14,69	14,92	2,29	0,23	1,56	1,49	1,70
	11.3	15,39	15,46	15,93	15,17	1,71	1,91	0,97	1,08	1,23
12	12.1	17,09	17,44	17,17	17,82	10,83	4,39	4,00	4,63	4,05
	12.2	15,19	15,55	14,92	16,24	10,85	3,06	2,01	2,29	1,84
	12.3	15,73	15,69	15,18	15,61	10,00	1,22	0,98	1,69	0,95

*Antes do inóculo

**Após inóculo

Destaca-se que nas amostras de 7 à 12 não houve um crescimento efetivo do fungo na superfície, com exceção das amostras 9 e 11. A amostra 11 praticamente não sofreu alteração no crescimento verificado superficialmente e observável na Figura 114. A medição realizada no ponto 11.1, conforme Tabela 45, demonstra essa baixa alterabilidade ao longo do tempo. Os pontos 11.2 e 11.3, que apresentaram redução na diferença de cor, podem ser resultantes do posicionamento do espectrofotômetro

de forma a não cobrir as colônias que se mantiveram inalteradas. A amostra 9, apresentou um crescimento com aspecto morfológico diferenciado, provavelmente uma contaminação da amostra. O fungo inoculado, não apresentou crescimento efetivo. De todo modo, o crescimento resultante da contaminação, apresentou descoloração ao longo do tempo, mesmo sem a presença do fotocatalisador.

A Tabela 46 mostra os resultados da variação de cor para as amostras inoculadas com o fungo *A. niger*, com a aplicação do TiO₂, e na condição de escuro.

Tabela 46 – ΔE para as amostras do Isolado 1 **com** aplicação do TiO₂ e em condição de escuro

Diferença de cor		
	0 - 0,2	Imperceptível
	0,2 – 0,5	Muito pequena
	0,5 – 1,5	Pequena
	1,5 - 3	Distinguível
	3 - 6	Facilmente distinguível
	> 6	Grande

AMOSTRAS		ΔE (calculado com relação à medição 1)								
		Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)				
		5*	5**	6	7	1	4	6	13	28
FINAL										
13	13.1	12,05	12,75	11,99	13,91	5,09	5,78	4,60	5,19	5,30
	13.2	10,12	11,78	9,71	10,21	2,82	3,61	3,89	3,71	3,94
	13.3	9,70	9,97	9,90	10,68	2,95	3,05	3,68	3,11	3,22
14	14.1	11,49	12,61	11,77	12,80	4,41	4,52	4,73	4,65	4,76
	14.2	10,15	10,94	10,53	10,78	3,19	3,58	4,00	3,60	3,87
	14.3	11,53	10,79	11,76	12,06	4,38	3,80	3,98	3,65	4,31
15	15.1	10,30	11,37	10,03	12,03	3,09	3,80	3,12	3,82	4,16
	15.2	10,12	10,14	9,66	11,24	3,87	4,00	4,18	3,95	4,50
	15.3	8,92	10,12	10,46	11,03	3,37	4,04	4,20	3,85	4,19
16	16.1	3,92	12,01	10,31	10,55	3,07	3,42	3,13	3,85	4,15
	16.2	11,24	11,65	9,93	11,01	3,22	4,15	4,45	4,21	3,77
	16.3	9,30	10,61	9,28	9,76	2,74	3,11	3,64	3,63	3,88
17	17.1	10,50	10,86	10,88	11,80	3,57	3,92	2,99	4,06	4,76
	17.2	9,79	9,60	9,46	21,64	14,75	11,18	8,15	7,14	7,09
	17.3	12,52	9,81	11,34	27,26	24,34	23,28	27,58	6,32	6,77
18	18.1	10,20	10,43	9,41	11,33	3,65	4,24	3,99	4,12	4,66
	18.2	10,52	10,38	8,80	11,68	4,01	4,15	3,54	3,87	4,39
	18.3	10,65	10,07	7,17	9,95	2,90	3,36	3,31	3,75	3,71

*Antes do inóculo

**Após inóculo

Com base na Tabela 46 observa-se que a principal alteração com relação à variação de cor, ocorreu após o acionamento das lâmpadas. Embora as amostras

permanecessem em condição de escuro, cobertas com relação à incidência da luz UVA, por estarem no interior do mesmo equipamento, o aquecimento provocado pelas lâmpadas promoveu o aumento de temperatura da ordem de 30%, resultando na secagem também destas amostras. Das 6 amostras analisadas, a amostra 17 foi a única que apresentou um crescimento intenso, de fácil percepção. O ponto 17.3, embora apresente diferença de cor bastante distinguível na medição final, mostrou uma importante redução, comparado a medições anteriores (de 27,48 a 6,32), alteração perceptível na superfície da amostra (Figura 115).

Com relação às amostras inoculadas com o mesmo fungo, sem aplicação de TiO₂ e em condição de escuro, os dados são mostrados na Tabela 47.

Tabela 47 – ΔE para as amostras do Isolado 1 **sem** aplicação do TiO₂ e em condição de escuro

Diferença de cor		
0 - 0,2	Imperceptível	
0,2 – 0,5	Muito pequena	
0,5 – 1,5	Pequena	
1,5 – 3	Distinguível	
3 – 6	Facilmente distinguível	
> 6	Grande	

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)					Com luz (Tempo em semanas)				
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	FINAL
13	13.1	13,72	14,92	13,45	13,47	1,00	0,72	1,85	0,83	1,05
	13.2	14,17	12,94	13,77	13,54	0,85	0,80	1,06	1,03	1,30
	13.3	17,78	16,37	16,19	16,61	2,51	2,43	2,87	2,62	2,41
14	14.1	14,77	14,72	14,05	14,58	0,84	1,02	1,83	1,21	1,50
	14.2	17,20	14,97	14,18	15,52	1,90	1,22	1,30	2,19	2,20
	14.3	14,94	14,42	15,39	16,10	4,15	2,61	1,70	1,47	1,04
15	15.1	15,91	16,62	16,25	16,24	1,91	2,69	1,95	2,51	2,54
	15.2	14,41	17,04	14,65	14,96	0,48	0,80	1,13	1,06	0,92
	15.3	13,60	14,54	14,84	15,00	1,05	1,15	1,40	1,20	1,28
16	16.1	14,02	14,36	13,63	14,74	1,53	1,86	1,99	2,18	1,82
	16.2	13,96	14,56	14,42	14,05	2,01	2,34	3,05	3,06	3,03
	16.3	12,09	12,28	13,30	14,43	1,62	1,33	2,71	1,66	1,46
17	17.1	14,10	14,75	14,79	14,31	1,73	1,07	2,25	1,78	2,01
	17.2	12,53	13,99	13,31	11,65	2,50	3,24	3,85	1,54	1,89
	17.3	14,69	13,55	13,74	14,02	1,08	1,33	3,49	1,31	1,43
18	18.1	14,32	14,33	11,76	14,70	1,50	1,95	1,53	1,09	1,32
	18.2	14,02	14,55	13,83	13,36	0,94	0,92	0,92	0,85	1,33
	18.3	13,73	16,11	16,16	15,50	1,83	2,43	12,23	1,74	1,97

*Antes do inóculo **Após inóculo

Com base na Tabela 47 é possível verificar um comportamento semelhante às amostras com o fotocatalisador e dispostas em condição de escuro. Das seis amostras analisadas o crescimento ocorreu de forma pouco intensa, resultando, portanto, em pouca alteração na variação de cor ao longo das medições.

Como as medições foram realizadas em três pontos específicos das amostras e o crescimento das colônias não ocorreu de modo homogêneo ao longo das placas, por vezes, o comportamento observado através das imagens fotográficas, mostrou-se mais eficiente para avaliação do potencial autolimpante do fotocatalisador, conforme verificado na Figura 117. As Figura 117(a) e 118(b) mostram a amostra 4 com aplicação do TiO_2 e expostas à luz, na medição 6 (após 1 semana de exposição 1 hora/dia de luz UVA) e na medição 10 (após 28 semanas de exposição de 4 horas/dia de luz UVA), respectivamente, destacando a evidente redução do manchamento. A amostra 6, Figuras 118(c) e 118(d), correspondem a mesma configuração, também resultando na visível redução do manchamento. Já a Figura 118(e) e 118(f) mostram a amostra 11, sem a aplicação do fotocatalisador, para o mesmo período. Neste caso, houve pouca alteração quanto ao manchamento do isolado inoculado.

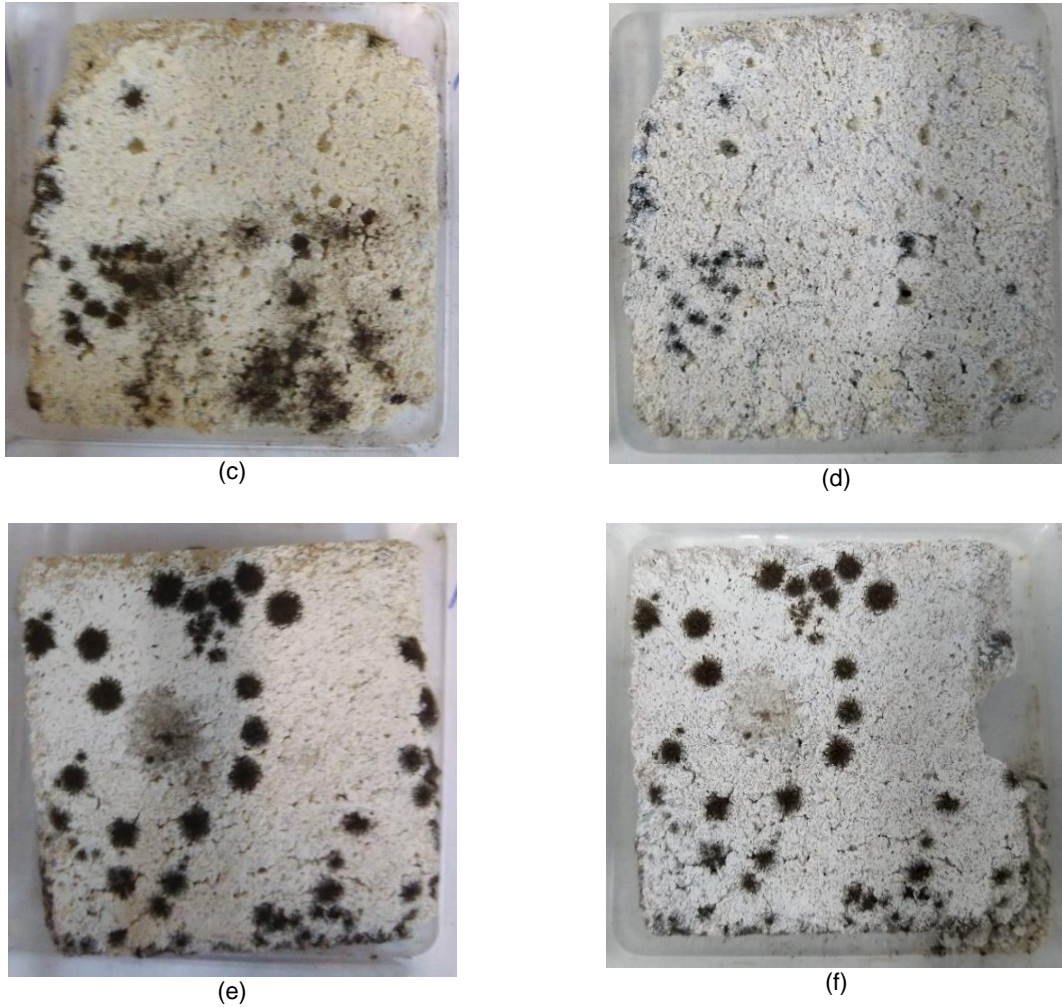
Figura 117 – Imagens da evolução do manchamento fúngico: a) amostra 4 com TiO_2 e exposto à luz UVA (1 semana); b) amostra 4 com exposição à luz UVA (28 semanas); c) amostra 6 com TiO_2 e exposto à luz UVA (1 semana); d) amostra 6 com exposição à luz UVA (28 semanas); e) amostra 11 sem TiO_2 e exposto à luz UVA (1 semana); f) amostra 11 com exposição à luz UVA (28 semanas)



(a)

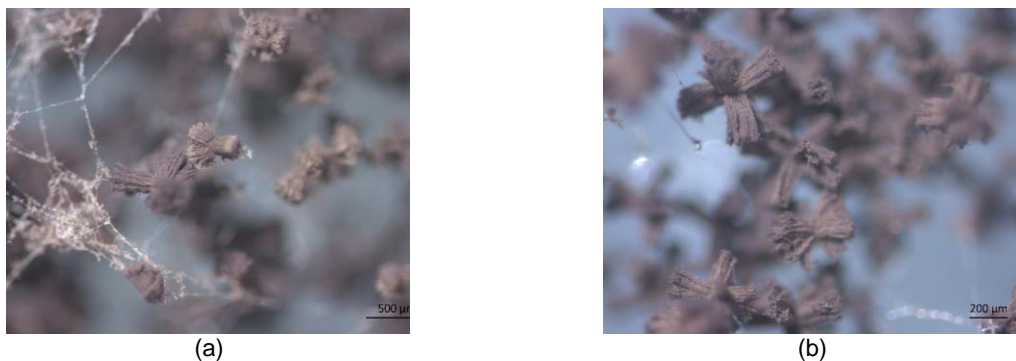


(b)



A Figura 118 (a e b) mostra imagens obtidas em lupa estereoscópica, das estruturas do fungo *A. niger* com crescimento isolado em placa de Petri, evidenciando as estruturas de pigmentação escura e as hifas hialinas.

Figura 118 – Imagens em lupa estereoscópica do Isolado 1 *Aspergillus niger* em placa e Petri com meio nutriente ágar Sabouraud e das amostras inoculadas: a) 500µm; b) 200µm



A Figura 119, Figura 120, Figura 121 e Figura 122 (a e b) mostram o crescimento do fungo *A. niger* nos substratos de argamassa para as diferentes condições de análise.

É possível observar uma distinção quanto à morfologia das colônias entre as amostras com TiO_2 e expostas à luz, onde as estruturas embora presentes, apresentam um aspecto fortemente aderido, enquanto as amostras com TiO_2 em condição de escuro ou sem TiO_2 , independente da incidência lumínica, apresentam crescimento aéreo com pequenas estruturas de coloração branca, depositadas sobre o micélio.

Figura 119 – Crescimento do Isolado 1 *Aspergillus niger* na amostra com aplicação do fotocatalisador e exposta à luz UVA: a) 500 μm ; b) 100 μm

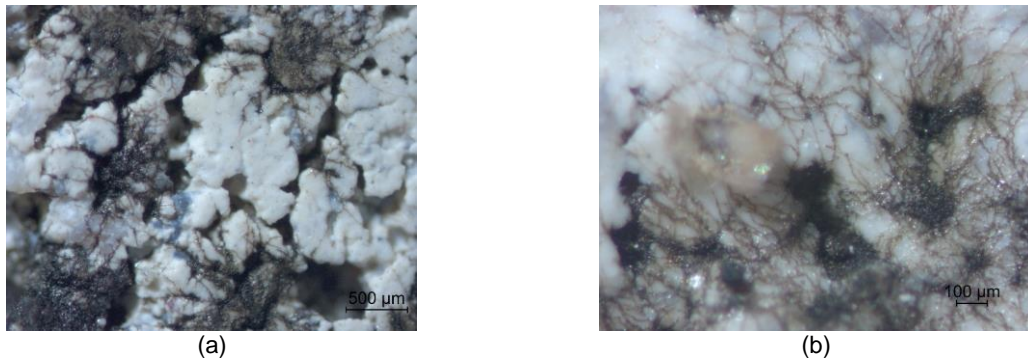


Figura 120 – Crescimento do Isolado 1 *Aspergillus niger* na amostra com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000 μm ; b) 100 μm

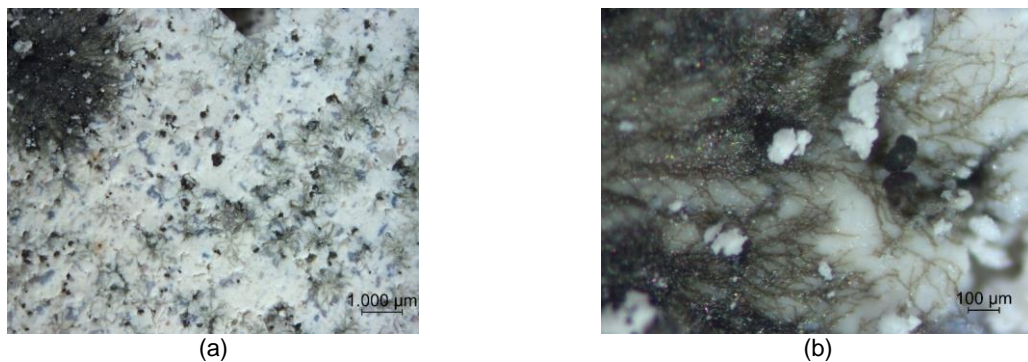


Figura 121 – Crescimento do Isolado 1 *Aspergillus niger* na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) 500 μm ; b) 100 μm

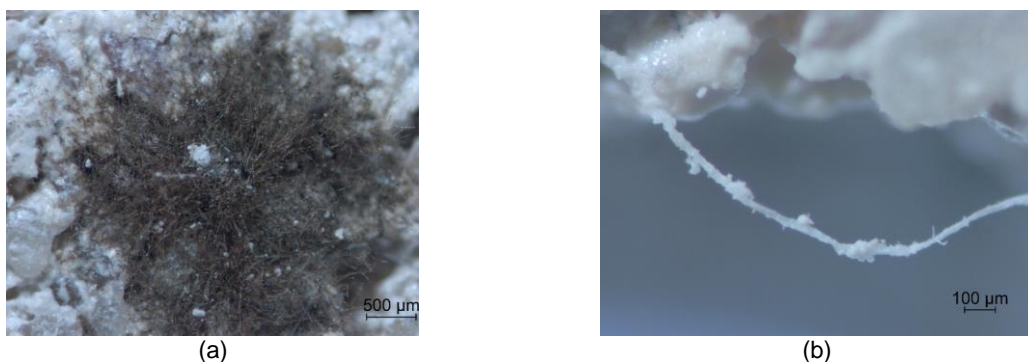
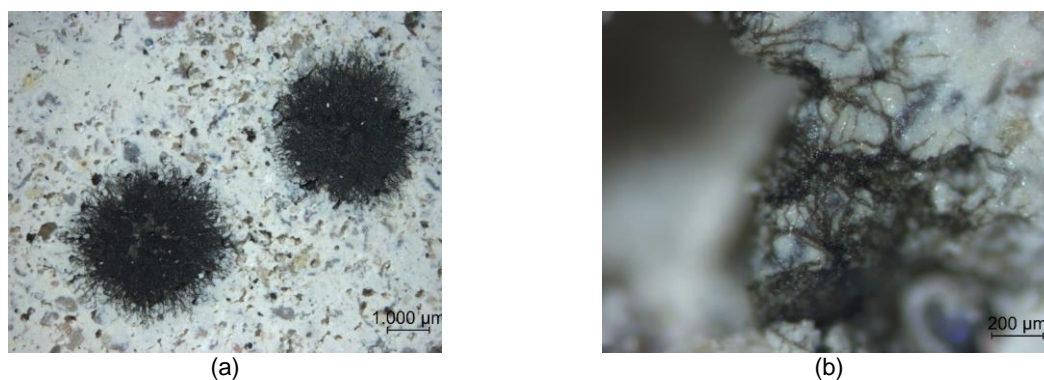
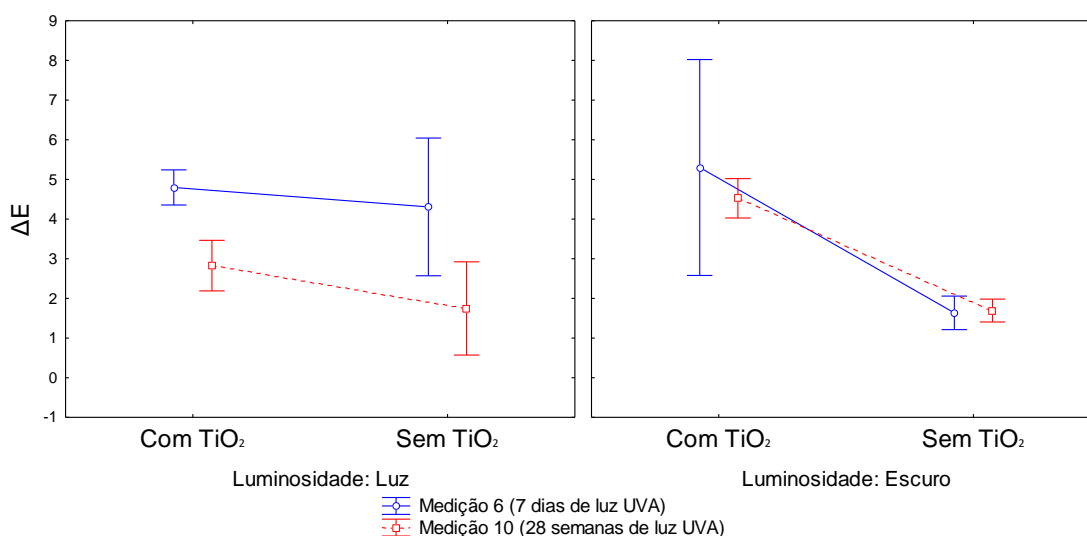


Figura 122 – Crescimento do Isolado 1 *Aspergillus niger* na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000 μm ; b) 200 μm



A Figura 123 apresenta os dados da ANOVA (fatorial), considerando a aplicação ou não do fotocatalisador, exposição ou não à luz, para o fungo *A. niger*. Verifica-se uma diferença significativa quanto à variação de cor entre a leitura inicial (7 dias de luz UVA) e a final (28 semanas de luz UVA) nas amostras com TiO_2 expostas à luz, demonstrando, assim, sua efetividade. Para as amostras que permaneceram em condição de escuro não houve diferença significativa entre a leitura inicial e a final.

Figura 123 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o Isolado 1 (*Aspergillus niger*), com condições de exposição à luz e ao escuro
0,95 intervalo de confiança



O fato da diferença de cor para as leituras nas amostras com o fotocatalisador ser maior do que as leituras das amostras sem o fotocatalisador pode ser justificada pela maior intensidade da coloração branca na medição inicial das amostras com TiO_2 . Sendo assim, as leituras finais para as amostras sem TiO_2 tendem a se aproximar mais das leituras iniciais (mais amareladas), resultando em um menor ΔE .

A Tabela 48 e a Figura 124 mostram a comparação entre os diferentes parâmetros, destacando a diferença significativa da variação de cor entre a leitura inicial (7 dias de luz UVA) e final (28 semanas de luz UVA) das amostras com o fotocatalisador e expostas à luz e sem o fotocatalisador e expostas à luz.

Tabela 48 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o Isolado 1

COMPARAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Luz com TiO ₂ - Leitura inicial* (1)		S	NS	S	NS	NS	S	S
Luz com TiO ₂ - Leitura final* (2)	S		NS	NS	S	S	NS	NS
Luz sem TiO ₂ - Leitura inicial (3)	NS	NS		S	NS	NS	S	S
Luz sem TiO ₂ - Leitura final (4)	S	NS	S		S	S	NS	NS
Escuro com TiO ₂ - Leitura inicial (5)	NS	S	NS	S		NS	S	S
Escuro com TiO ₂ - Leitura final (6)	NS	S	NS	S	NS		S	S
Escuro sem TiO ₂ - Leitura inicial (7)	S	NS	S	NS	S	S		NS
Escuro sem TiO ₂ - Leitura final (8)	S	NS	S	NS	S	S	NS	

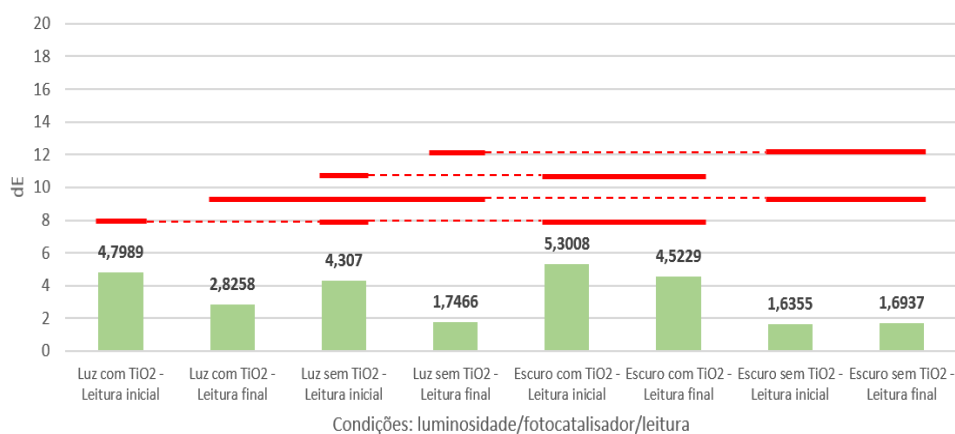
Leitura inicial*: 18 dezembro/2017 (7 dias de fotoperíodo UVA 1h/dia) – medição 6

Leitura final*: 10 julho/2018 (28 semanas de fotoperíodo UVA 4h/dia) – medição 10

S – Variável de controle exerce influência significativa sobre a variável de resposta

NS – Variável de controle não exerce influência significativa sobre a variável de resposta

Figura 124 – ANOVA comparação entre as médias dos diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para o Isolado 1 (*Aspergillus niger*)



A seguir apresentam-se os resultados obtidos para as análises realizadas com o fungo *Purpureocillium lilacinum*. Os dados foram estruturados de modo semelhante aos apresentados para o fungo *Aspergillus niger*. A Figura 125, Figura 126, Figura 127 e Figura 128 mostram as fichas para o isolado 2 nas diferentes configurações proposta.

Figura 125 – Compilação de dados Isolado 2 com TiO₂ exposto à luz UVA

ISOLADO 2

Purpureocillium lilacinum

**Amostras com TiO₂
Exposição à luz UV-A**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



Placa de petri (100x20mm)
Crescimento posterior



Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 100x

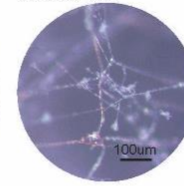
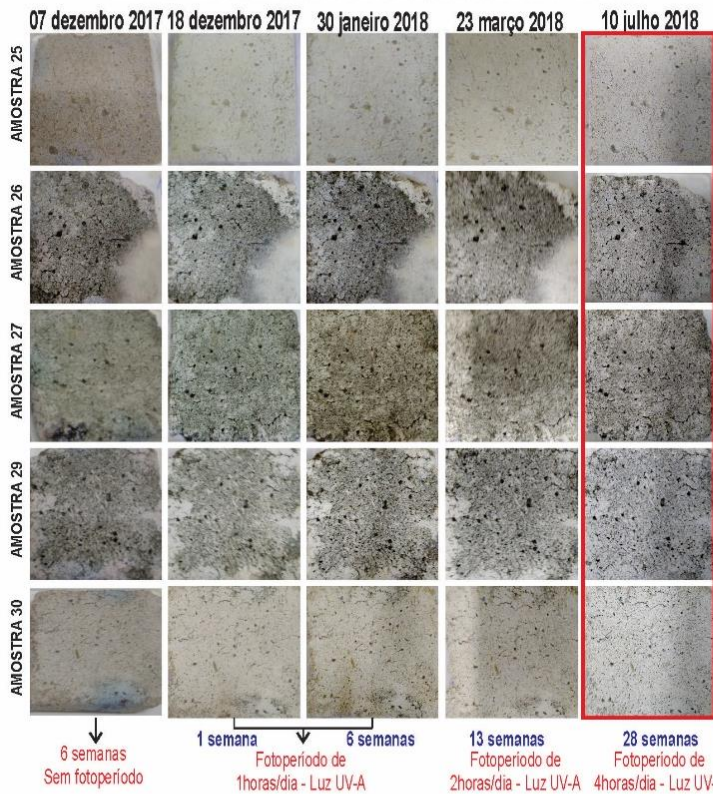


Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

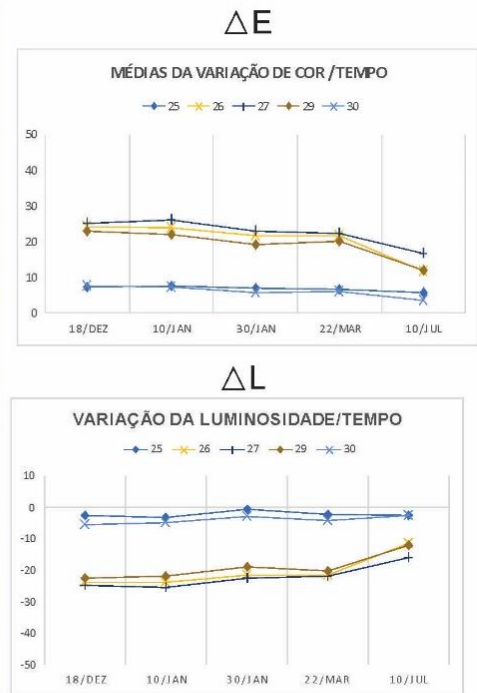


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

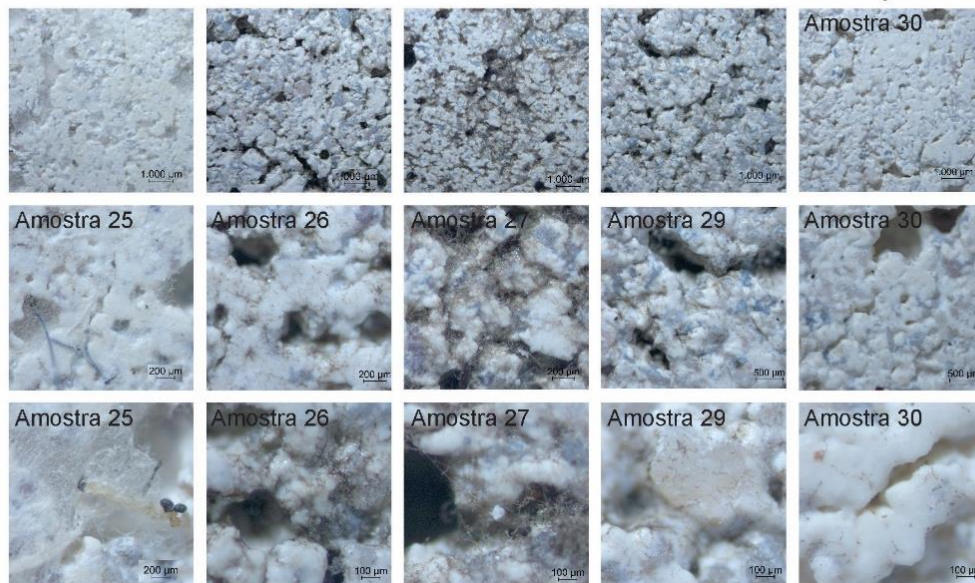
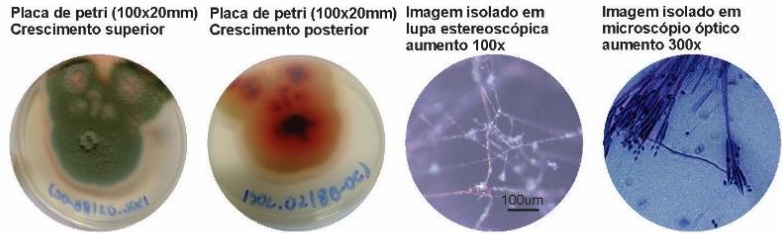


Figura 126 – Compilação de dados Isolado 2 sem TiO₂ exposto à luz UVA

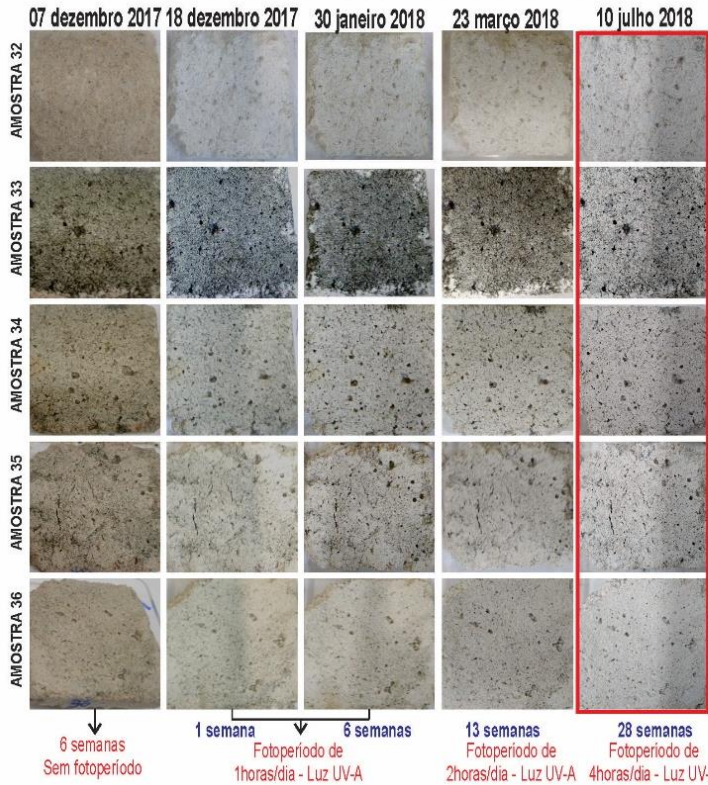
ISOLADO 2

Purpureocillium lilacinum

**Amostras sem TiO₂
Exposição à luz UV-A**



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

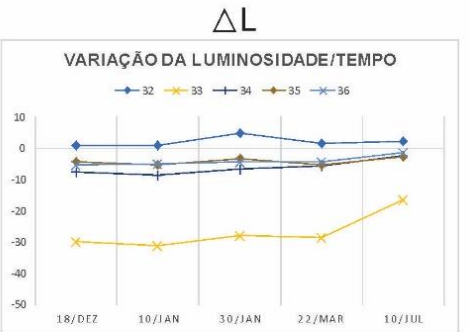
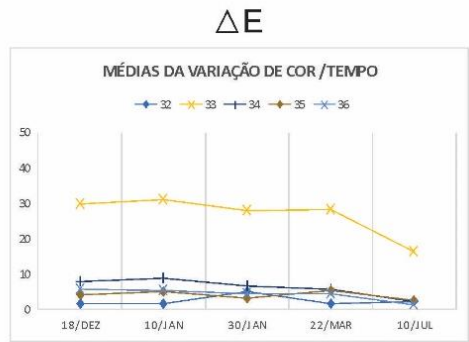


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

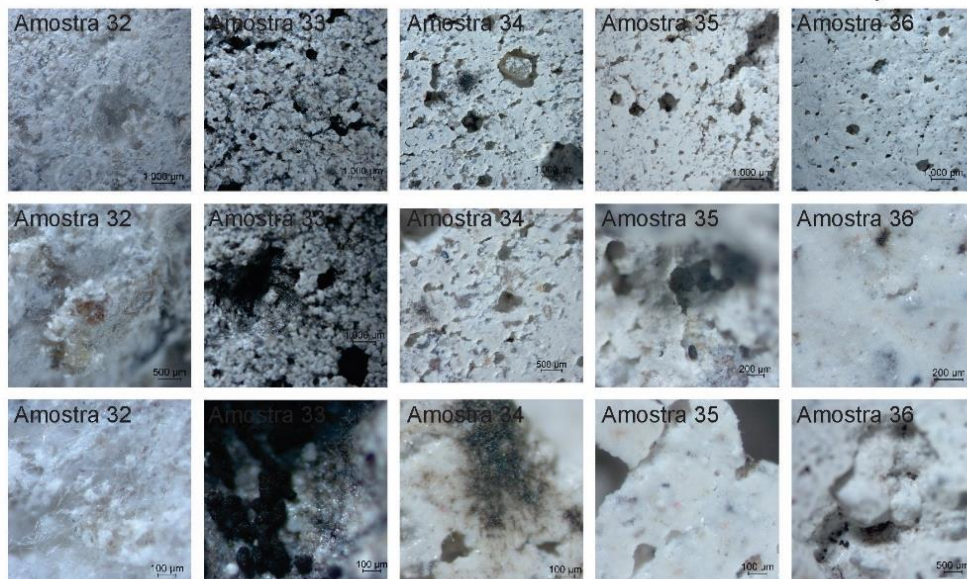


Figura 127 – Compilação de dados Isolado 2 com TiO₂ condição de escuro

ISOLADO 2

Purpureocillium lilacinum

**Amostras com TiO₂
Condição escuro**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



Placa de petri (100x20mm)
Crescimento posterior



Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 100x

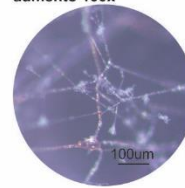
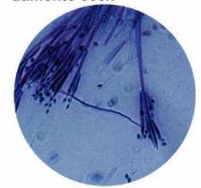
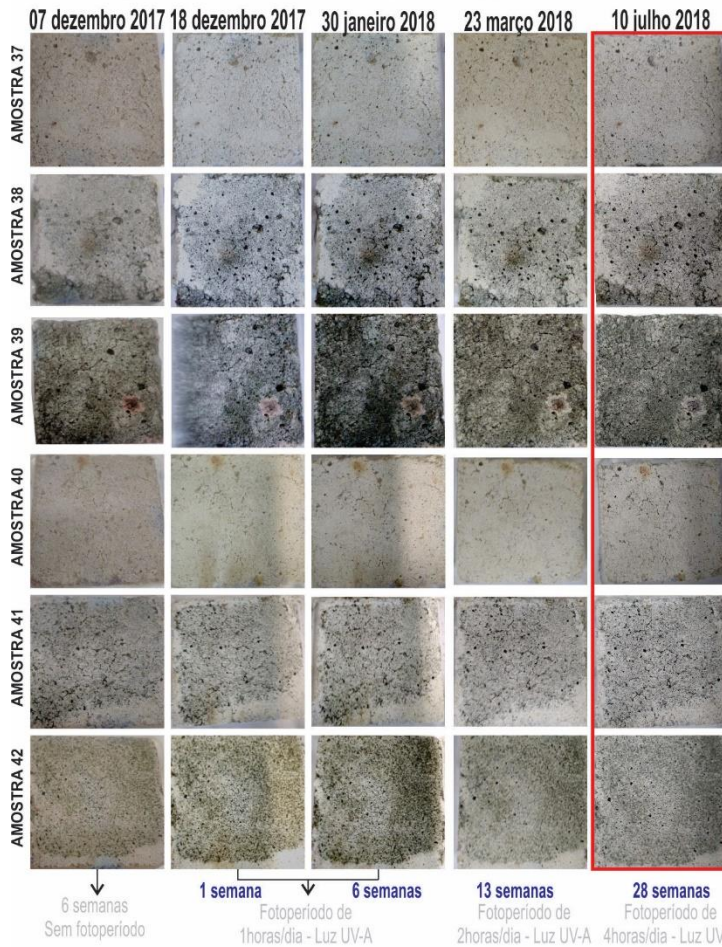


Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

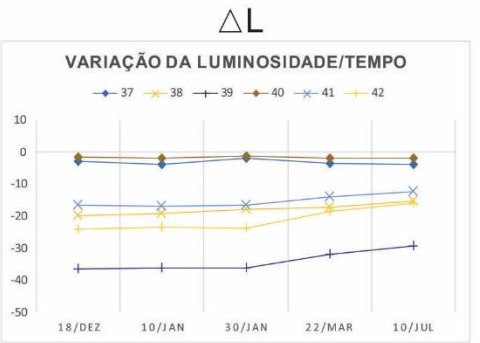
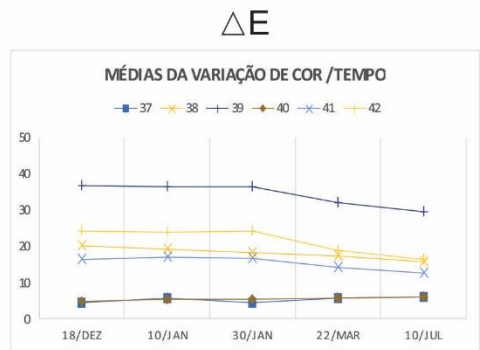


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)

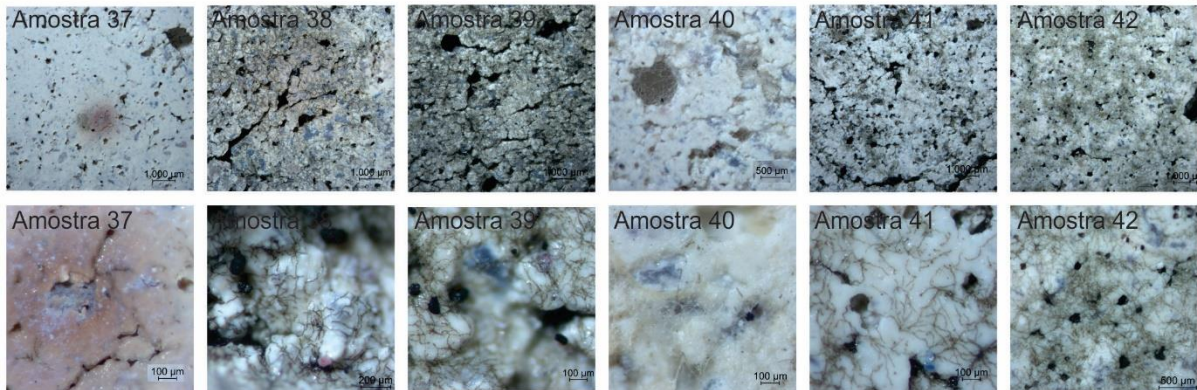


Figura 128 – Compilação de dados Isolado 2 sem TiO₂ condição de escuro

ISOLADO 2

Purpureocillium lilacinum

**Amostras sem TiO₂
Condição escuro**

Placa de petri (100x20mm)
Crescimento superior



Placa de petri (100x20mm)
Crescimento posterior

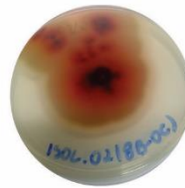


Imagem isolado em
lupa estereoscópica
aumento 100x

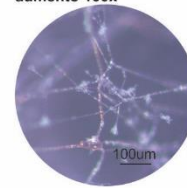
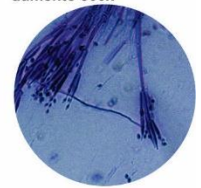
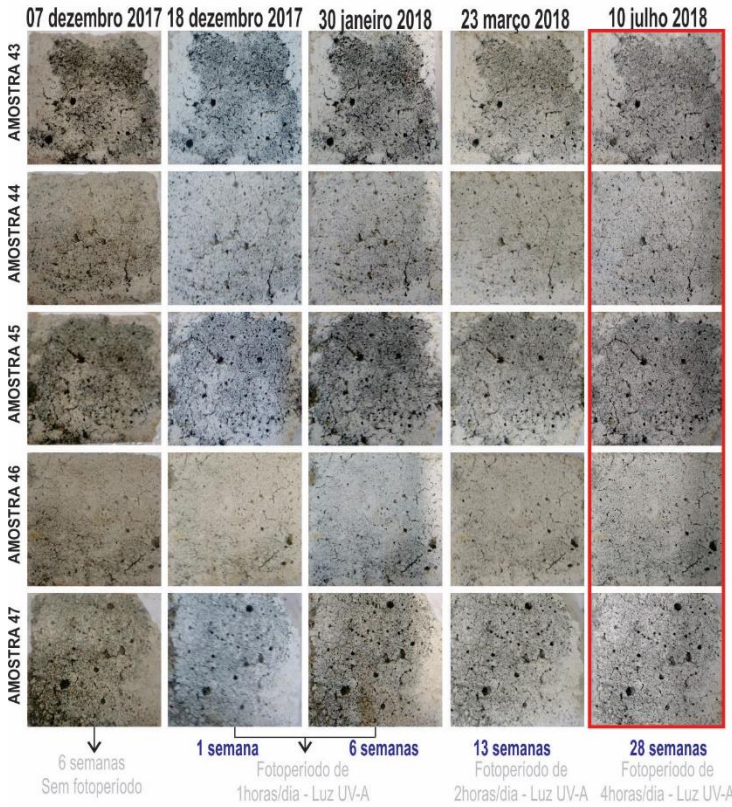


Imagem isolado em
microscópio óptico
aumento 300x



IMAGENS FOTOGRÁFICAS AO LONGO DO TEMPO



MEDIÇÕES COM ESPECTROFOTÔMETRO

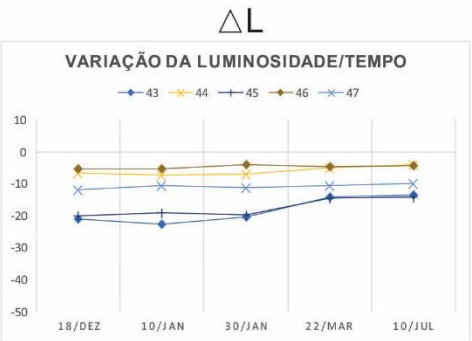
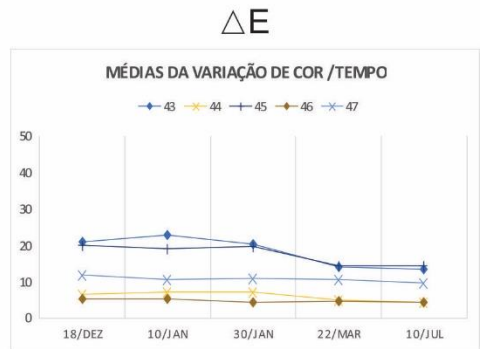
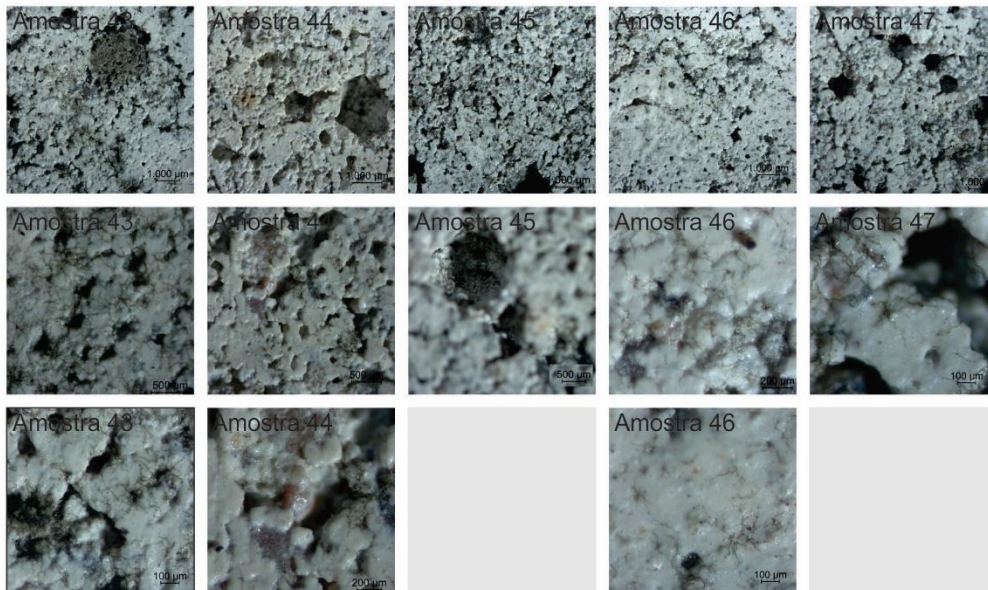


IMAGEM LUPA ESTEREOSCÓPICA - SUPERFÍCIE DO SUBSTRATO EM ARGAMASSA - 10 julho 2018 (232 dias)



Conforme verifica-se na Figura 125 para a condição com TiO₂ e expostas à luz UVA, as amostras 25 e 30 não apresentaram crescimento muito intenso, desta forma, a diferença de cor manteve-se muito similar até o final das medições. As demais amostras apresentaram intenso crescimento de coloração verde escuro. Após o período de exposição por 2 horas/dia de luz UVA (a partir da 7^a semana), verificou-se a redução na diferença de cor, contudo a diferença ocorreu com maior intensidade após incidência lumínica de 4 horas/dia (a partir da 14^a semana). Para a variação de luminosidade, de modo complementar verificou-se o aumento da luminosidade, conforme maior o tempo de exposição à luz. Com relação às amostras sem TiO₂ e expostas à luz UVA (Figura 126), a amostra 33 foi a que apresentou maior crescimento inicial das colônias. Para esta amostra, embora sem o fotocatalisador, observou-se a redução na diferença de cor, evidenciando uma provável influência da luz UVA na manutenção do crescimento, resultando no clareamento ao longo do tempo.

As amostras com TiO₂ na condição de escuro também apresentaram uma redução na diferença de cor até a última medição. Esta diferenciação por ter ocorrido principalmente após o aumento do tempo de luz, evidenciando a secagem da superfície pelo aumento da temperatura correlacionado ao tempo de luz, não podendo-se afirmar que tenha ocorrido pela presença do TiO₂ na amostra. Esta constatação pode ser reforçada, também, por ter ocorrido a redução no ΔE para as amostras sem aplicação do TiO₂ e em condição de escuro.

Assim, observou-se um comportamento diferenciado entre o fungo *Purpureocillium lilacinum* e o *Aspergillus niger*. Considerando que a aplicação do fotocatalisador foi na superfície da amostra anterior ao crescimento fúngico, o cobrimento resultante do crescimento das colônias pode ter dificultado a ocorrência da fotocatalise, bloqueando o acesso à luz necessária para ativação do produto, no caso do fungo de mais intenso crescimento, como o *Purpureocillium lilacinum*.

Embora de coloração escura, este fungo mostrou-se sensível à incidência de luz UVA, principalmente após 4 horas de exposição diária. A Tabela 49 mostra os valores de ΔE calculados para cada um dos três pontos das seis repetições, desde a medição inicial para as amostras inoculadas com o fungo *Purpureocillium lilacinum* com TiO₂ e expostas à luz.

Tabela 49 – ΔE para as amostras do Isolado 2 **com** aplicação do TiO_2 e expostas à luz

Diferença de cor		
	0 - 0,2	Imperceptível
	0,2 – 0,5	Muito pequena
	0,5 – 1,5	Pequena
	1,5 - 3	Distinguível
	3 – 6	Facilmente distinguível
	> 6	Grande

AMOSTRAS		ΔE (calculado com relação à medição 1)								
		Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)				
		5*	5**	6	7	1	4	6	13	28
										FINAL
25	1.1	12,49	13,73	14,89	14,68	7,75	8,43	7,62	7,26	5,34
	1.2	11,06	11,10	12,26	11,43	6,29	5,79	6,16	5,82	5,84
	1.3	12,24	15,47	15,43	14,67	8,35	8,50	7,80	7,55	6,42
26	2.1	12,65	11,22	23,02	31,04	21,59	21,04	20,16	19,46	10,56
	2.2	12,33	13,30	27,24	36,18	28,99	28,98	27,07	26,05	13,86
	2.3	11,81	13,24	21,61	31,06	21,79	21,90	17,90	19,73	10,52
27	3.1	9,92	9,57	16,66	30,40	27,19	27,66	24,30	24,92	16,92
	3.2	10,81	9,72	15,25	28,09	23,23	23,68	22,16	20,23	14,52
	3.3	10,35	11,40	15,80	33,29	25,69	26,78	22,38	21,66	18,42
29	4.1	12,64	14,03	24,54	31,81	23,10	23,46	19,37	21,98	13,82
	4.2	11,84	12,32	21,09	28,53	20,30	19,45	16,19	17,93	10,27
	4.3	11,57	13,68	23,03	32,09	25,24	23,53	21,82	21,13	11,83
30	5.1	10,63	10,59	11,27	14,09	6,89	6,96	6,24	5,61	2,67
	5.2	10,96	10,70	12,38	14,38	7,82	8,05	7,13	6,40	4,26
	5.3	11,49	11,55	12,46	15,16	8,26	6,73	4,38	5,91	3,44

*Antes do inóculo

**Após inóculo

Observa-se que as amostras 25 e 30 que tiveram o menor crescimento inicial das colônias, apresentaram uma maior redução na diferença de cor. As demais amostras apresentaram aumento na diferença de cor, com o aumento na intensidade do crescimento fúngico até o momento que houve a elevação do tempo de luz para 4 horas/dia (a partir da 14ª semana). Nas demais amostras, notou-se a redução no ΔE , mas, no entanto, ainda apresentando uma diferença de cor bastante distinguível com relação às amostras iniciais, antes do nutriente e inóculo.

A Tabela 50 mostra os dados obtidos para as amostras sem aplicação do fotocatalisador, expostas à luz, para o mesmo fungo.

Tabela 50 – ΔE para as amostras do Isolado 2 **sem** aplicação do TiO_2 e expostas à luz

Diferença de cor	
0 - 0,2	Imperceptível
0,2 – 0,5	Muito pequena
0,5 – 1,5	Pequena
1,5 – 3	Distinguível
3 – 6	Facilmente distinguível
> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)					Com luz (Tempo em semanas)				
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	FINAL
32	32.1	13,22	15,31	14,92	14,14	1,33	1,10	2,92	1,44	2,24
	32.2	12,75	14,90	14,71	13,29	1,96	2,17	7,23	2,70	3,37
	32.3	12,28	13,81	14,13	12,99	2,02	1,59	5,17	1,39	1,67
33	33.1	14,28	14,27	27,94	38,84	24,01	27,29	23,59	24,77	15,38
	33.2	14,92	14,77	29,46	41,59	30,02	30,40	26,94	26,79	15,49
	33.3	15,13	15,24	32,28	45,45	35,56	35,56	33,28	33,41	18,13
34	34.1	15,02	15,96	18,08	24,01	8,68	6,95	7,61	7,33	2,72
	34.2	15,66	16,73	18,76	22,13	7,63	9,22	7,60	5,34	2,72
	34.3	14,76	14,86	17,87	21,67	7,22	10,46	5,42	4,79	1,59
35	35.1	12,65	13,12	17,52	19,80	4,94	5,43	5,10	6,63	2,86
	35.2	12,70	14,02	17,86	19,82	5,18	6,00	2,74	5,57	3,46
	35.3	13,44	13,01	15,04	17,27	2,57	4,32	2,31	4,09	1,71
36	36.1	14,64	16,79	19,64	21,26	6,59	6,43	5,54	5,27	2,16
	36.2	13,69	15,83	17,63	19,33	4,23	4,12	2,86	3,26	0,66
	36.3	15,17	16,58	19,15	21,87	6,52	5,84	4,79	4,84	1,19

*Antes do inóculo

**Após inóculo

Verificou-se a influência principalmente da luz UVA na redução da diferença de cor e clareamento das amostras que apresentaram menor crescimento inicial das colônias. A amostra 33, que apresentou intenso crescimento, cobrindo grande parte da amostra, sofreu pouca alteração. As demais amostras tiveram o ΔE reduzido até o final das medições, mesmo sem a presença do fotocatalisador.

As amostras com TiO_2 e sem a incidência de luz UVA (Tabela 51) apresentaram, de um modo geral, pouca alteração na coloração ao longo das medições. Igualmente, as amostras que tiveram um menor crescimento inicial, tais como a 37 e a 40 foram as que apresentaram maior redução no ΔE .

Tabela 51 – ΔE para as amostras do Isolado 2 **com** aplicação do TiO_2 e em condição de escuro

Diferença de cor	
0 - 0,2	Imperceptível
0,2 – 0,5	Muito pequena
0,5 – 1,5	Pequena
1,5 - 3	Distinguível
3 - 6	Facilmente distinguível
> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)					
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	
									FINAL	
37	37.1	12,35	12,35	12,60		5,12	7,19	5,08	6,65	7,02
	37.2	11,27	10,86	12,06		4,15	5,19	4,45	5,37	6,28
	37.3	12,31	13,33	13,74		4,17	4,79	3,96	4,84	5,27
38	38.1	12,75	12,89	17,13	16,58	16,06	17,07	16,56	13,96	13,55
	38.2	12,18	16,28	19,62	17,14	21,01	20,68	18,56	17,52	14,82
	38.3	12,20	12,76	19,74	11,73	23,54	20,31	19,28	20,61	18,54
39	39.1	10,68	11,60	22,45	16,64	33,77	33,04	33,94	29,52	26,49
	39.2	12,33	11,23	25,06	23,74	33,50	34,19	33,09	30,25	27,57
	39.3	11,03	11,36	26,33	31,38	43,06	42,02	42,42	36,78	34,32
40	40.1	9,55	12,38	11,42	47,71	4,57	5,04	4,90	5,43	5,60
	40.2	11,81	13,80	13,03	45,20	4,89	5,54	5,43	6,00	6,36
	40.3	11,32	13,33	13,56	48,60	5,39	5,57	5,71	6,24	5,94
41	41.1	12,60	13,26	21,49	8,89	17,55	18,82	18,43	16,29	14,28
	41.2	11,66	12,05	19,04	9,57	14,98	14,80	15,01	11,77	11,20
	41.3	11,76	12,54	22,12	12,91	17,11	17,65	16,64	14,61	12,19
42	42.1	13,48	14,23	18,22	26,22	23,39	23,33	22,27	18,19	15,25
	42.2	13,51	12,87	18,99	19,66	29,21	28,17	30,45	23,51	20,47
	42.3	12,82	12,97	17,33	24,43	20,53	19,82	19,67	14,69	13,08

*Antes do inóculo

**Após inóculo

A Tabela 52 mostra os resultados para as amostras sem TiO_2 e em condição de escuro. As amostras que apresentaram maior crescimento inicial, sofreram pouca alteração com relação à variação de cor até a última medição. As amostras 44 e 46, que apresentaram um reduzido crescimento inicial, mesmo na ausência do fotocatalisador e da incidência de luz, apresentaram uma redução na diferença de cor, podendo este comportamento estar associado à alteração microclimática em função do aumento da temperatura quando acionadas as lâmpadas. Este aspecto revela a possível sensibilidade deste fungo quanto aos parâmetros microclimáticos ocorridos no ensaio, independente da presença do fotocatalisador.

Tabela 52 – ΔE para as amostras do Isolado 2 **sem** aplicação do TiO₂ e em condição de escuro

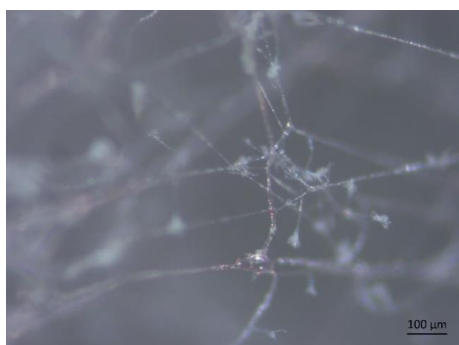
		Diferença de cor	
		0 - 0,2	Imperceptível
		0,2 – 0,5	Muito pequena
		0,5 – 1,5	Pequena
		1,5 - 3	Distinguível
		3 - 6	Facilmente distinguível
		> 6	Grande

		ΔE (calculado com relação à medição 1)								
AMOSTRAS		Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)				
		5*	5**	6	7	1	4	6	13	28
		FINAL								
43	13.1	14,79	15,49	26,04	26,08	12,66	18,45	12,77	9,25	9,18
	13.2	15,20	17,84	37,15	43,55	30,08	30,45	29,63	20,56	19,36
	13.3	13,00	15,24	29,03	32,24	20,49	19,19	18,91	12,25	11,86
44	14.1	13,03	15,55	19,17	17,97	6,15	5,74	6,30	4,55	3,88
	14.2	12,64	15,64	19,27	18,52	6,12	7,71	8,02	5,45	4,89
	14.3	12,51	15,37	21,10	23,00	7,81	8,17	6,75	5,27	4,55
45	15.1	14,94	16,28	28,11	34,97	20,37	21,24	20,50	15,27	14,63
	15.2	15,98	16,69	33,66	37,68	24,32	22,12	24,53	17,22	18,69
	15.3	14,35	15,37	23,30	28,59	15,04	14,29	14,55	10,70	9,66
46	16.1	13,11	15,18	17,58	18,31	5,26	4,96	3,99	4,54	4,41
	16.2	12,24	15,21	16,07	15,62	2,81	2,71	1,09	1,99	1,45
	16.3	15,20	16,58	20,51	22,03	8,08	8,41	7,58	7,29	7,05
47	17.1	13,71	13,39	19,98	22,05	10,58	8,61	9,32	10,81	11,65
	17.2	13,50	13,89	22,37	25,05	12,54	12,03	11,90	10,57	8,27
	17.3	15,29	15,20	21,22	24,29	12,33	11,38	12,05	10,36	9,39

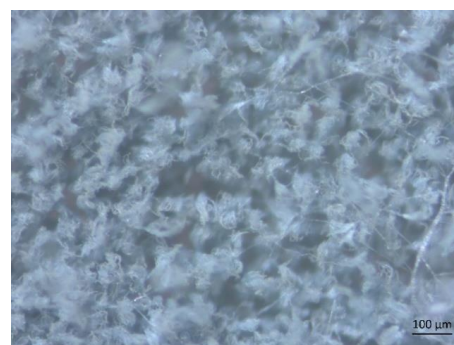
*Antes do inóculo

**Após inóculo

A Figura 129 mostra imagens obtidas em lupa estereoscópica para o isolado 2, com crescimento puro em placa de Petri. As estruturas apresentam coloração esverdeada com hifas hialinas.

Figura 129 – Imagens em lupa estereoscópica do Isolado 2 *Purpureocillium lilacinum* em placa e Petri com meio nutriente ágar Sabouraud e das amostras inoculadas: a) 100 μ m; b) 100 μ m

(a)



(b)

A Figura 130, Figura 131, Figura 132 e Figura 135 mostram o crescimento do fungo *Purpureocillium lilacinum* nas amostras de argamassa. Não foi observada diferença morfológica importante entre as amostras.

Figura 130 – Crescimento do Isolado 2 *Purpureocillium lilacinum* na amostra com aplicação do fotocatalisador e exposta à luz UVA: a) 200 μm ; b) 1.000 μm

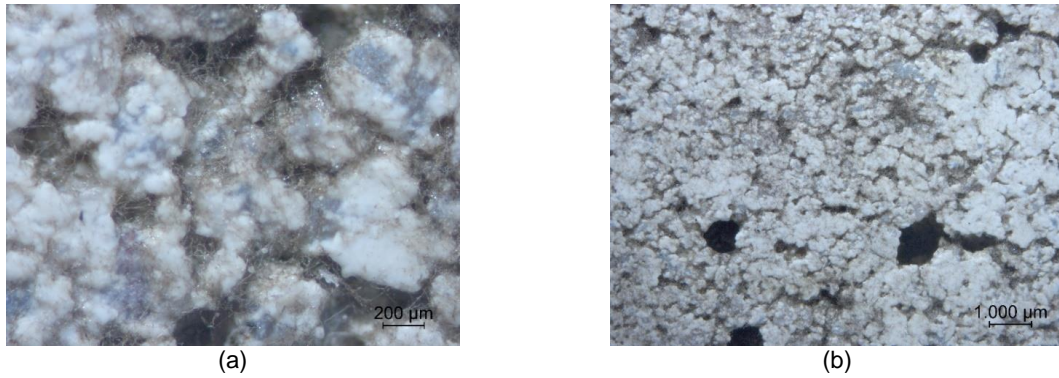


Figura 131 – Crescimento do Isolado 2 *Purpureocillium lilacinum* na amostra com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000 μm ; b) 500 μm

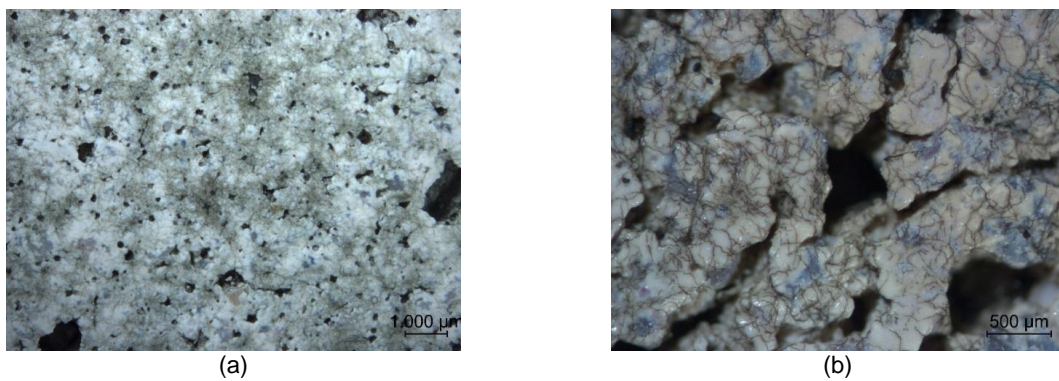


Figura 132 – Crescimento do Isolado 2 *Purpureocillium lilacinum* na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) 1.000 μm ; b) 100 μm

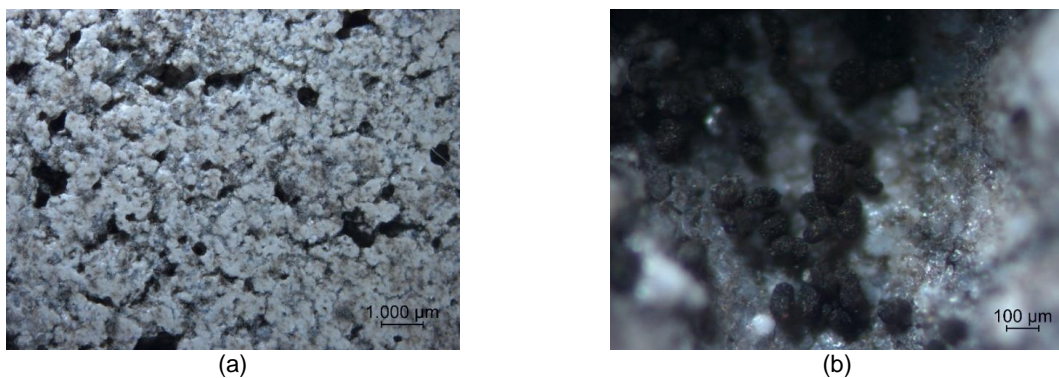
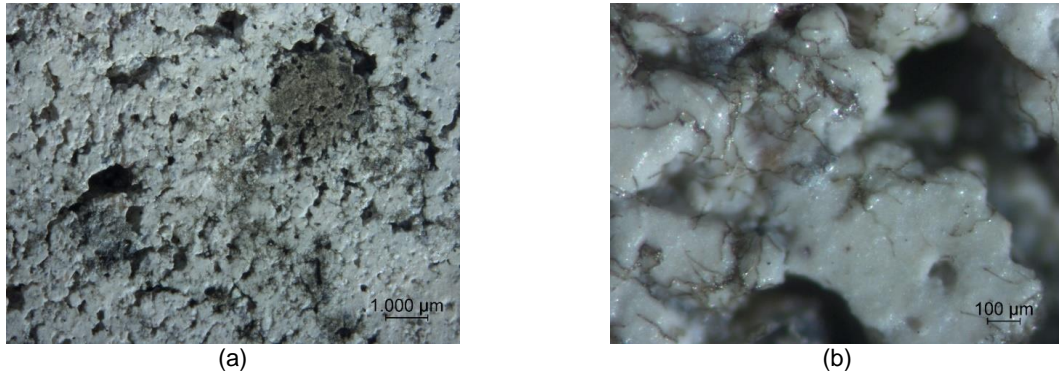
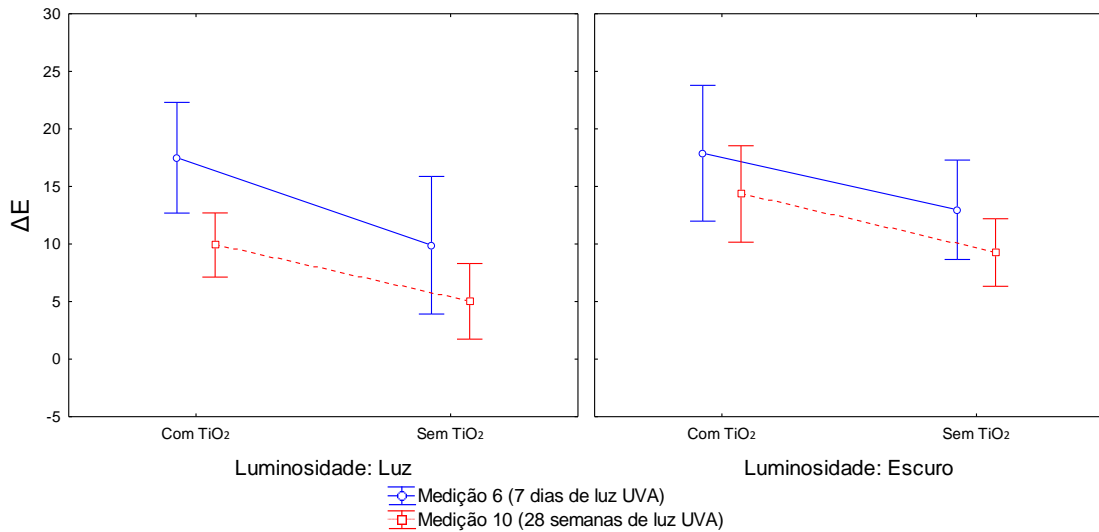


Figura 133 – Crescimento do Isolado 2 *Purpureocillium lilacinum* na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) 1.000µm; b) 100µm



A Figura 134 mostra os resultados da ANOVA (fatorial) para o fungo *Purpureocillium lilacinum* considerando a aplicação ou não do fotocatalisador e a exposição ou não à luz UVA.

Figura 134 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o Isolado 2 (*Purpureocillium lilacinum*) 0,95 intervalo de confiança



A Tabela 53 e a Figura 135 mostram a comparação entre os diferentes parâmetros, destacando a diferença significativa da variação de cor entre a leitura inicial (7 dias de luz UVA) e final (28 semanas de luz UVA) apenas das amostras com o fotocatalisador e expostas à luz, não apresentando diferença significativa para as demais configurações.

Tabela 53 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o Isolado 2 (*Purpureocillium lilacinum*)

COMPARAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Luz com TiO2 – Leitura inicial* (1)		S	S	S	NS	NS	NS	S
Luz com TiO2 – Leitura final* (2)	S		NS	NS	S	NS	NS	NS
Luz sem TiO2 – Leitura inicial (3)	S	NS		NS	S	NS	NS	NS
Luz sem TiO2 – Leitura final (4)	S	NS	NS		S	S	S	NS
Escuro com TiO2 – Leitura inicial (5)	NS	S	S	S		NS	NS	S
Escuro com TiO2 – Leitura final (6)	NS	NS	NS	S	NS		NS	NS
Escuro sem TiO2 – Leitura inicial (7)	NS	NS	NS	S	NS	NS		NS
Escuro sem TiO2 – Leitura final (8)	S	NS	NS	NS	S	NS	NS	

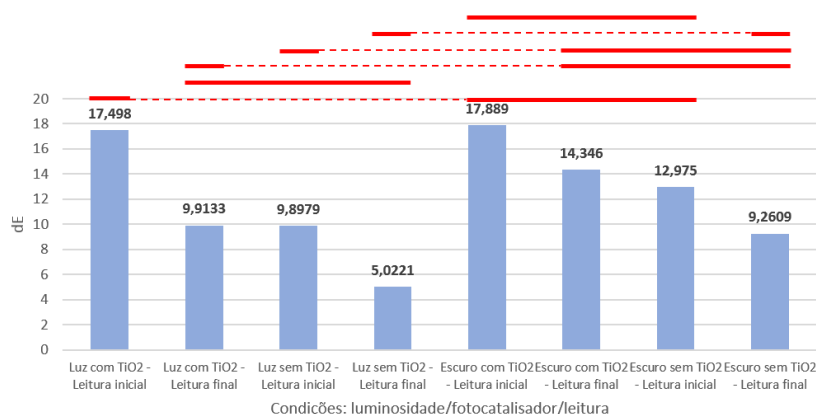
Leitura inicial*: 18 dezembro/2017 (7 dias de fotoperíodo UVA 1h/dia) – medição 6

Leitura final*: 10 julho/2018 (28 semanas de fotoperíodo UVA 4h/dia) – medição 10

S – Variável de controle exerce influência significativa sobre a variável de resposta

NS – Variável de controle não exerce influência significativa sobre a variável de resposta

Figura 135 – ANOVA comparação entre os diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para o Isolado 2 (*Purpureocillium lilacinum*)



A Figura 136, Figura 137, Figura 138 e Figura 139 mostram as fichas com os dados obtidos para as amostras inoculadas com o consórcio de cinco fungos selecionados a partir da Fase 1 deste trabalho. Nestas amostras predominaram o crescimento de colônias de coloração clara, algodonosa e aspecto amarelado, evidenciando uma provável predominância do fungo *Fusarium*. Em alguns pontos de algumas amostras, desenvolveram-se colônias de coloração verde escuro, provavelmente do fungo do gênero *Cladosporium*. No início do crescimento também se verificou algumas pequenas colônias de coloração branca, provavelmente do fungo *Acremonium* sp.

Figura 136 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados com TiO₂ exposto à luz UVA

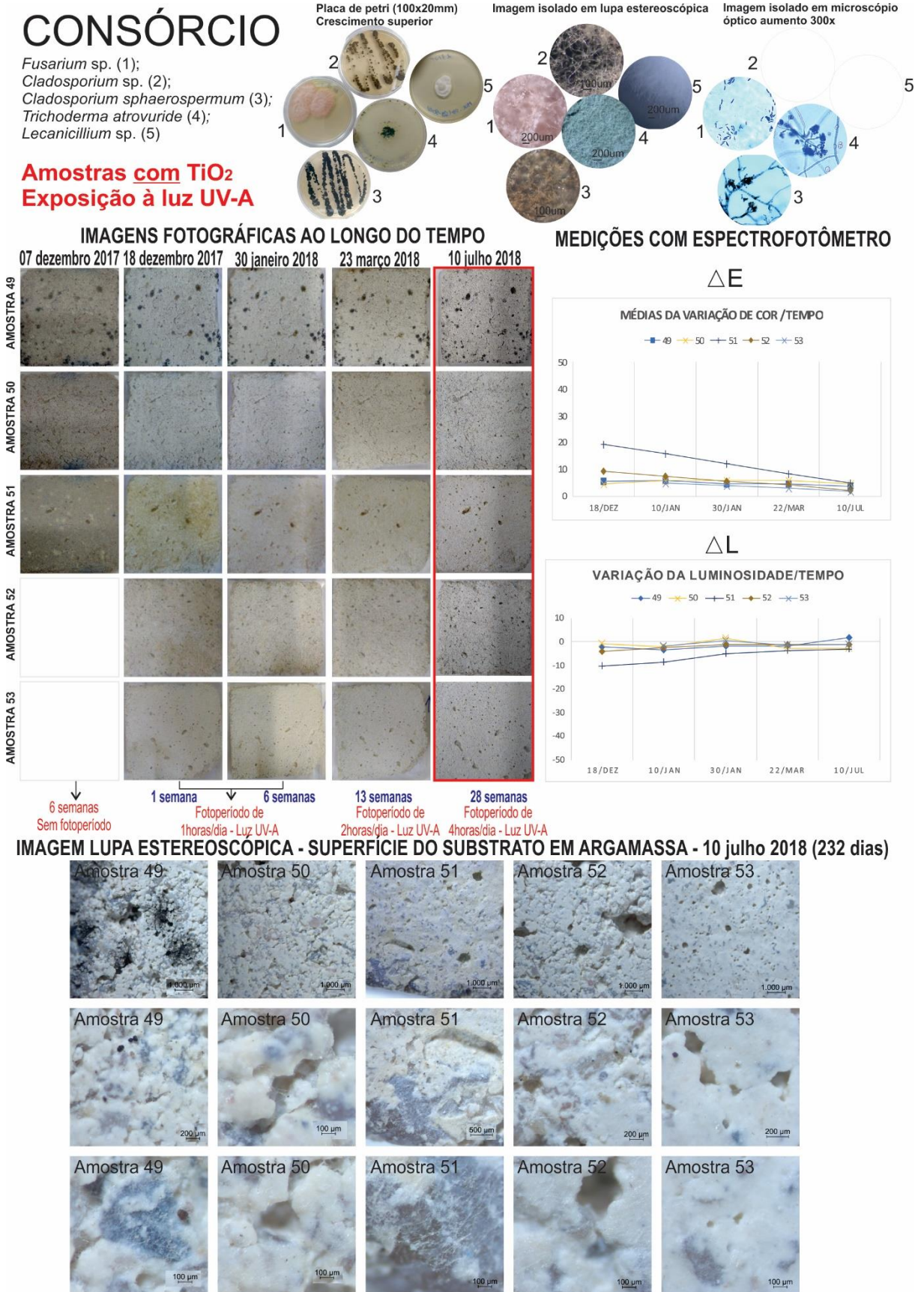


Figura 137 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados sem TiO₂ exposto à luz UVA

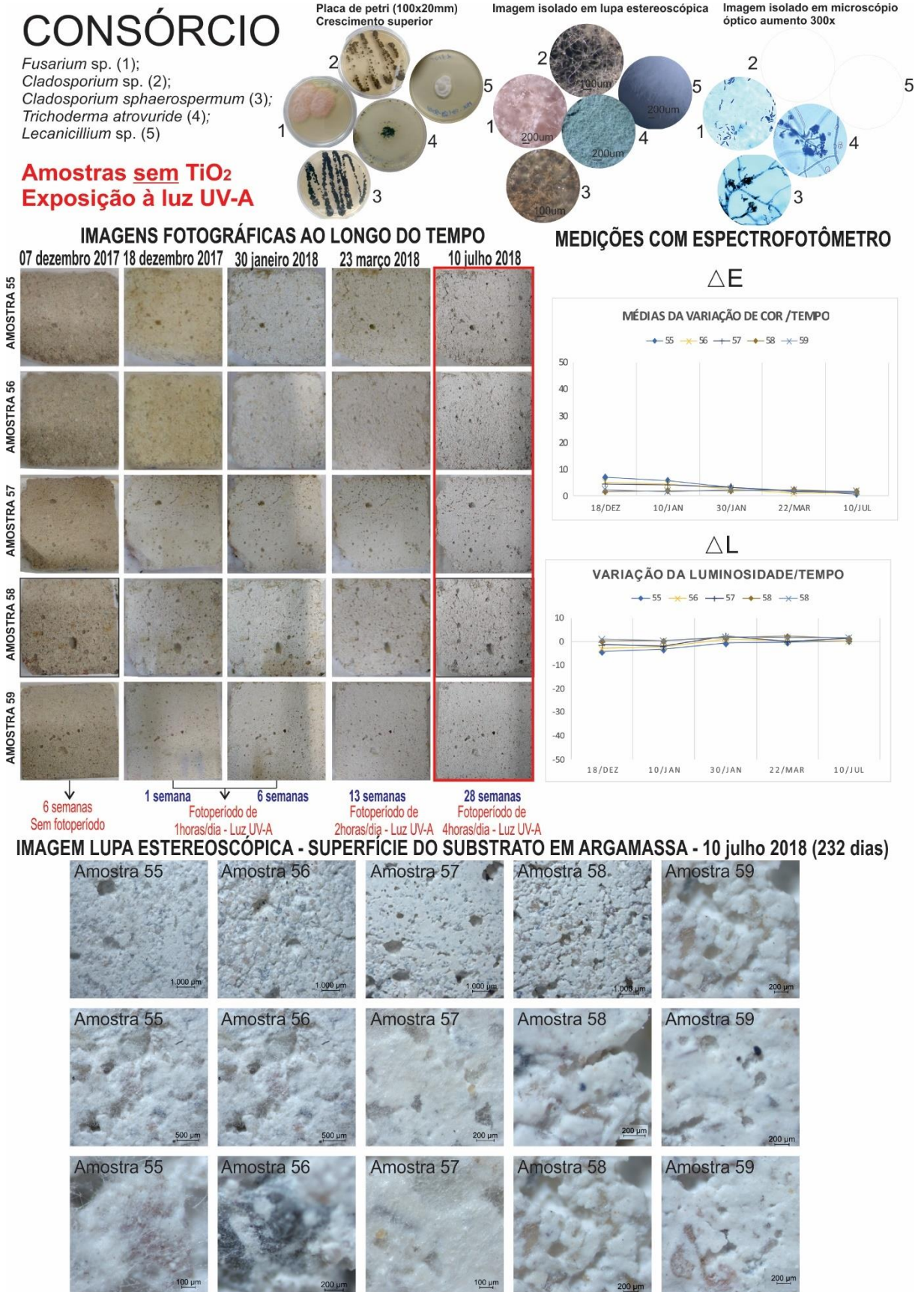


Figura 138 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados com TiO₂ condição de escuro

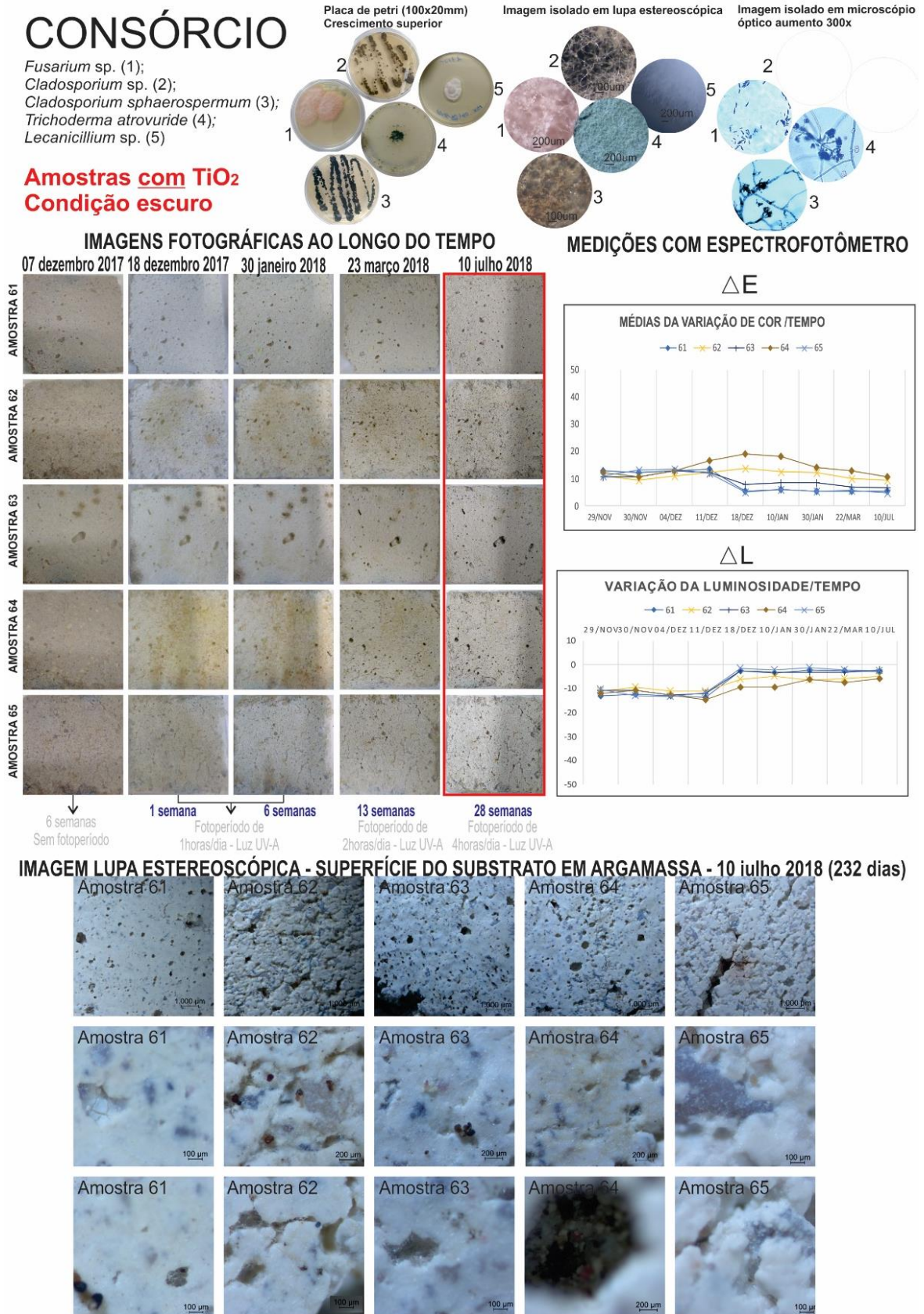
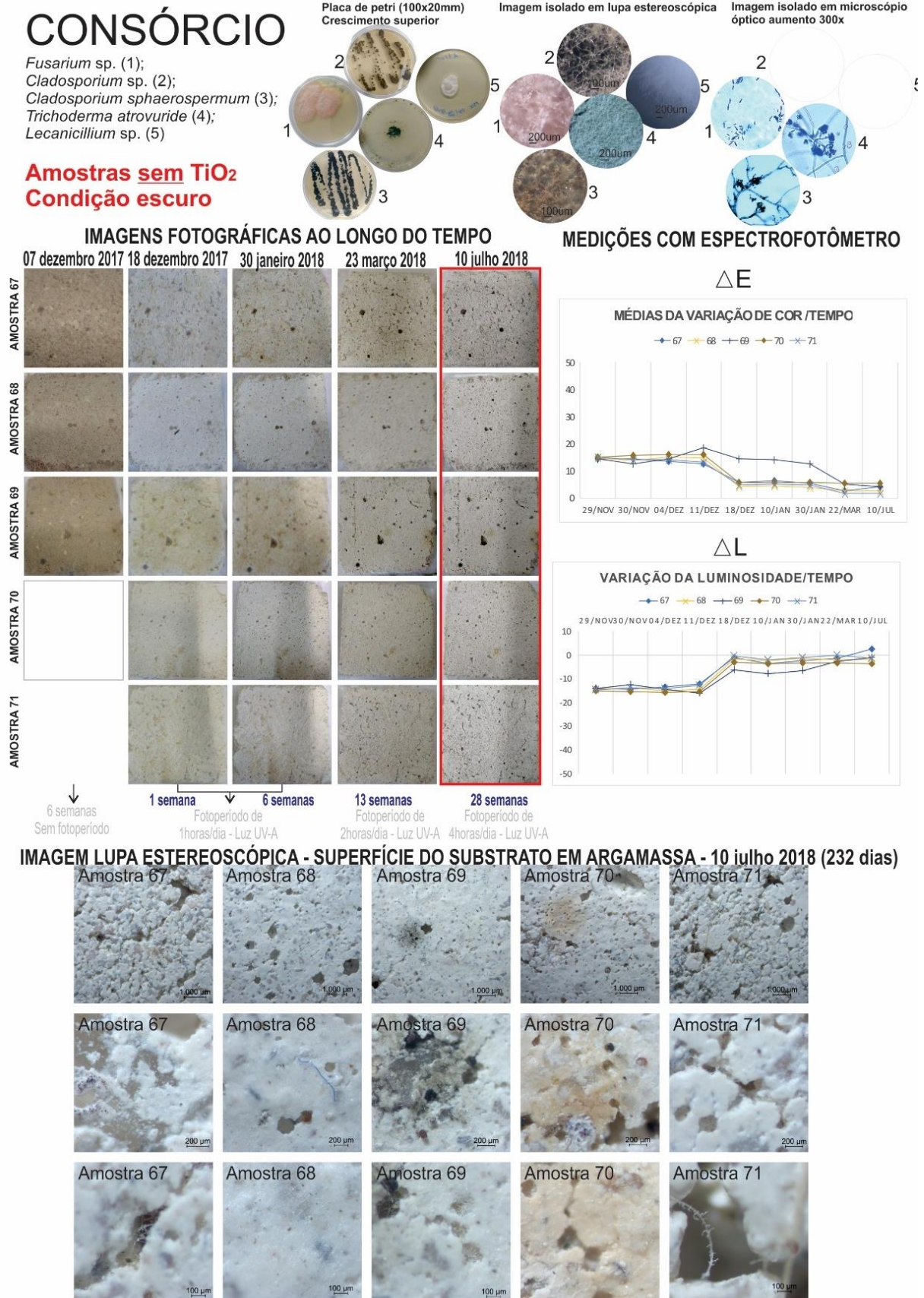


Figura 139 – Compilação de dados Consórcio de 5 isolados sem TiO₂ condição de escuro



Considerando as amostras inoculadas com o consórcio de fungos, com a aplicação do TiO₂ e expostas à luz UVA (Figura 136), a amostra 49 apresentou o crescimento pontual de colônias de coloração verde que se mantiveram visualmente inalteradas até o final das medições. Nas amostras 52 e 53 houve o crescimento de pequenas colônias, inicialmente de coloração branca. Durante a evolução do experimento foram adquirindo uma coloração amarelada na maior parte da superfície das amostras e, por fim, clareando até o final das medições.

As amostras 55 e 56, sem TiO₂ e expostas à luz (Figura 137), também apresentaram um manchamento inicial de coloração amarelada. A partir de 1 hora de exposição à luz UVA, observou-se a alteração na coloração, indicando uma leve redução na diferença de cor. Por tratar-se da inoculação de um consórcio de diferentes colônias, a alteração de cor não corresponde, necessariamente, na redução das colônias, o que pode ser observado nas imagens obtidas em lupa estereoscópica (Figura 139), onde verificou-se um intenso crescimento de micélio, envolvendo o material do substrato e apresentando uma coloração predominantemente branca e de aspecto algodinoso.

As amostras com TiO₂ e dispostas em condição de escuro (Figura 142) apresentaram características semelhantes às amostras anteriores, com manchamento de coloração amarelada, tais como as amostras 62 e 64, ambas também alterando sua coloração, com o clareamento até o a última medição. A amostra 63 apresentou poucas colônias de coloração escura, com redução do manchamento, principalmente a partir de 2 horas de luz UVA. A amostra 65 apresentou reduzido crescimento visível a olho nu.

A Figura 139 mostra a ficha das amostras sem TiO₂ e em condição de escuro. As amostras 67, 68 e 69 apresentaram o crescimento inicial das pequenas colônias de coloração branca, posteriormente adquirindo coloração amarelada. A amostra 69 foi a que apresentou manchamento mais intenso. Nas amostras 70 e 71, observou-se pouco crescimento aparente.

Para o consórcio de fungos, ao final das medições, observou-se a alteração da coloração superficial das amostras, para todas as diferentes configurações. A Tabela 54 mostra os valores de ΔE calculados para as amostras inoculadas com o consórcio de fungos durante todas as medições.

A amostra 51 (Tabela 54), embora com um ΔE de elevada distinguibilidade ao final das medições, apresentou redução da variação de cor ao longo do tempo, alteração visível na Figura 136.

A amostra 52 apresentou redução de diferença de cor, principalmente após 2 horas de exposição à luz (a partir da 6ª semana), semelhante à amostra 53, embora o crescimento inicial não tenha ocorrido de maneira muito perceptível a olho nu.

Tabela 54 – ΔE para as amostras consórcio **com** aplicação do TiO_2 e expostas à luz

Diferença de cor		
	0 - 0,2	Imperceptível
	0,2 – 0,5	Muito pequena
	0,5 – 1,5	Pequena
	1,5 - 3	Distinguível
	3 - 6	Facilmente distinguível
	> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)					
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	
									FINAL	
49.1	14,74	15,31	12,42	7,63	7,25	7,72	5,56	5,17	3,19	
49	49.2	11,09	10,87	11,55	10,06	4,38	4,84	4,32	3,92	4,28
	49.3	11,38	10,62	10,19	9,51	4,75	5,07	4,42	4,64	3,67
50.1	13,95	13,08	13,96	13,44	4,63	5,67	5,19	7,24	6,49	
50	50.2	14,23	12,36	14,08	12,53	4,75	6,03	5,23	5,69	4,91
	50.3	10,80	9,54	9,52	10,82	4,83	5,56	6,85	5,02	2,82
51.1	12,62	11,92	12,95	19,41	19,20	15,75	11,33	8,07	6,74	
51	51.2	12,91	11,27	12,62	20,10	21,57	18,18	14,66	9,66	4,42
	51.3	12,73	12,15	12,78	15,97	17,13	13,47	10,14	7,39	3,85
52.1	13,16	12,84	12,95	12,98	9,58	7,66	5,60	3,79	2,32	
52	52.2	12,59	11,62	12,39	13,18	10,08	8,32	6,35	5,28	2,42
	52.3	12,49	12,33	11,46	10,56	8,26	6,62	5,04	3,97	1,63
53.1	9,60	10,70	10,81	10,85		4,43	4,11	2,51	1,44	
53	53.2	13,32	12,96	13,41	13,41		5,29	4,02	3,69	2,47
	53.3	13,19	12,92	13,48	13,88		4,90	3,49	3,07	1,94

*Antes do inóculo

**Após inóculo

A Tabela 55 mostra os valores de ΔE para as amostras sem TiO_2 expostas à luz. Observou-se a redução na variação de cor até o final das medições. Destaca-se que as amostras sem aplicação do fotocatalisador apresentaram uma coloração inicial levemente mais amarelada, comparadas às amostras com a aplicação do fotocatalisador. Desta forma, como o crescimento das colônias com a inoculação do

consórcio de fungos, apresenta coloração amarelada, a diferença de cor entre a medição inicial e final para as amostras sem TiO₂ pode, de fato, ser menor quando comparadas a amostras com TiO₂.

As amostras 55 e 56 apresentaram elevada variação de cor inicial, reduzindo conforme o tempo de exposição à luz, perceptível na Figura 137.

Tabela 55 – ΔE para as amostras consórcio **sem** aplicação do TiO₂ e expostas à luz

		Diferença de cor								
		0 - 0,2		Imperceptível						
		0,2 - 0,5		Muito pequena						
		0,5 - 1,5		Pequena						
		1,5 - 3		Distintivo						
		3 - 6		Facilmente distinguível						
		> 6		Grande						
AMOSTRAS		ΔE (calculado com relação à medição 1)								
		Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)				
		5*	5**	6	7	1	4	6	13	28
		FINAL								
55	55.1	14,52	14,35	14,25	13,39	8,92	5,37	2,55	1,86	1,18
	55.2	15,19	15,29	15,55	14,76	6,46	7,07	4,00	2,13	0,81
	55.3	17,07	17,09	16,31	13,64	5,99	4,55	2,83	1,64	0,51
56	56.1	15,61	13,21	12,84	13,33	2,69	2,73	1,69	0,90	1,43
	56.2	16,46	13,50	13,83	16,02	6,07	6,00	3,13	1,49	1,53
	56.3	16,22	14,02	12,37	15,55	6,87	4,58	3,15	1,19	1,22
57	57.1	14,03	14,52	15,38	15,17	4,91	4,66	2,35	1,28	1,88
	57.2	15,89	15,02	16,72	17,34	4,80	5,17	3,72	1,81	0,99
	57.3	14,51	14,78	15,51	15,00	4,20	2,70	3,65	1,53	1,34
58	58.1	14,44	13,16	14,11	13,90	2,03	2,50	2,83	1,19	1,37
	58.2	15,32	15,39	15,05	14,55	1,95	1,14	0,73	1,08	2,31
	58.3	10,29	9,50	10,87	13,45	1,29	2,20	2,02	4,85	1,53
59	59.1	14,13	13,76	14,54	14,56	1,98	1,77	2,14	1,11	1,39
	59.2	15,48	14,09	14,99	14,73	2,54	1,92	1,82	1,72	1,31
	59.3	11,88	12,79	13,92	13,67	2,41	1,66	3,08	2,68	2,44

*Antes do inóculo

**Após inóculo

A Tabela 56 mostra os resultados para as amostras com aplicação do TiO₂ em condição de escuro. De um modo geral, as amostras apresentaram até o final das medições uma elevada variação de cor, com uma maior redução nas amostras com menor crescimento inicial. As demais amostras, com intenso crescimento, apresentaram pouca redução até o final das medições.

Observando-se as amostras 62, 63 e 64, na Figura 138, verifica-se que até a 13ª semana de medição (2 horas diárias de exposição à luz), o manchamento se manteve com pouca alterabilidade, apresentando leve redução, principalmente após o acionamento da lâmpada UVA por 4 horas diárias. Tal condição, por interferir no microclima interior do equipamento de ensaio, pode ter afetado a manutenção das colônias, mesmo sem a incidência lumínica sobre estas. No entanto, os dados obtidos com o espectrofotômetro identificaram uma elevada variação de cor até o final das medições, indicando, portanto, pouca redução do manchamento.

Tabela 56 – ΔE para as amostras consórcio **com** aplicação do TiO_2 e em condição de escuro

Diferença de cor		
	0 - 0,2	Imperceptível
	0,2 – 0,5	Muito pequena
	0,5 – 1,5	Pequena
	1,5 - 3	Distinguível
	3 - 6	Facilmente distinguível
	> 6	Grande

AMOSTRAS		ΔE (calculado com relação à medição 1)								
		Sem luz (Tempo em semanas)				Com luz (Tempo em semanas)				
		5*	5**	6	7	1	4	6	13	28
		FINAL								
61	37.1	13,23	12,55	12,71	13,64	4,52	5,38	4,78	4,75	5,27
	37.2	13,29	12,76	13,33	14,07	6,55	6,93	6,20	6,13	5,88
	37.3	12,23	11,62	12,69	12,93	4,84	5,38	5,30	5,27	5,17
62	38.1	10,48	8,71	10,31	13,19	12,77	15,09	14,56	11,49	10,74
	38.2	11,75	9,98	11,62	11,10	13,98	12,30	11,89	9,25	8,72
	38.3	11,01	9,37	11,02	12,17	14,42	9,87	10,50	9,26	8,31
63	39.1	11,03	11,32	13,11	12,18	7,53	8,37	7,77	6,82	5,91
	39.2	9,75	9,72	11,84	11,55	6,61	7,17	7,88	6,06	6,63
	39.3	11,40	11,02	13,29	13,15	9,71	9,87	9,73	8,10	7,53
64	40.1	13,23	11,48	13,34	14,99	14,40	14,44	14,27	9,74	8,89
	40.2	12,29	10,98	12,83	18,77	22,62	21,11	9,09	15,68	12,93
	40.3	11,02	9,61	12,04	16,02	20,50	18,96	18,80	13,02	10,41
65	41.1	9,52	11,64	11,99	11,47	4,14	4,36	4,30	5,01	4,33
	41.2	10,75	13,14	13,48	11,90	3,98	5,54	5,25	4,12	4,19
	41.3	12,20	14,21	14,61	12,47	6,80	7,63	6,70	7,90	6,07

*Antes do inóculo

**Após inóculo

A Tabela 57 apresenta os dados obtidos para as amostras sem aplicação do TiO_2 e em condição de escuro.

Tabela 57 – ΔE para as amostras consórcio **sem** aplicação do TiO_2 e em condição de escuro

Diferença de cor	
0 - 0,2	Imperceptível
0,2 - 0,5	Muito pequena
0,5 - 1,5	Pequena
1,5 - 3	Distinguível
3 - 6	Facilmente distinguível
> 6	Grande

AMOSTRAS	ΔE (calculado com relação à medição 1)									
	Sem luz (Tempo em semanas)					Com luz (Tempo em semanas)				
	5*	5**	6	7	1	4	6	13	28	FINAL
67	13.1	12,02	13,39	13,97	10,09	4,60	5,36	4,03	1,28	7,45
	13.2	16,21	14,88	11,25	14,35	5,94	7,81	6,85	2,88	2,97
	13.3	15,21	15,57	16,05	13,90	7,23	6,57	5,51	3,84	2,88
68	14.1	13,96	13,14	14,85	13,56	3,50	4,61	3,89	2,80	2,95
	14.2	15,14	14,80	14,62	15,36	4,87	4,80	3,60	1,97	1,78
	14.3	15,31	13,92	16,32	15,61	4,35	4,46	4,12	3,61	3,43
69	15.1	13,84	11,92	14,36	18,59	15,72	13,24	13,49	5,02	3,92
	15.2	15,45	14,79	14,96	18,52	12,51	11,63	11,20	3,67	4,03
	15.3	14,09	11,75	14,47	18,52	15,18	17,57	13,15	6,75	4,84
70	16.1	13,96	14,55	14,74	15,28	4,17	4,77	4,87	4,34	4,63
	16.2	16,81	16,22	17,27	16,84	5,87	6,67	6,54	6,25	6,83
	16.3	14,98	16,66	16,50	16,00	7,27	6,40	6,31	6,33	5,37
71	17.1	14,87	13,93	14,06	14,58	5,70	6,00	5,66	1,98	3,06
	17.2	14,51	13,69	13,12	11,78	4,10	4,52	4,33	1,78	1,14
	17.3	16,29	15,14	15,38	13,54	5,09	5,49	4,60	1,72	1,48

*Antes do inóculo

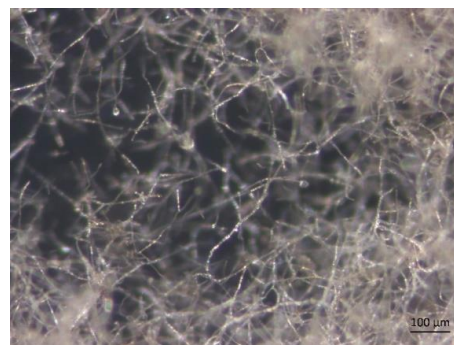
**Após inóculo

A Figura 140 (a – f) mostra as imagens obtidas em lupa estereoscópica para o consórcio de fungos, com crescimento puro em meio nutriente Ágar Sabouraud.

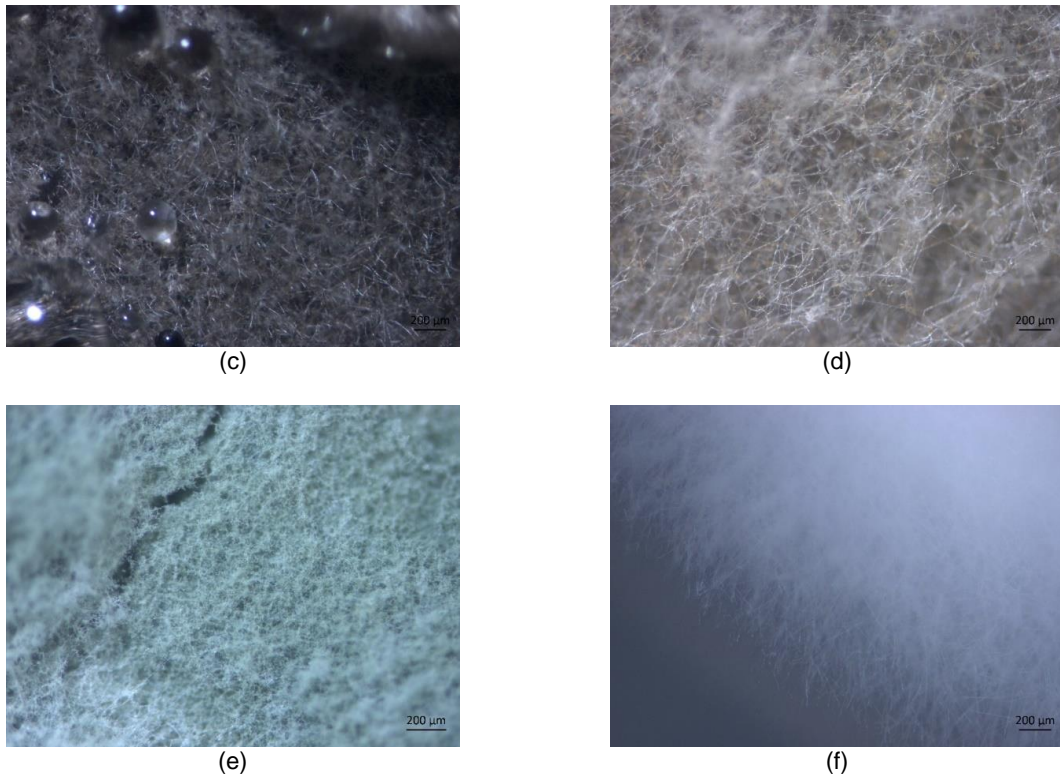
Figura 140 – Imagens em lupa estereoscópica dos Isolados inoculados como consórcio em placa de Petri com meio nutriente ágar Sabouraud: a) *Fusarium* sp., 200 μm ; b) *Cladosporium* sp., 100 μm ; c) *Cladosporium* sp., 200 μm ; d) *Cladosporium sphaerospermum*, 200 μm ; e) *Trichoderma atroviride*, 200 μm ; f) *Acremonium* sp, 200 μm



(a)

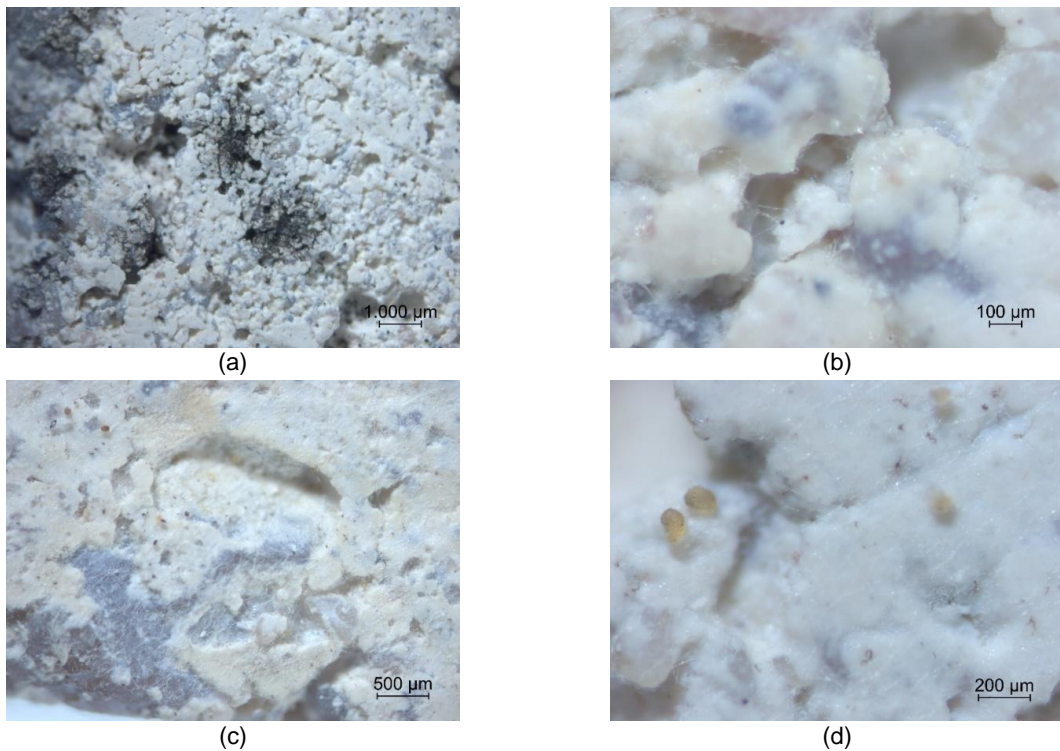


(b)



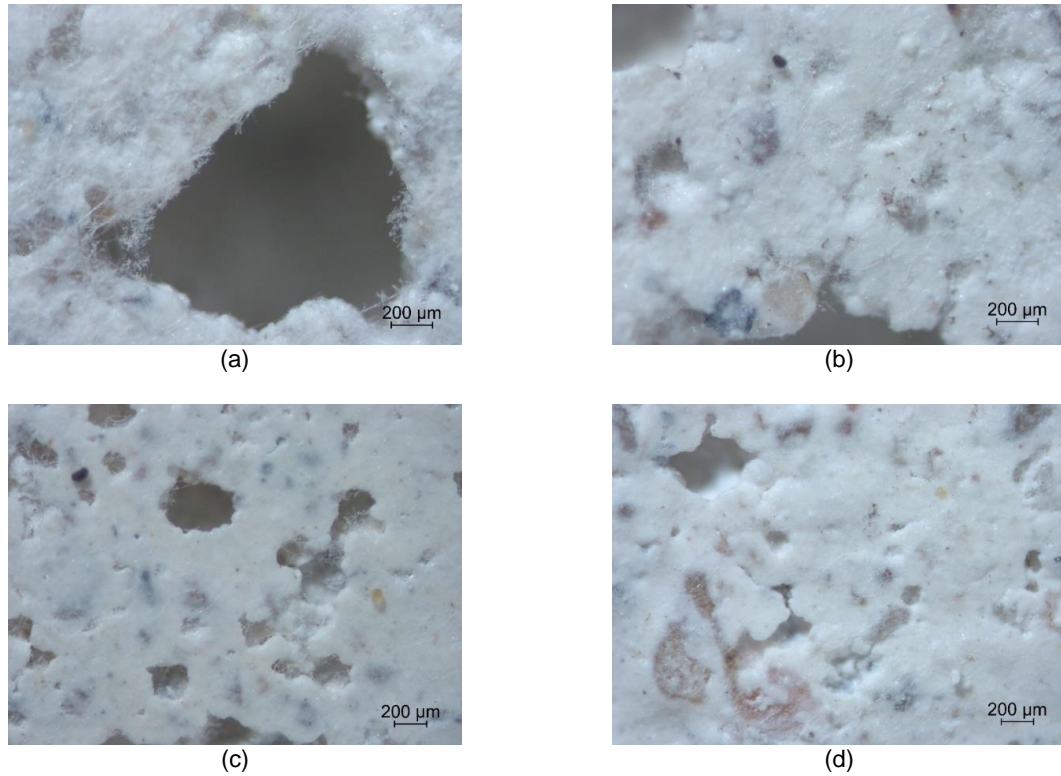
A Figura 141 mostra o crescimento do consórcio de fungos na superfície das amostras com a aplicação do fotocatalisador e expostas à luz UVA.

Figura 141 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia com aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) amostra 49, 1.000μm; b) amostra 50, 100μm; c) amostra 51, 500μm d) amostra 52, 200μm



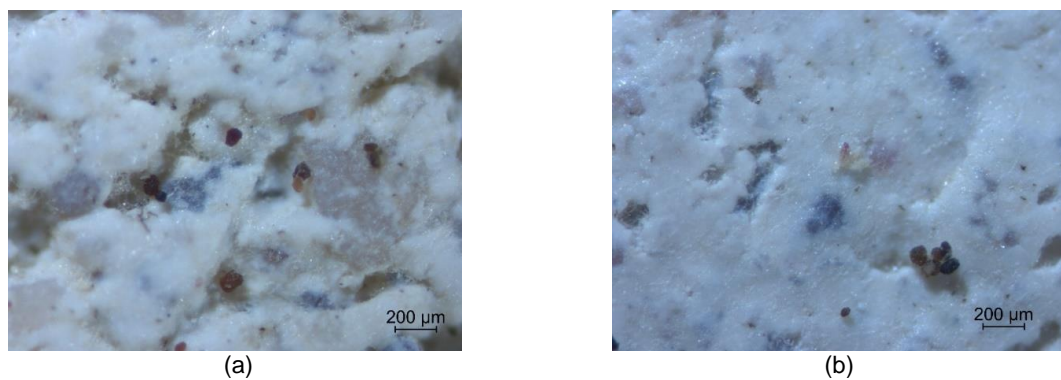
A Figura 142 mostra as imagens em lupa estereoscópica da superfície das amostras sem aplicação do fotocatalisador e expostas à luz.

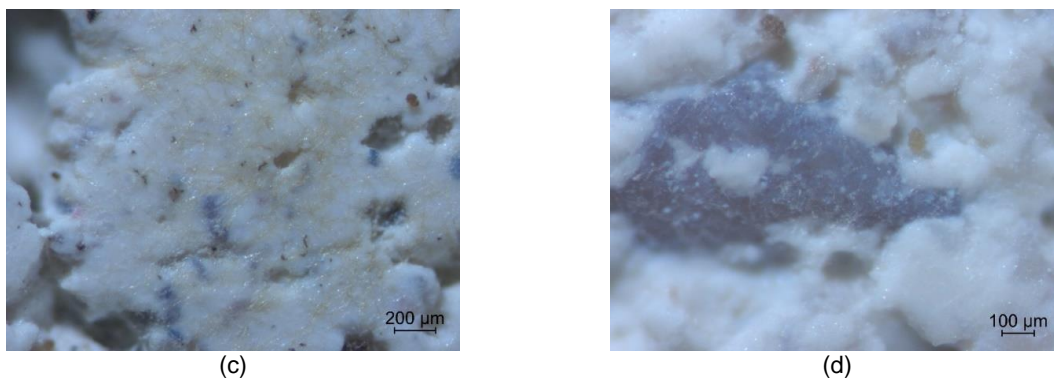
Figura 142 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia sem aplicação do fotocatalisador e exposta à luz: a) amostra 55, 200 μ m; b) amostra 56, 200 μ m; c) amostra 55, 200 μ m; d) amostra 59, 200 μ m



A Figura 143 mostra as imagens em lupa das superfícies das amostras com TiO_2 e em condição de escuro.

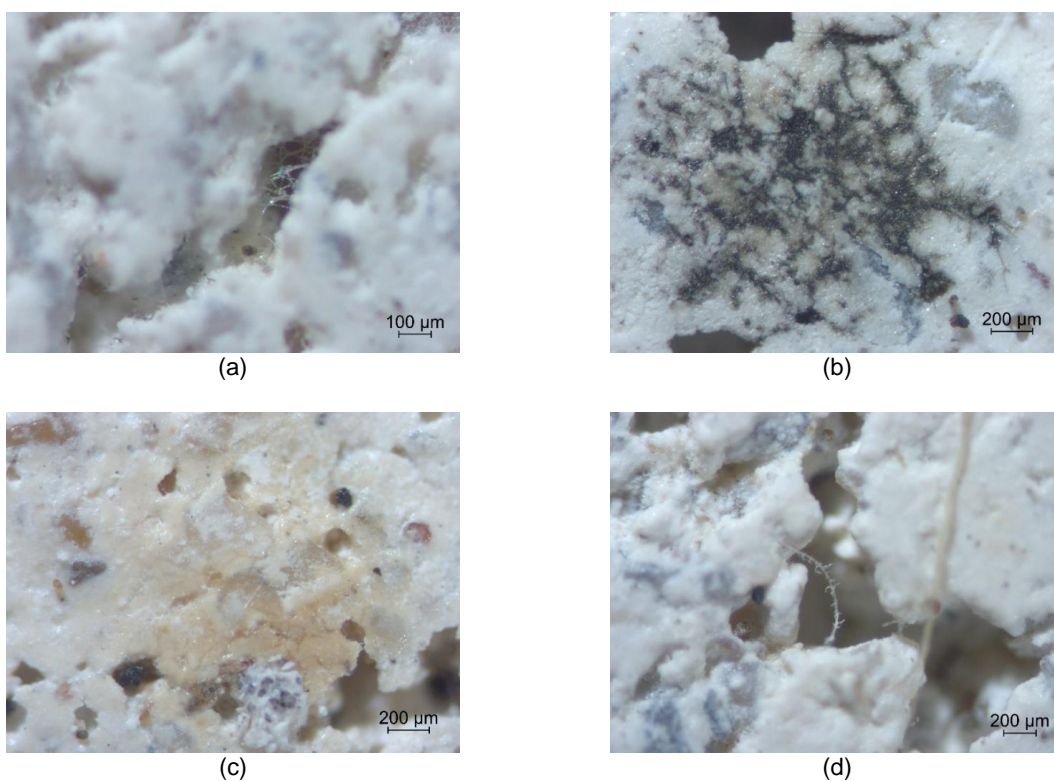
Figura 143 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia com aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) amostra 62, 200 μ m; b) amostra 63, 200 μ m; c) amostra 64, 200 μ m; d) amostra 65, 100 μ m





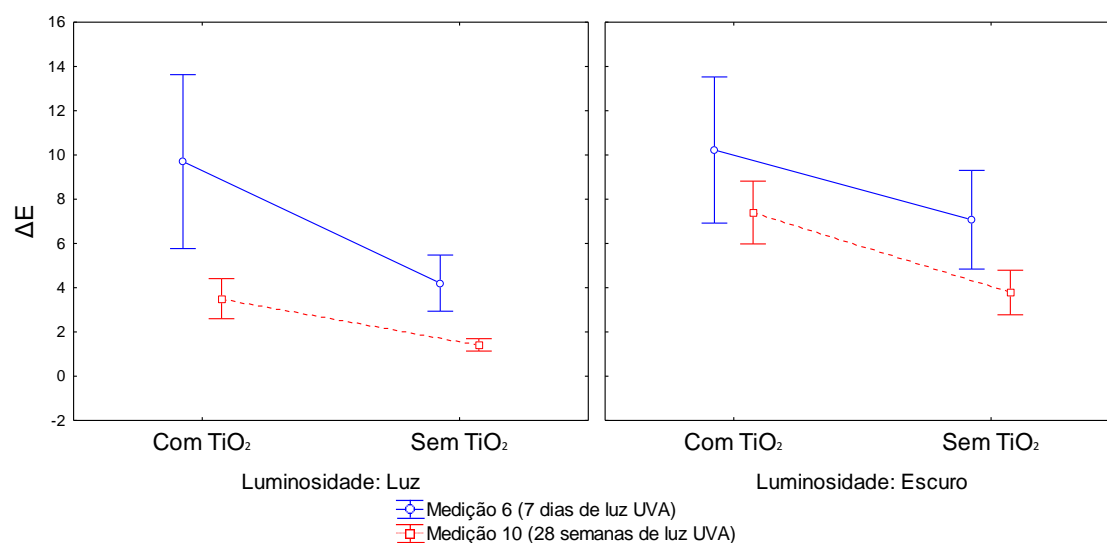
A Figura 144 mostra as imagens para as superfícies sem TiO_2 e em condição de escuro.

Figura 144 – Imagens em lupa estereoscópica do consórcio de fungos, crescimento na argamassa de cal e areia SEM aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro: a) amostra 67, 100µm; b) amostra 69, 200µm; c) amostra 70, 200µm; d) amostra 71, 200µm



A Figura 145, mostra os resultados da ANOVA (fatorial) para todas as condições de ensaio propostas para as amostras inoculadas com o consórcio de fungos.

Figura 145 – ANOVA (fatorial) da variação de cor (ΔE) em função da aplicação ou não do fotocatalisador, considerando incidência ou não de luz para o consórcio de 5 isolados
0,95 intervalo de confiança



Leitura inicial*: 18 dezembro/2017 (7 dias de fotoperíodo UVA 1h/dia) – medição 6
 Leitura final*: 10 julho/2018 (28 semanas de fotoperíodo UVA 4h/dia) – medição 10
S – Variável de controle exerce influência significativa sobre a variável de resposta
 NS – Variável de controle não exerce influência significativa sobre a variável de resposta

A Tabela 58 e a Figura 146 mostram a comparação entre os diferentes parâmetros, destacando a diferença significativa da variação de cor entre a leitura inicial e final das amostras para as configurações com e sem TiO₂, expostas ou não a luz. Desta forma, estatisticamente, todas as condições mostraram diferença significativa quanto à variação de cor, independente da luz ou do fotocatalisador.

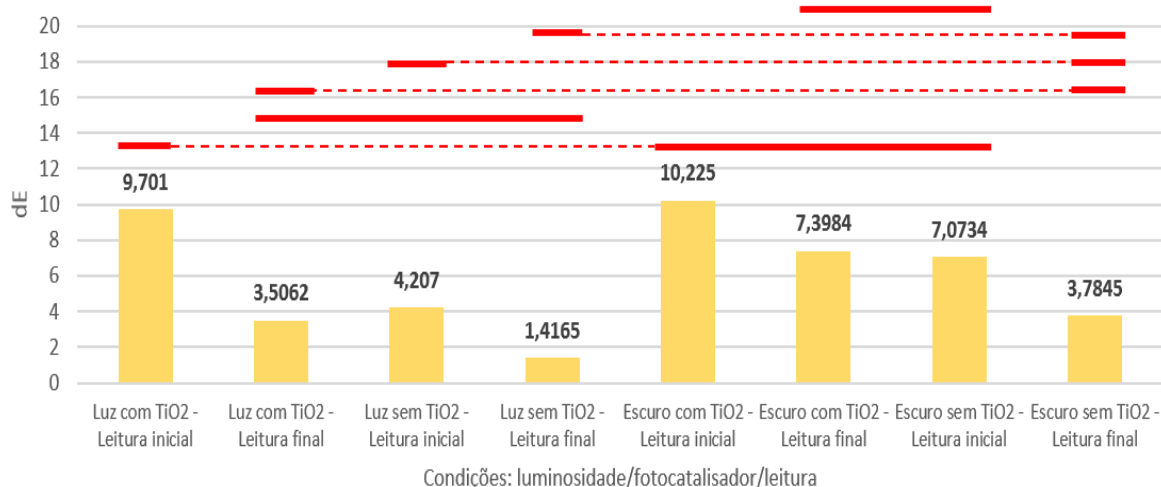
Tabela 58 – ANOVA (Teste de Fisher) das médias dos diferentes parâmetros analisados para o consórcio de 5 isolados

COMPARAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Luz com TiO ₂ - Leitura inicial* (1)		S	S	S	NS	NS	NS	S
Luz com TiO ₂ - Leitura final* (2)	S		NS	NS	S	S	S	NS
Luz sem TiO ₂ - Leitura inicial (3)	S	NS		S	S	S	S	NS
Luz sem TiO ₂ - Leitura final (4)	S	NS	S		S	S	S	NS
Escuro com TiO ₂ - Leitura inicial (5)	NS	S	S	S		S	S	S
Escuro com TiO ₂ - Leitura final (6)	NS	S	S	S	S		NS	S
Escuro sem TiO ₂ - Leitura inicial (7)	NS	S	S	S	S	NS		S
Escuro sem TiO ₂ - Leitura final (8)	S	NS	NS	NS	S	S	S	

Leitura inicial*: 18 dezembro/2017 (7 dias de fotoperíodo UVA 1h/dia) – medição 6
 Leitura final*: 10 julho/2018 (28 semanas de fotoperíodo UVA 4h/dia) – medição 10
S – Variável de controle exerce influência significativa sobre a variável de resposta

NS – Variável de controle não exerce influência significativa sobre a variável de resposta

Figura 146 – ANOVA comparação entre os diferentes parâmetros analisados (luminosidade/fotocatalisador e leitura) a partir da análise do ΔE para os 5 isolados



3.4.8 Resultados das análises com o software *Image J*

As análises com o espectrofotômetro foram realizadas em pontos pré-estabelecidos das amostras, anteriormente ao crescimento fúngico, o que resultou na dificuldade de verificação da eficiência do fotocatalisador na superfície total analisada após o crescimento. Desta forma, de modo complementar, algumas imagens foram selecionadas para análise em software de imagem *Image J*. A eficácia deste método está relacionada com a adequada obtenção das imagens fotográficas e possibilidade de rastreamento da área a ser avaliada. Considerando que esta metodologia de análise foi adotada posteriormente ao desenvolvimento do trabalho, de modo a complementar os resultados obtidos, utilizou-se como critério a seleção de algumas amostras com efetivo crescimento do inóculo e que permitissem o rastreamento da área de medição. Esta análise permitiu uma verificação percentual da área de manchamento, comparando as imagens iniciais com as imagens finais. Foi utilizado um plugin específico do software, o *Threshold*, onde, a partir da transformação das imagens para 8 bits (escalas de cinza), essas são dispostas em duas classes de pixels, correspondendo ao preto e ao branco (0-255 pixels). A partir da quantificação da área total de pixels mínimos (correspondendo ao preto), determinou-se o percentual do manchamento das amostras com relação à área total da superfície em análise.

Da Figura 147 a Figura 163 são mostradas as imagens selecionadas para esta análise. São apresentadas as imagens referentes à primeira semana de exposição à luz UVA e a medição final, após 28 semanas de exposição. Foram analisadas também amostras que permaneceram nas mesmas condições de ensaio, no interior do equipamento (BOD), porém sem a incidência direta da luz UVA, retomando que estas amostras permaneceram recobertas durante todo o desenvolvimento do experimento, denominada, assim, como em condição de escuro. A primeira imagem corresponde à fotografia original, a seguir, mostra-se a imagem transformada para escala de tons de cinza (8 bits) e, por fim, o rastreamento através do plugin *Threshold*. Todas as imagens foram previamente tratadas e corrigidas para um tamanho total de 2.400x2.400 pixels, permitindo a comparação proporcional entre elas.

Uma limitação ao método consistiu na determinação de pixels a serem rastreados de forma a representar o manchamento exclusivamente causado pelo crescimento dos fungos analisados. Desta forma, as imagens eram comparadas diretamente à fotografia original, permitindo a conferência da região considerada na quantificação da área de crescimento.

A Figura 147, Figura 148, Figura 149 referem-se às amostras inoculadas com o fungo *A. niger*, com aplicação do fotocatalisador e expostas à luz UVA. A quantificação do manchamento para as amostras 4, 5 e 6 mostrou uma redução de 78,1%; 51,5% e 62% entre a primeira e a última medição, respectivamente.

Figura 147 – Amostra 4: *Aspergillus niger*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

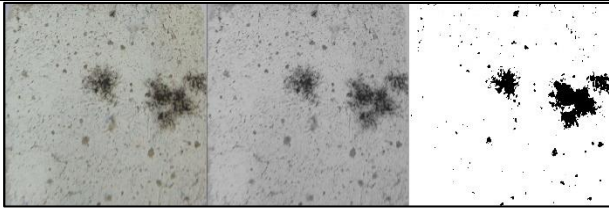
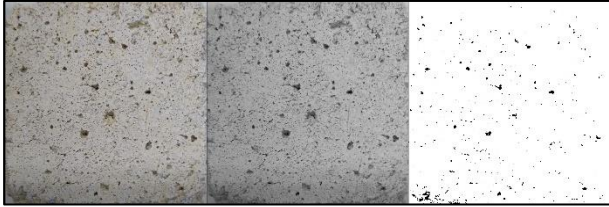
ISO 1. AMOSTRA 4 – Com TiO₂ e exposição à luz				
Medição 1 semana de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 312596 Manchamento = 5,4%
	(a)			
Medição 28 semanas de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 68353 Manchamento = 1,2%
	(b)			
Redução Total do manchamento = 78,1%				

Figura 148 – Amostra 5: *Aspergillus niger*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

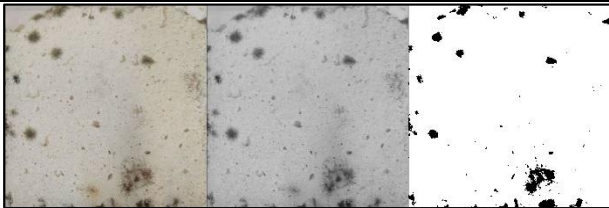
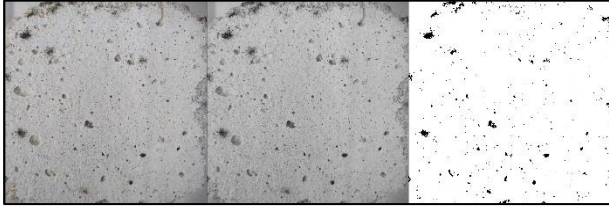
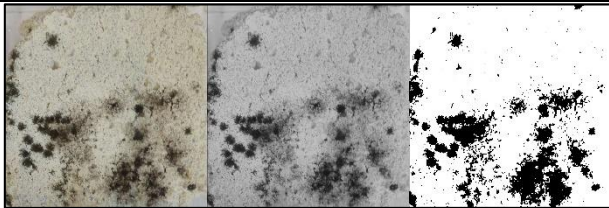
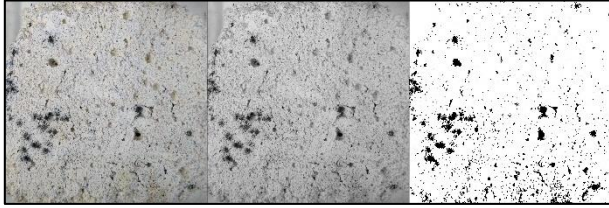
ISO 1. AMOSTRA 5 – Com TiO₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 193449 Manchamento = 3,4%
	(a)	
Medição 28 semanas de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 93746 Manchamento = 1,6%
	(b)	
Redução Total do manchamento = 51,5%		

Figura 149 – Amostra 6: *Aspergillus niger*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

ISO1. AMOSTRA 6 – Com TiO₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 970832 Manchamento = 16,9%
	(a)	
Medição 28 semanas de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 369358 Manchamento = 6,4%
	(b)	
Redução Total do manchamento = 62%		

A Figura 150 e a Figura 151 apresentam a análise das amostras 16 e 22, com a aplicação do fotocatalisador e em condição de escuro. Visualmente as amostras apresentaram pouca alteração quanto ao manchamento. O rastreamento da imagem identificou um percentual de redução de 5,9% e 4,0%, respectivamente, valores baixos comparados à análise das amostras com TiO₂ e incidência de luz.

Figura 150 – Amostra 16: *Aspergillus niger*, amostra com TiO₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada

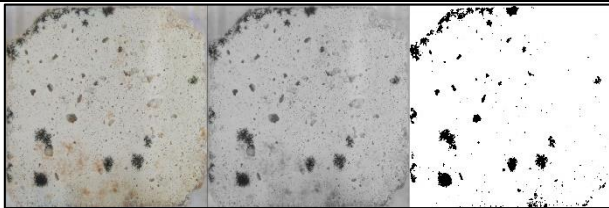
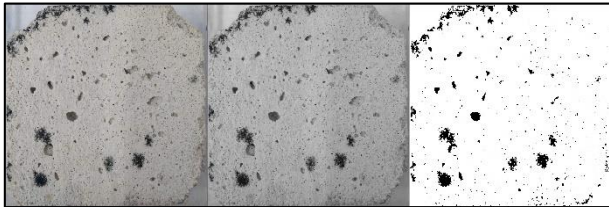
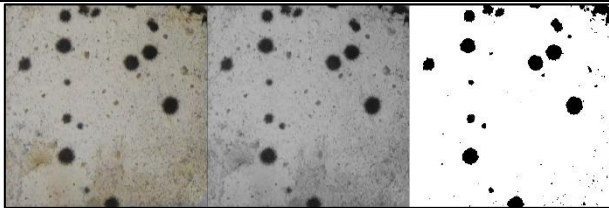
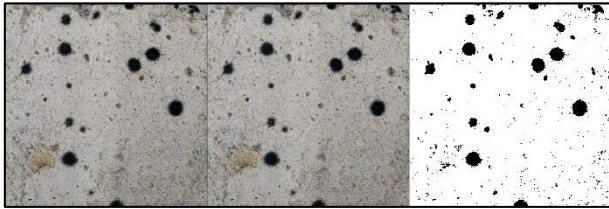
ISO1. AMOSTRA 16 – Com TiO₂ e escuro		
Medição 1 semana de acionamento da lâmpada		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 252825 Manchamento = 4,4%
	(a)	
Medição 28 semanas de acionamento da lâmpada		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 229572 Manchamento = 4,1%
	(b)	
Redução Total do manchamento = 5,9%		

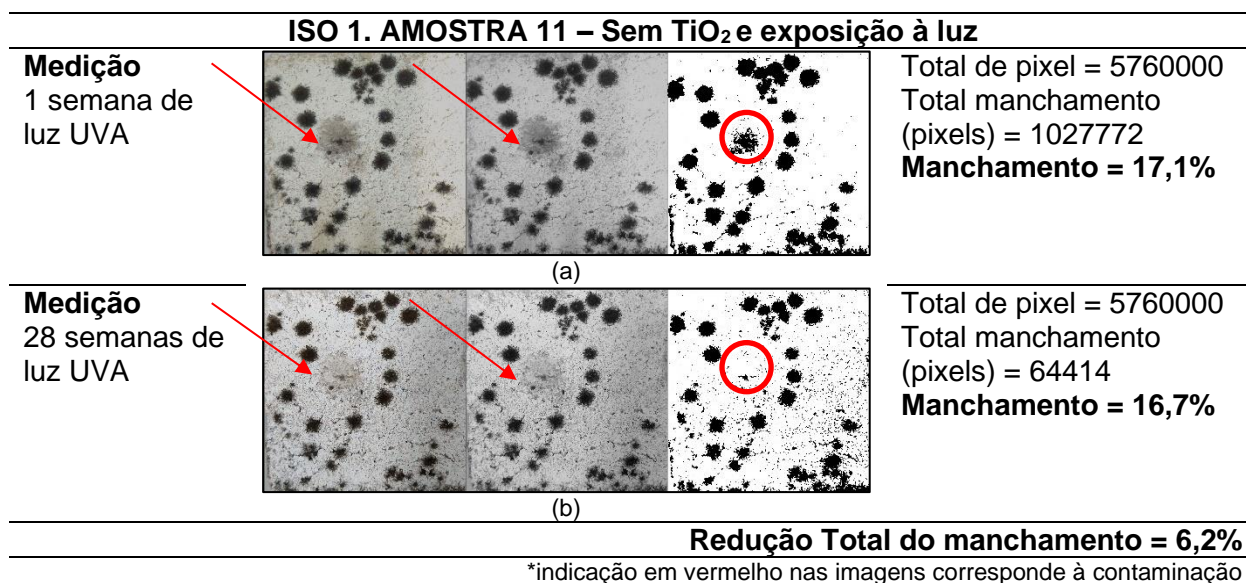
Figura 151– Amostra 22: *Aspergillus niger*, amostra com TiO₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada

ISO1. AMOSTRA 22 – Com TiO₂ e escuro		
Medição 1 semana de acionamento da lâmpada		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 301329 Manchamento = 5,2%
	(a)	
Medição 28 semanas de acionamento da lâmpada		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 289370 Manchamento = 5,0%
	(b)	
Redução Total do manchamento = 4,0%		

A Figura 152, Amostra 11 (sem TiO₂ e expostas à luz) mostra uma pequena redução do machamento entre o registro inicial e o final, correspondendo à 6,2%.

Destaca-se que na amostra 11 houve o desenvolvimento de uma contaminação, não correspondendo ao fungo inoculado, assinalado nas imagens (Figura 152). Portanto, a redução pode estar relacionada à influência da luz UVA sobre a mencionada contaminação. De modo geral, as colônias do fungo *A. niger* não sofreram alteração quanto à incidência de luz na ausência do TiO₂.

Figura 152 – Amostra 11: *Aspergillus niger*, amostra sem TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA



*indicação em vermelho nas imagens corresponde à contaminação

A Figura 153, Figura 154 e Figura 155 correspondem às análises referentes ao fungo *Purpureocillium lilacinum*, com aplicação do fotocatalisador e expostas à luz UVA. A redução do manchamento foi de 54,1%, 14,7% e 21,5% para as amostras 26, 27 e 29, respectivamente.

Comparativamente às amostras inoculadas com o fungo *A. niger* pôde-se observar que o fungo *P. lilacinum* apresentou um menor percentual de redução do manchamento. Sobre este comportamento é possível supor que pelo fato das colônias de crescimento do fungo *P. lilacinum* terem ocorrido de modo mais intenso, com o recobrimento de praticamente toda a superfície da amostra, foi dificultada a penetração dos raios UVA para ativação do fotocatalisador. Nas amostras do isolado *A. niger*, o crescimento apresentou um comportamento disperso, com colônias distanciadas entre si, o que pode ter permitido a incidência da luz e ativação do fotocatalisador próximo às bordas de crescimento, favorecendo a ocorrência da fotocatalise e redução das colônias.

Figura 153 – Amostra 26: *Purpureocillium lilacinum*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

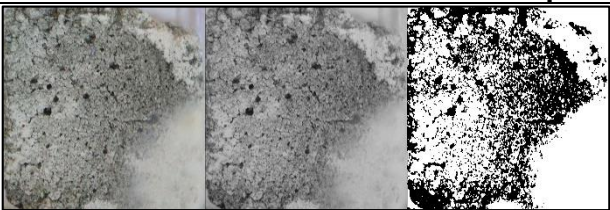
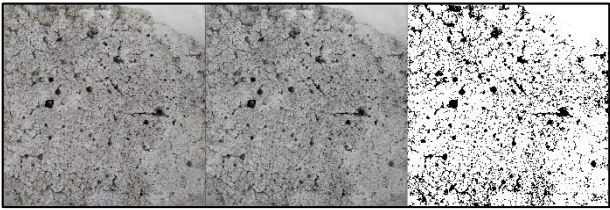
ISO 2. AMOSTRA 26 – Com TiO ₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA	 <p style="text-align: center;">(a)</p>	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 2061970 Manchamento = 35,8%
Medição 28 semanas de luz UVA	 <p style="text-align: center;">(b)</p>	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 945888 Manchamento = 16,4%
Redução Total do manchamento = 54,1%		

Figura 154 – Amostra 27: *Purpureocillium lilacinum*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

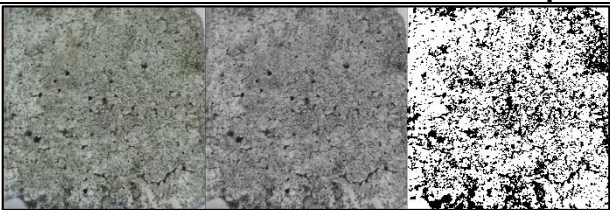
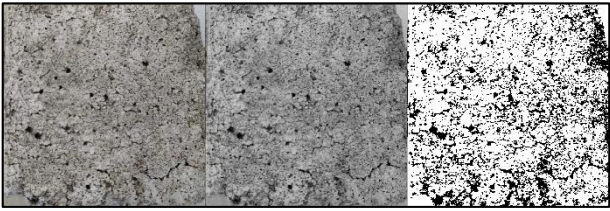
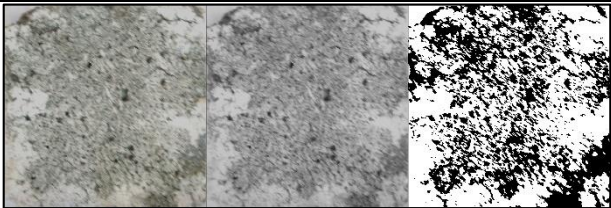
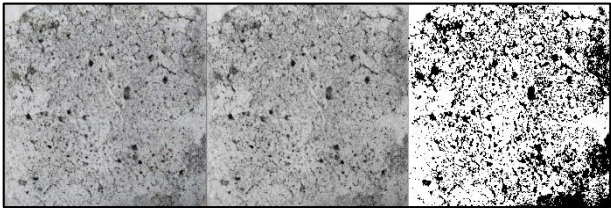
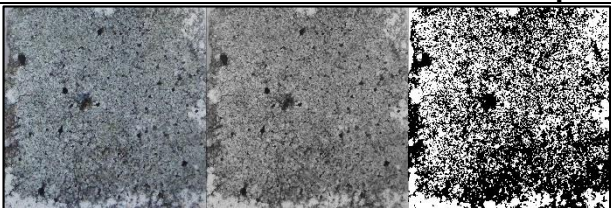
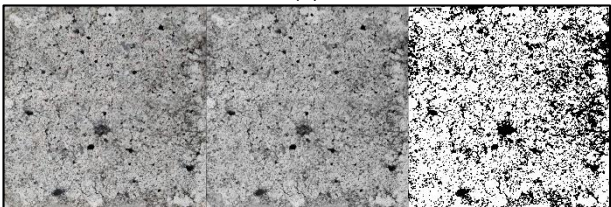
ISO 2. AMOSTRA 27 – Com TiO ₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA	 <p style="text-align: center;">(a)</p>	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1710322 Manchamento = 29,7%
Medição 28 semanas de luz UVA	 <p style="text-align: center;">(b)</p>	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1458518 Manchamento = 25,3%
Redução Total do manchamento = 14,7%		

Figura 155 – Amostra 29: *Purpureocillium lilacinum*, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

ISO 2. AMOSTRA 29 – Com TiO ₂ e exposição à luz				
Medição 1 semana de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 2132570 Manchamento = 37,0%
	(a)			
Medição 28 semanas de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1674364 Manchamento = 29,1%
	(b)			
Redução Total do manchamento = 21,5%				

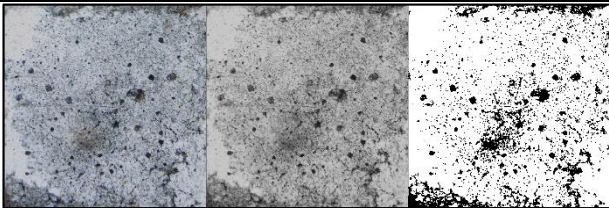
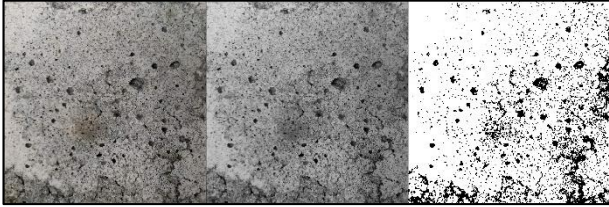
A amostra 33 (Figura 156), embora sem a aplicação do fotocatalisador, apresentou uma redução de 44,6% no manchamento. Esta foi a única amostra, desta configuração, que apresentou um crescimento efetivo, demonstrando uma sensibilidade do crescimento deste fungo quanto à incidência de luz, reduzindo o manchamento, mesmo na ausência do fotocatalisador.

Figura 156 – Amostra 33: *Purpureocillium lilacinum*, amostra sem TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

ISO 2. AMOSTRA 33 – Sem TiO ₂ e exposição à luz				
Medição 1 semana de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 3025106 Manchamento = 52,5%
	(a)			
Medição 28 semanas de luz UVA				Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1674827 Manchamento = 29,1%
	(b)			
Redução Total do manchamento = 44,6%				

A análise da amostra 38 (Figura 157) mostra que na ausência de incidência de luz, mesmo com a aplicação do fotocatalisador, não houve uma redução efetiva do manchamento, correspondendo a 4,44%.

Figura 157 – Amostra 38: *Purpureocillium lilacinum*, amostra com TiO₂ e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada

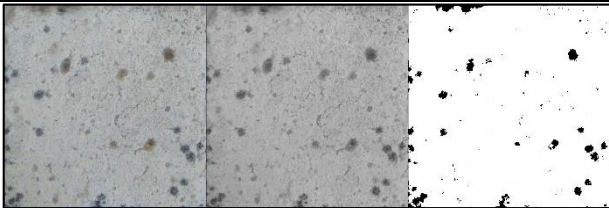
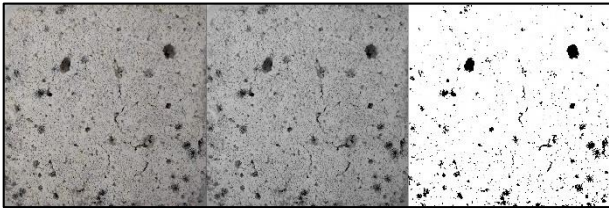
ISO 2. AMOSTRA 38 – Com TiO₂ e escuro		
Medição 1 semana de acionamento da lâmpada	 (a)	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 886648 Manchamento = 15,4%
Medição 28 semanas de acionamento da lâmpada	 (b)	Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 847308 Manchamento = 14,7%
Aumento Total do manchamento = 4,4%		

Desta forma, pode-se deduzir que para o fungo *P. lilacinum* ocorreu uma importante interferência da luz UVA no estabelecimento das colônias, com uma maior eficiência na redução do manchamento quando associada à aplicação do TiO₂.

Da Figura 158 a Figura 163 são mostradas as análises a partir das amostras inoculadas com o consórcio de cinco fungos: *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Cladosporium sphaerospermum*, *Trichoderma atroviride* e *Acremonium* sp. Estas colônias apresentam morfologia e coloração diferenciada, o que resultou no crescimento não homogêneo entre as diferentes amostras.

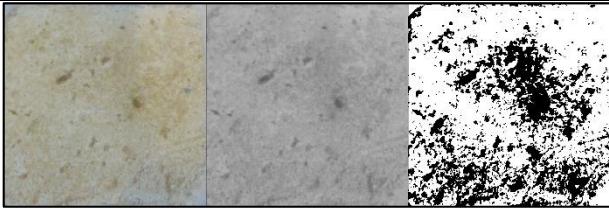
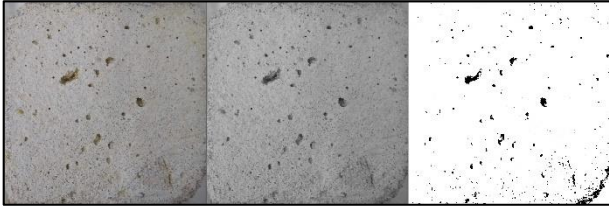
A amostra 49, com a aplicação de TiO₂ e exposta à luz UVA, apresentada na Figura 158, por exemplo, apresentou no registro inicial, um intenso crescimento de coloração branca e aspecto algodinoso, pouco perceptível através da análise de imagens e de difícil rastreamento pelo software. Para esta amostra a quantificação do manchamento, entre a medição inicial e final, resultou em um aumento do percentual (51,3%), no entanto, destaca-se que este percentual não representa necessariamente um aumento do crescimento fúngico e sim, uma limitação do rastreamento, visto a amostra inicial estar recoberta com as colônias de coloração branca que foram reduzidas até o final da medição, predominando as de coloração escura.

Figura 158 – Amostra 49: consórcio de fungos, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

CONSÓRCIO. AMOSTRA 49 – Com TiO₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 173529 Manchamento = 3,0%
	(a)	
Medição 28 semanas de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 262558 Manchamento = 4,6%
	(b)	
Aumento Total do manchamento = 51,3%		

A amostra 51 na Figura 159 apresentou o crescimento inicial das colônias com uma coloração amarelada. Entre o registro inicial e o registro final, observou-se a redução de 93,4%, demonstrando uma efetividade na redução do manchamento na associação fotocatalisador e incidência de luz UVA.

Figura 159 – Amostra 51: consórcio de fungos, amostra com TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

CONSÓRCIO. AMOSTRA 51 – Com TiO₂ e exposição à luz		
Medição 1 semana de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1730941 Manchamento = 30,0%
	(a)	
Medição 28 semanas de luz UVA		Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 114223 Manchamento = 2,0%
	(b)	
Redução Total do manchamento = 93,4%		

Contudo, as amostras 55 e 56 (Figura 160 e Figura 161), onde não foi aplicado o fotocatalisador, porém sob exposição à luz, apresentaram redução do manchamento de 78,6% e 87,5%, respectivamente. Este resultado demonstra uma importante influência da incidência de luz UVA para o crescimento das colônias inoculadas como

consórcio. A predominância da coloração clara mostrou maior sensibilidade com relação à irradiação UVA, quando comparada a colônias de pigmentação escura.

Figura 160 – Amostra 55: consórcio de fungos, amostra Sem TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

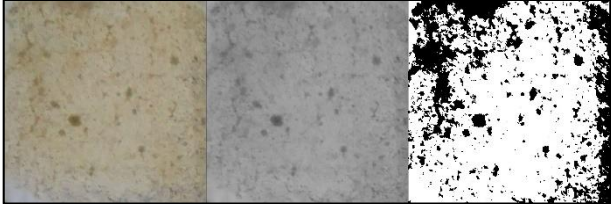

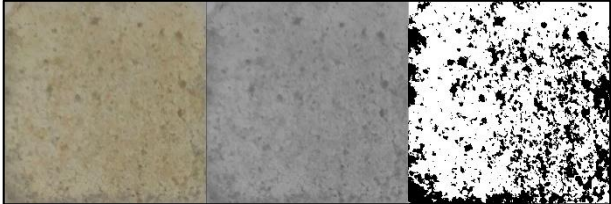
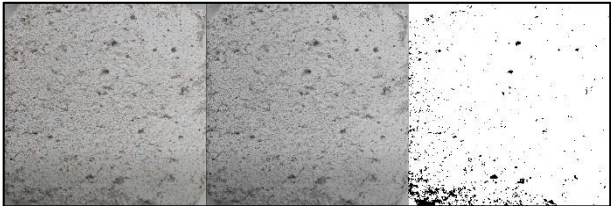
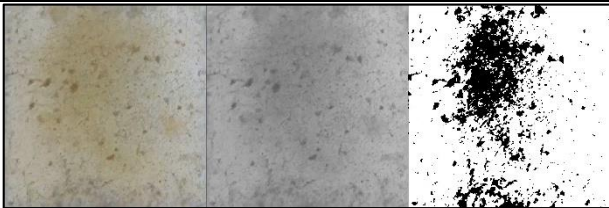

CONSÓRCIO. AMOSTRA 55 – Sem TiO₂ e exposição à luz			
Medição 1 semana de luz UVA			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1458193 Manchamento = 25,3%
	(a)		
Medição 28 semanas de luz UVA			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 312265 Manchamento = 5,4%
	(b)		
Redução Total do manchamento = 78,6%			

Figura 161 – Amostra 56: consórcio de fungos, amostra Sem TiO₂ e exposta à luz: a) com 1 semana de exposição à luz UVA; b) com 28 semanas de exposição à luz UVA

CONSÓRCIO. AMOSTRA 56 – Sem TiO₂ e exposição à luz			
Medição 1 semana de luz UVA			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1560318 Manchamento = 27,1%
	(a)		
Medição 28 semanas de luz UVA			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 194387 Manchamento = 3,4%
	(b)		
Redução Total do manchamento = 87,5%			

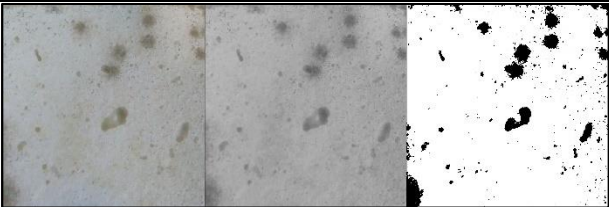
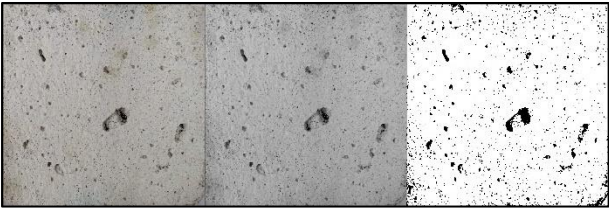
As amostras 62 e 63 (Figura 162 e Figura 163) receberam a aplicação do fotocatalisador, no entanto permaneceram na condição de escuro. Verificou-se uma redução de 50,0% e 23,7%, respectivamente.

Figura 162 – Amostra 62: consórcio de fungos, amostra com TiO_2 e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada

CONSÓRCIO. AMOSTRA 62 – Com TiO_2 e escuro			
Medição 1 semana de acionamento da lâmpada			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 1087017 Manchamento = 18,9%
	(a)		
Medição 28 semanas de acionamento da lâmpada			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 543242 Manchamento = 9,4%
	(b)		
Redução Total do manchamento = 50,0%			

Desta forma, observou-se que mesmo na ausência da luz ocorreu uma redução do manchamento quando aplicado o fotocatalisador, no entanto a resposta foi muito mais efetiva quando ocorreu a incidência da irradiação UVA.

Figura 163 – Amostra 63: consórcio de fungos, amostra com TiO_2 e escuro: a) com 1 semana de acionamento da lâmpada; b) com 28 semanas de acionamento da lâmpada

CONSÓRCIO. AMOSTRA 63 – Com TiO_2 e escuro			
Medição 1 semana de acionamento da lâmpada			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 391266 Manchamento = 6,8%
	(a)		
Medição 28 semanas de acionamento da lâmpada			Total de pixel = 5760000 Total manchamento (pixels) = 298489 Manchamento = 5,2%
	(b)		
Redução Total do manchamento = 23,7%			

A análise de imagem permitiu verificar que para os fungos inoculados, independente da aplicação do fotocatalisador, houve uma importante influência da luz UVA, principalmente nas amostras inoculadas com o fungo *P. lilacinum* e com o consórcio de fungos. No entanto a associação luz e TiO_2 mostrou uma maior eficiência, principalmente com relação ao fungo *A. niger*, onde verificou-se de modo mais

evidente a efetiva redução no crescimento. Esta análise complementar apresentou concordância com os dados obtidos com o espectrofotômetro, bem como com a análise estatística. A Tabela 59 apresenta uma síntese das análises de imagem através do software *Image J*.

Tabela 59 – Síntese da análise de imagem (*Image J*)


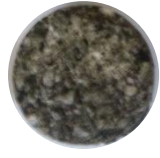


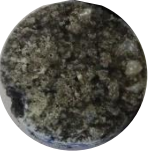


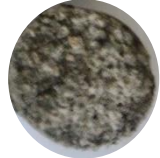




	Amostra	TiO ₂ e luz	TiO ₂ e escuro	Sem TiO ₂ e luz
<i>A.niger</i>	4	↓78,1%		
	5	↓51,5%		
	6	↓62,0%		
	16		↓5,9%	
	22		↓4,0%	
	11			↓6,2%
<i>P. lilacinum</i>	26	↓54,1%		
	27	↓14,7%		
	29	↓21,5%		
	33			↓44,6%
	38		↓4,4%	
Consórcio	49	↑51,3%		
	51	↓93,4%		
	55			↓78,6%
	56			↓87,5%
	62		↓50,0%	
	63		↓23,7%	

3.4.9 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram realizadas imagens em microscopia eletrônica de varredura das amostras moldadas em dimensões menores (~1 cm de diâmetro), tratadas, inoculadas e dispostas nas mesmas condições das demais amostras analisadas em BOD, conforme item 3.3.6 deste trabalho (Figura 164).

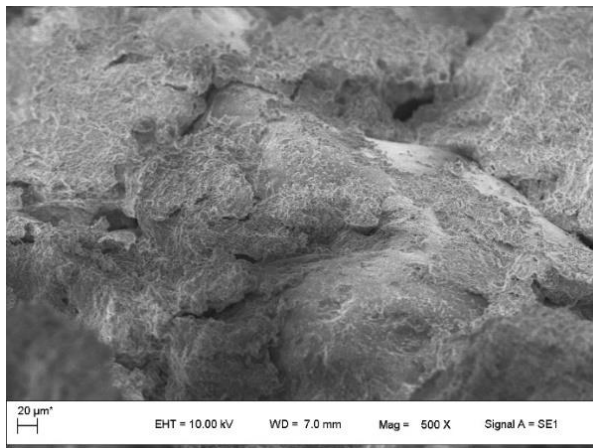
Embora em tamanho reduzido, estas precisaram ser fragmentadas em pedaços ainda menores durante o preparo. A metodologia adotada para preservação das estruturas fúngicas foi realizada conforme item 3.3.11.2 deste trabalho.

Figura 164 – Amostras utilizadas para análise em MEV

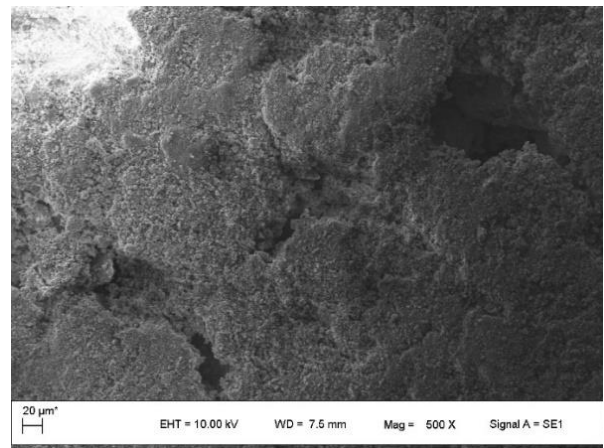
	Luz UVA			Escuro		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Consórcio	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Consórcio
Com TiO ₂						
Sem TiO ₂						

Inicialmente foram obtidas imagens de amostras sem a inoculação dos fungos para análise da superfície com e sem a aplicação do TiO₂ (Figura 165).

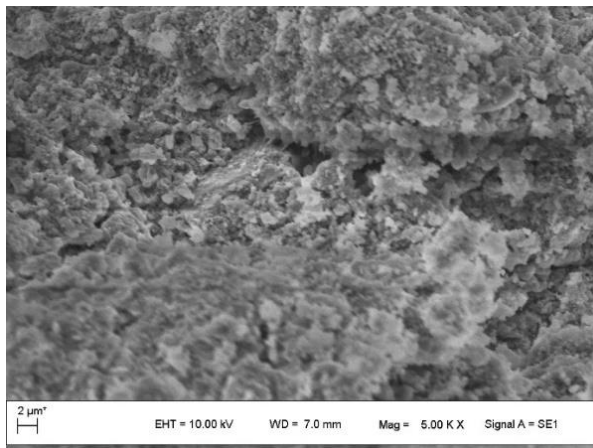
Figura 165 – Amostras controle sem inóculo de fungos, com ou sem o fotocatalisador: a) com TiO₂, magnificação 500x; b) sem TiO₂, magnificação 500x; c) com TiO₂, magnificação 5.000x; d) sem TiO₂, magnificação 5.000x; e) com TiO₂, magnificação 10.000x; f) sem TiO₂, magnificação 10.000x



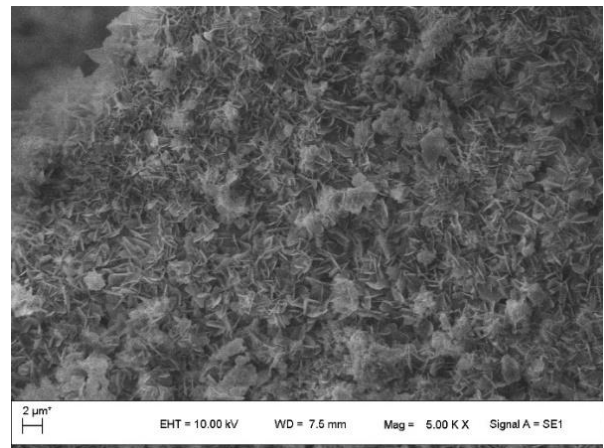
(a)



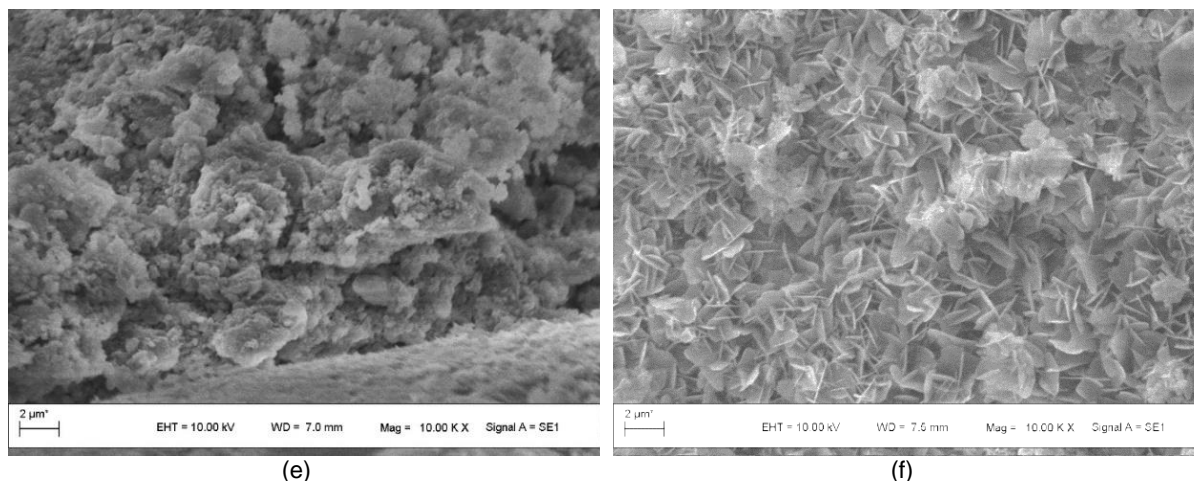
(b)



(c)



(d)

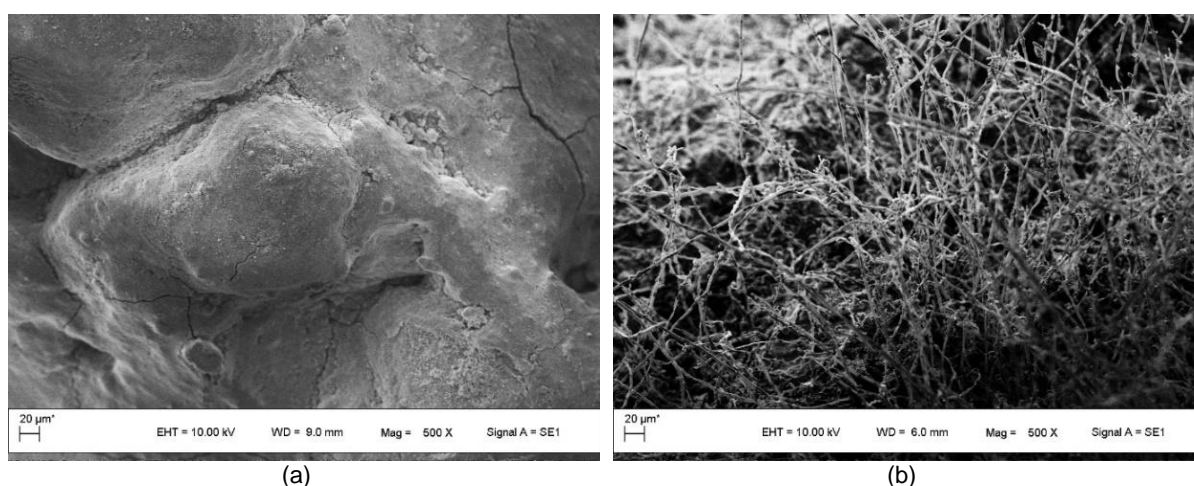


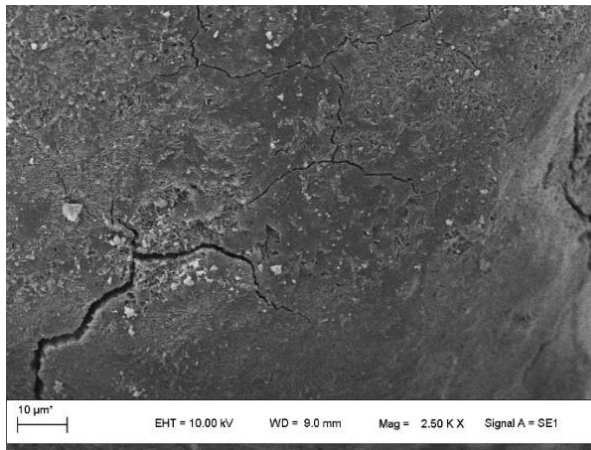
A Figura 165(e) (maior magnificação) mostra o depósito superficial de titânio na amostra, em comparação à amostra da Figura 165(f), onde não foi aplicado o TiO_2 e estão bastante visíveis os cristais de carbonato de cálcio da amostra de argamassa.

A Figura 166 mostra as imagens obtidas para as diferentes magnificações das amostras com e sem TiO_2 , expostas à luz e inoculadas com o fungo *A. niger*.

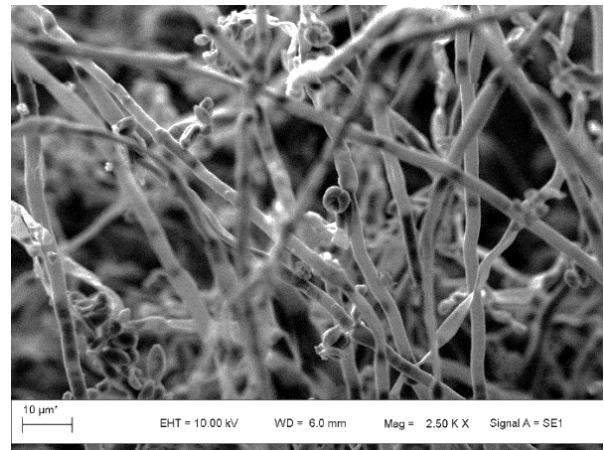
Esta é uma análise pontual, portanto, seu objetivo é de mostrar a interação do crescimento fúngico com o substrato em análise, não podendo servir de parâmetro para intensidade de crescimento considerando a aplicação ou não do fotocatalisador.

Figura 166 – Isolado 1 (*Aspergillus niger*) com exposição à luz UVA: a) com TiO_2 , magnificação 500x; b) sem TiO_2 , magnificação 500x; c) com TiO_2 , magnificação 2.500x; d) sem TiO_2 , magnificação 2.500x; e) Com TiO_2 , magnificação 5.000x; f) sem TiO_2 , magnificação 5.000x; g) sem TiO_2 , magnificação 15.000x

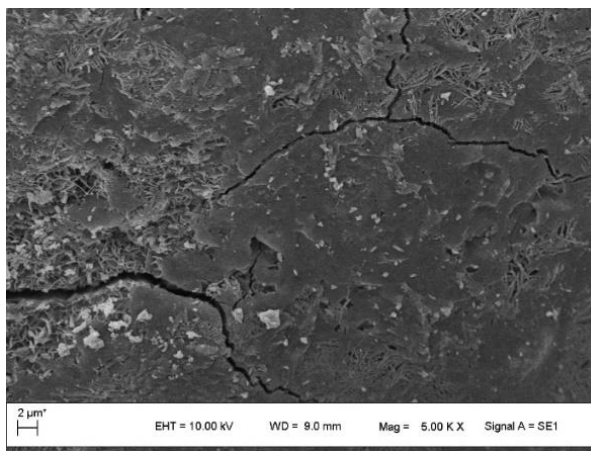




(c)



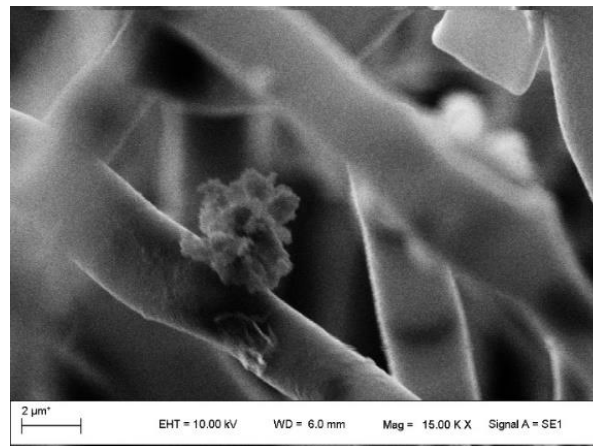
(d)



(e)



(f)

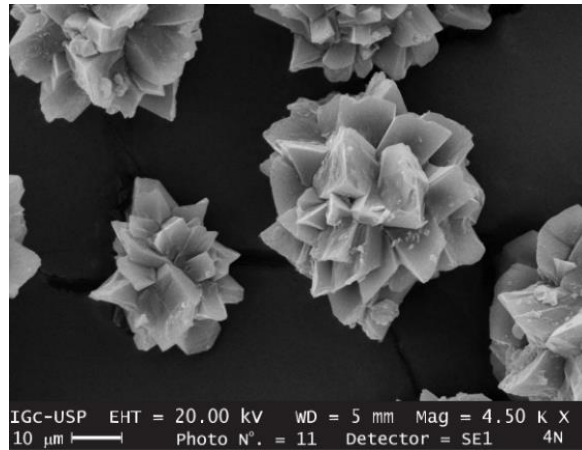


(g)

Nas amostras sem titânio é possível verificar claramente as estruturas do fungo *Aspergillus niger*. Na Figura 166(g) visualiza-se um depósito sobre a superfície da hifa do fungo. Estruturas semelhantes foram verificadas em Gadd *et al.* (2014), indicadas como cristais de oxalato, produzidos por fungo *A. niger*, e em Da Costa *et al.* (2009), indicadas como cristais de oxalato de cálcio (Figura 167). Estes cristais são produzidos a partir de minerais extraídos da matriz onde desenvolvem-se,

evidenciando a interação que ocorre entre os metabólitos fúngicos produzidos e a matriz de argamassa onde estão estabelecidos.

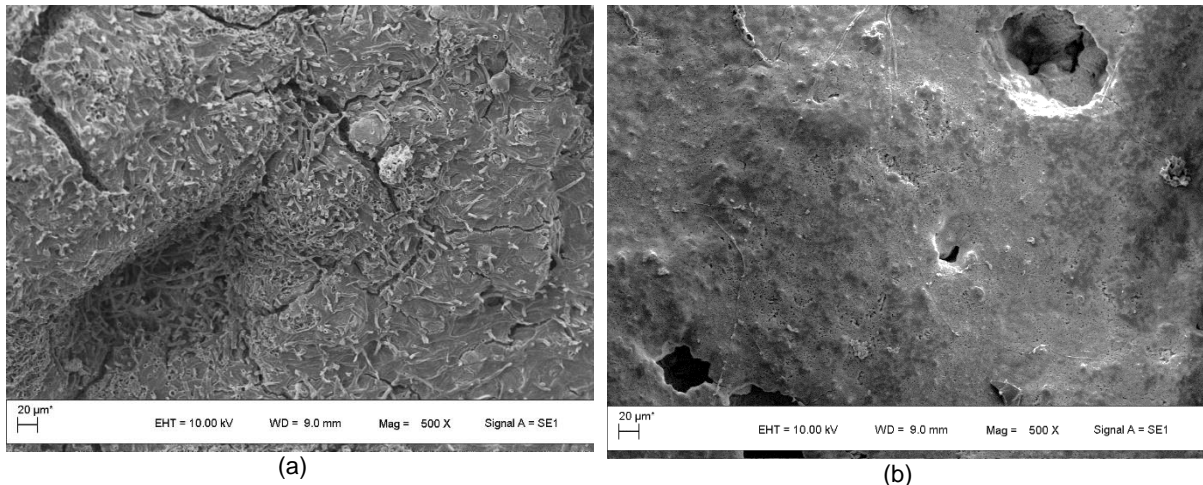
Figura 167 – Cristais de oxalato de cálcio

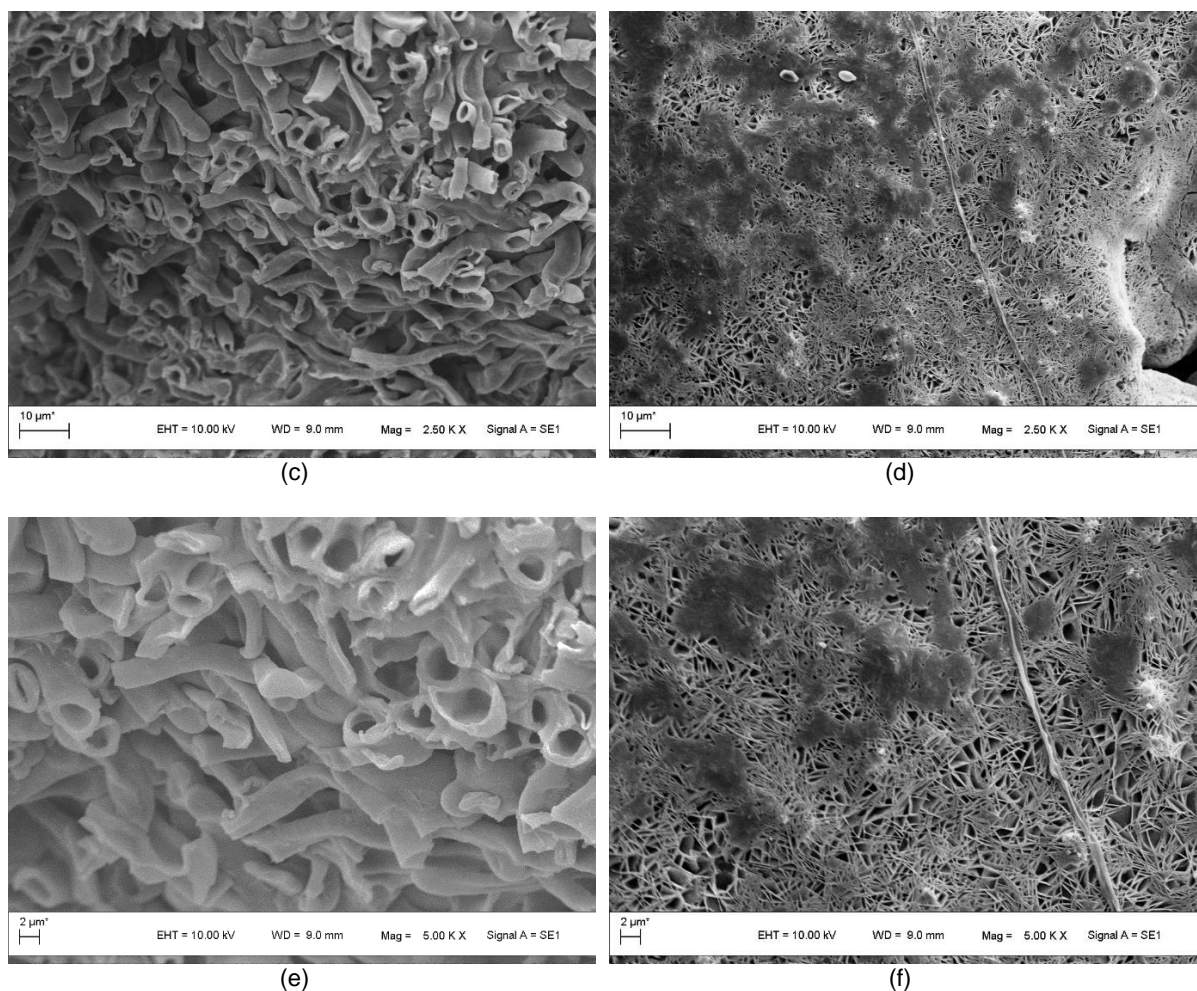


Fonte: (DA COSTA *et al.*, 2009)

A Figura 168 mostra as imagens para o mesmo fungo, com e sem TiO_2 e que permaneceram em condição de escuro durante o experimento. A Figura 168(a) mostra as estruturas fúngicas recobrendo a superfície da amostra, sobre a camada de TiO_2 . A Figura 168(c) e Figura 168(e) mostram fragmentos de hifas do fungo *Aspergillus niger*.

Figura 168 – Isolado 1 (*Aspergillus niger*) em condição de escuro: a) com TiO_2 , magnificação 500x; b) sem TiO_2 , magnificação 500x; c) com TiO_2 , magnificação 2.500x; d) sem TiO_2 , magnificação 2.500x; e) com TiO_2 , magnificação 5.000x; f) sem TiO_2 , magnificação 5.000x

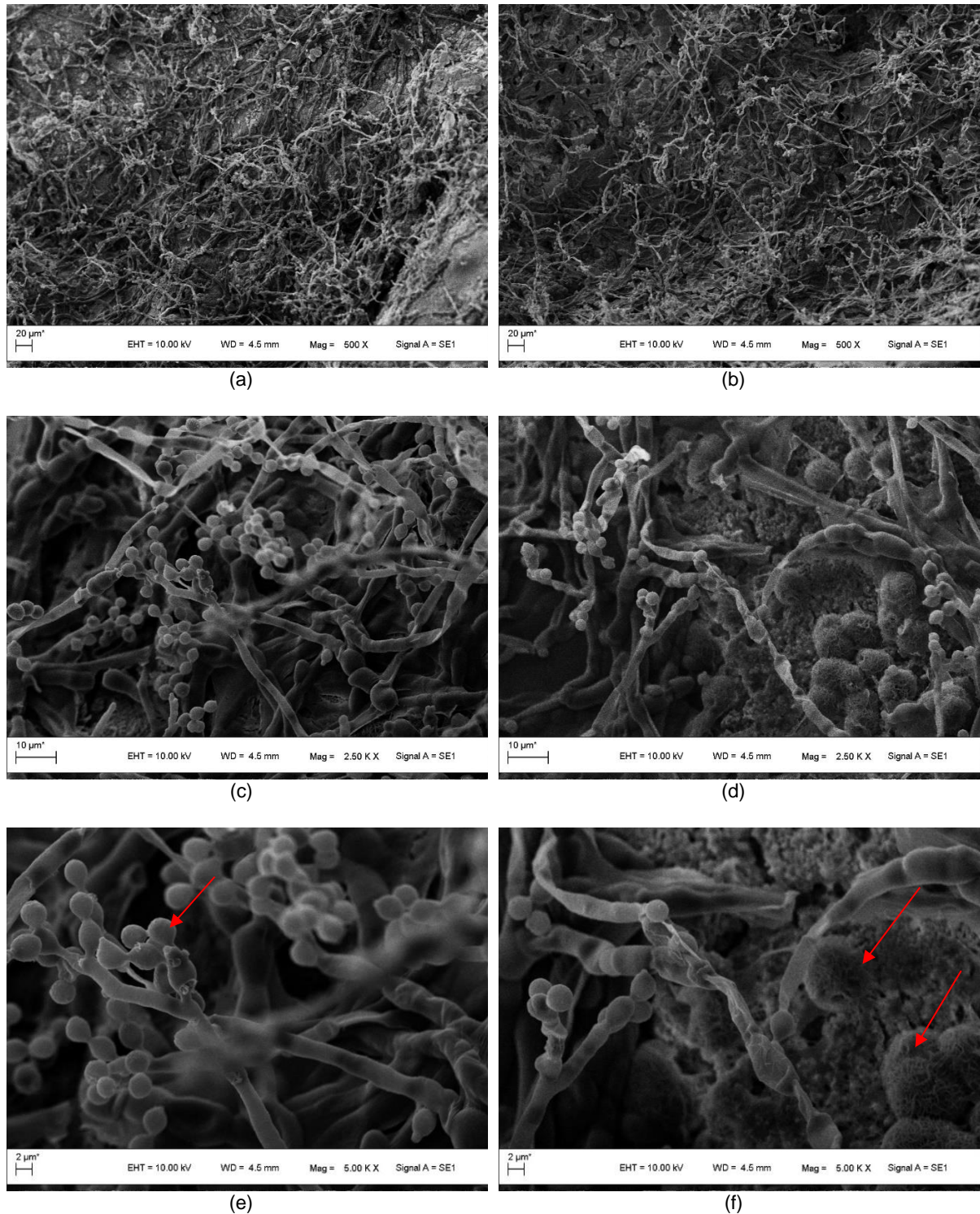




A Figura 169 mostra as imagens para fungo *P. lilacinum*, com e sem TiO_2 e que permaneceram em condição de exposição à luz UVA.

Independente da aplicação ou não do fotocatalisador, as imagens demonstram estruturas fúngicas muito semelhantes e densamente recobrendo a superfície das amostras. A Figura 169(e) mostra as estruturas esféricas (conídios) do fungo *P. lilacinum*. A Figura 169(f) mostra alguns cristais, de provável produção biológica, revelando a alteração na superfície da amostra onde ocorre o desenvolvimento biológico.

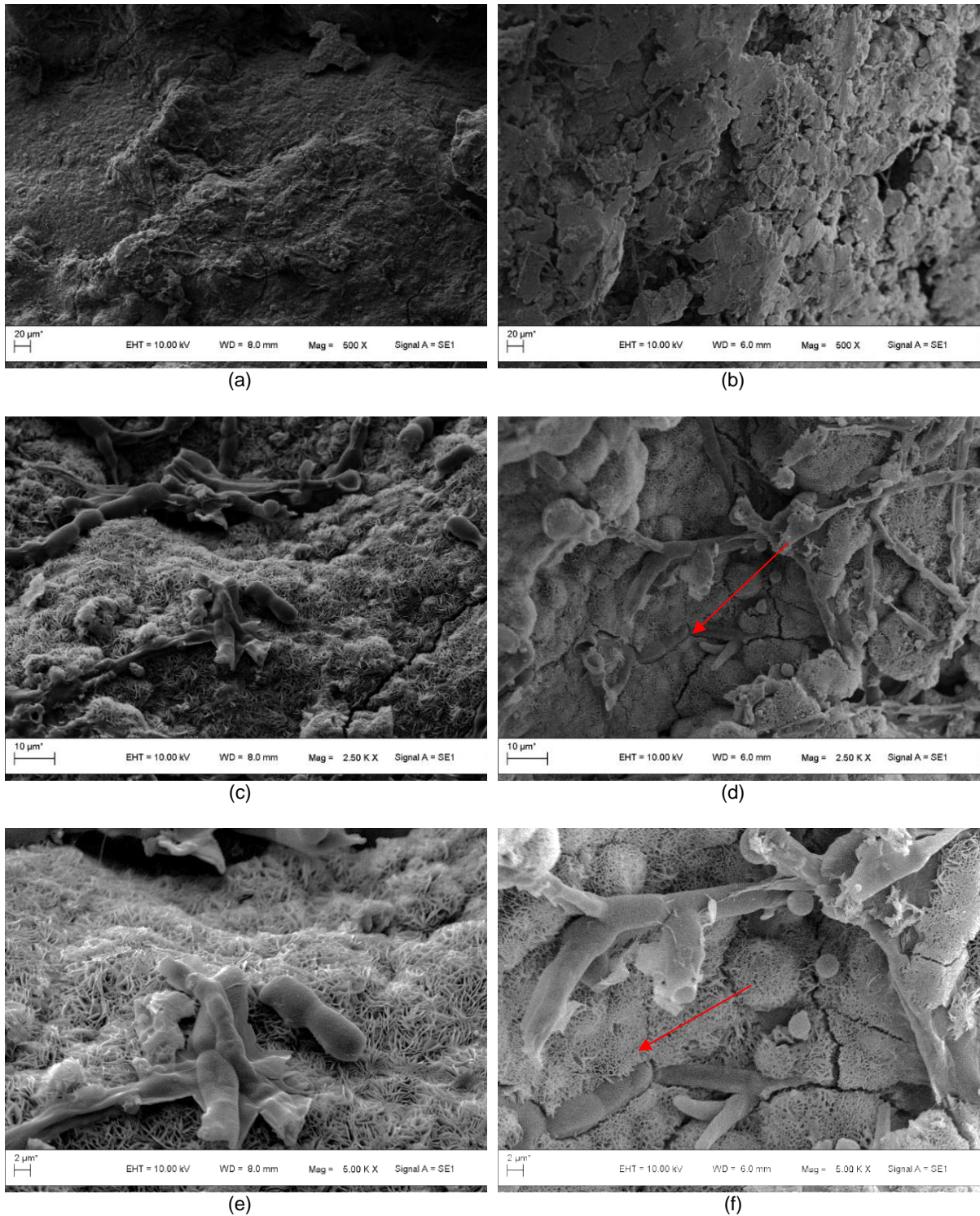
Figura 169 – Isolado 2 (*Purpureocillium lilacinum*) com exposição à luz UVA: a) com TiO₂, magnificação 500x; b) sem TiO₂, magnificação 500x; c) com TiO₂, magnificação 2.500x; d) sem TiO₂, magnificação 2.500x; e) com TiO₂, magnificação 5.000x; f) sem TiO₂, magnificação 5.000x

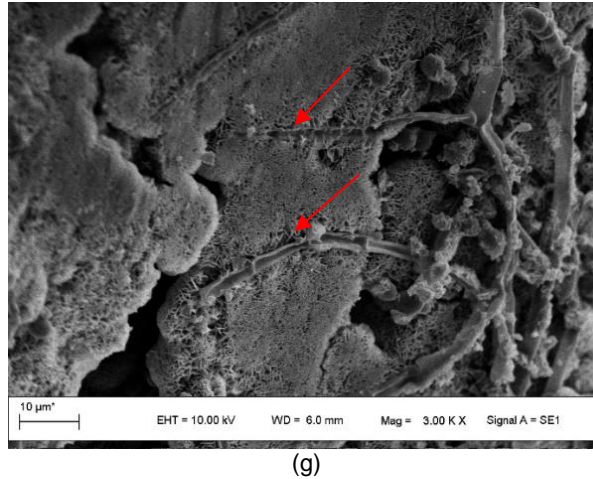


A Figura 170 mostra as imagens para fungo *P. lilacinum*, com e sem TiO₂ e que permaneceram em condição de escuro. Observa-se na Figura 170(d),(f),(g) o desenvolvimento da estrutura fúngica, penetrando a matriz do material, confirmando

o pressuposto de que o crescimento fúngico promove a microfissuração nas superfícies de argamassa, tornando o substrato fragilizado e vulnerável a processos de deterioração mais intensos.

Figura 170 – Isolado 2 (*Purpureocillium lilacinum*) em condição de escuro: a) com TiO₂, magnificação 500x; b) sem TiO₂, magnificação 500x; c) com TiO₂, magnificação 2.500x; d) sem TiO₂, magnificação 2.500x; e) com TiO₂, magnificação 5.000x; f) sem TiO₂, magnificação 5.000x; g) sem TiO₂, magnificação 3.000x

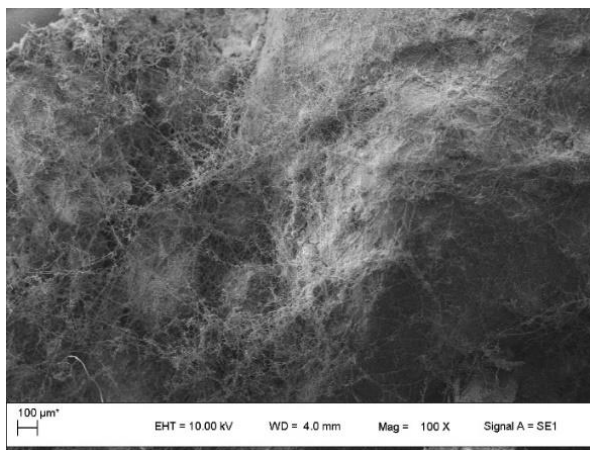




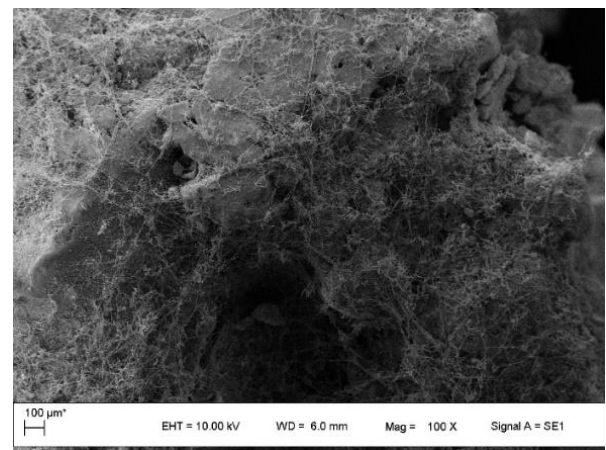
(g)

A Figura 171 mostra as imagens para o consórcio de fungos, com e sem TiO_2 e que permaneceram em condição de exposição à luz UVA. As amostras inoculadas com os cinco fungos do consórcio não apresentavam um manchamento superficial tão evidente à olho nu, principalmente pela coloração das colônias. No entanto, as imagens em MEV revelaram um intenso crescimento das estruturas, envolvendo e penetrando o substrato de argamassa, para ambas as condições, com a produção de possíveis cristais de oxalato, destacado na Figura 171(e), Figura 171(i) .

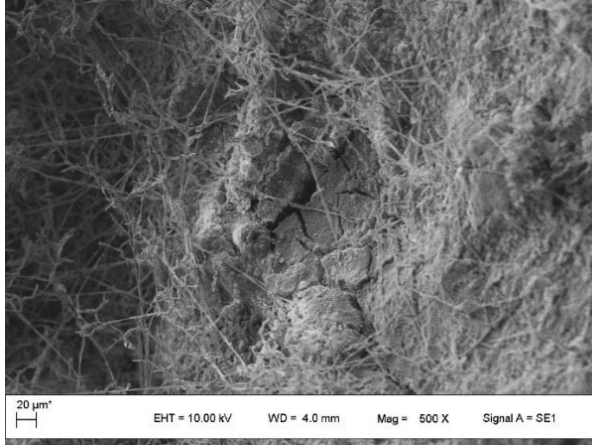
Figura 171 – Consórcio de 5 fungos com exposição à luz UVA: : a) com TiO_2 , magnificação 100x; b) sem TiO_2 , magnificação 100x; c) com TiO_2 , magnificação 500x; d) sem TiO_2 , magnificação 500x; e) com TiO_2 , magnificação 2.500x; f) sem TiO_2 , magnificação 2.500x; g) com TiO_2 , magnificação 5.000x; h) sem TiO_2 , magnificação 5.000x; i) com TiO_2 , magnificação 5.000x; j) sem TiO_2 , magnificação 10.000x



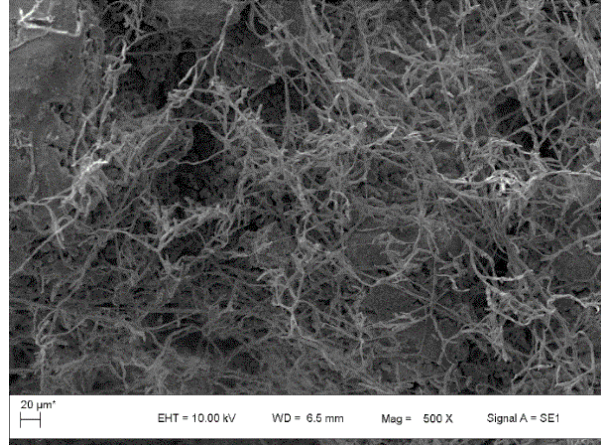
(a)



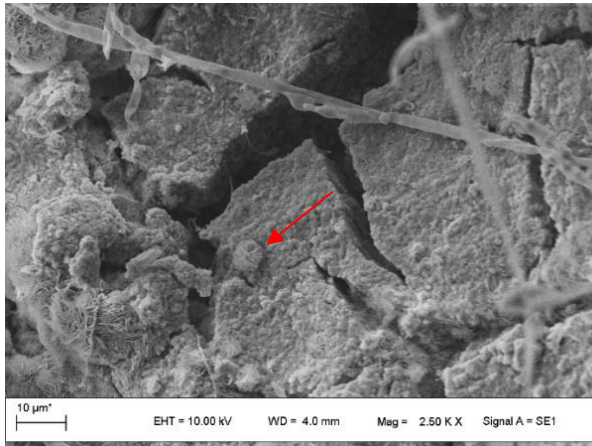
(b)



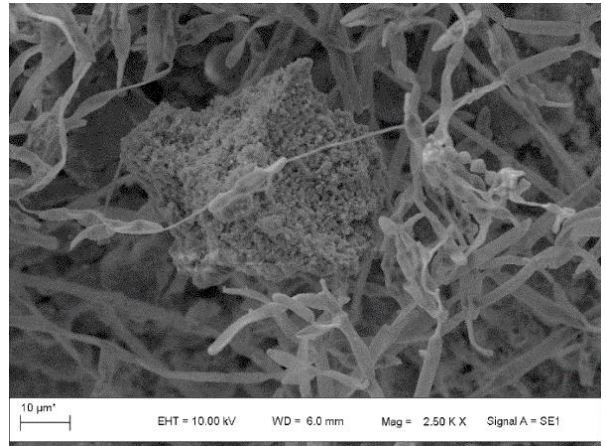
(c)



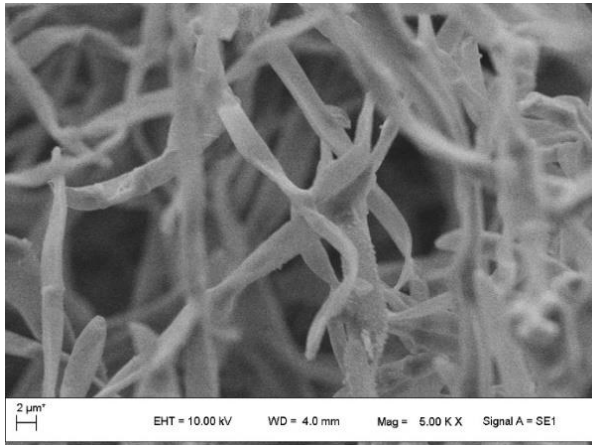
(d)



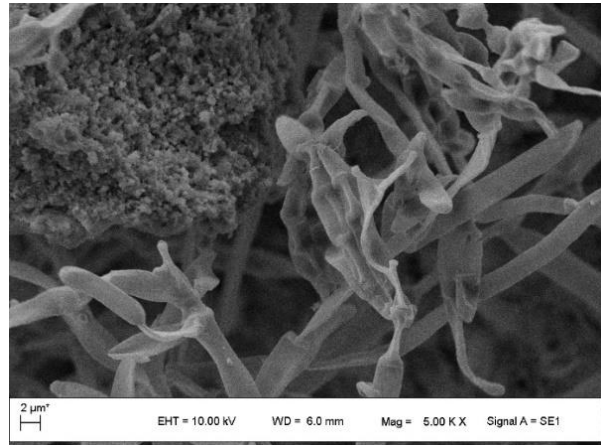
(e)



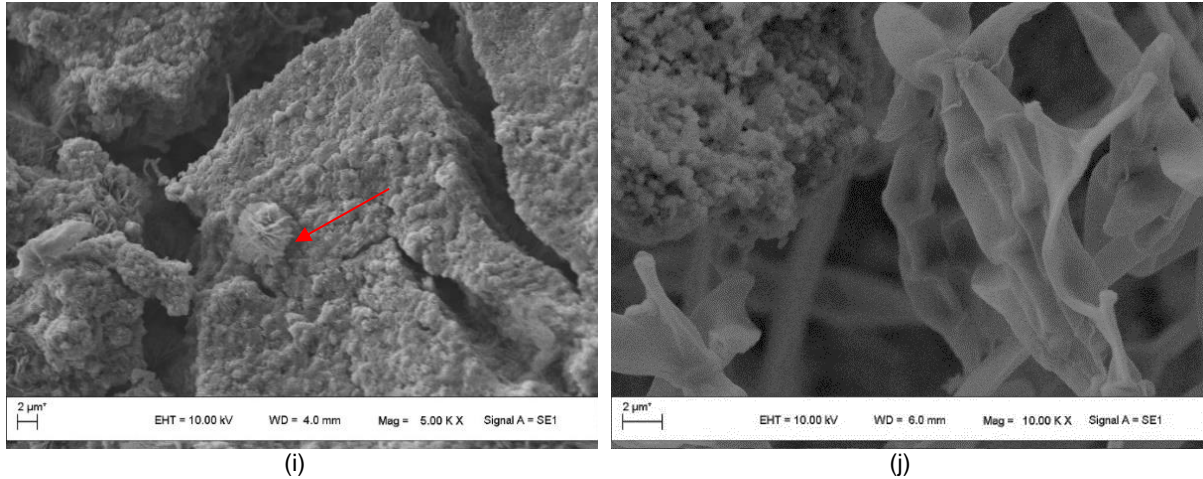
(f)



(g)

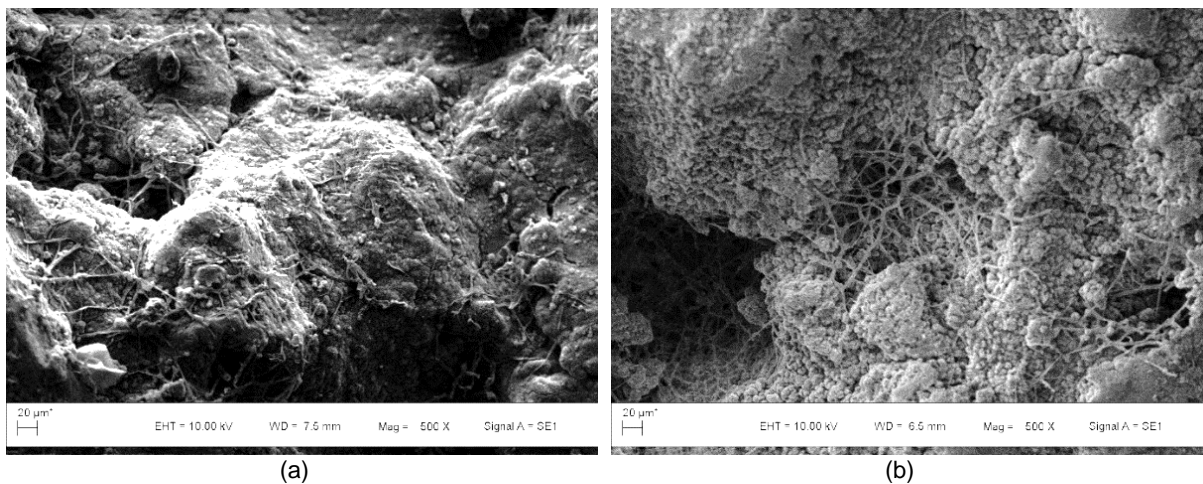


(h)



A Figura 172 mostra as imagens para o consórcio de fungos, com e sem TiO_2 e que permaneceram em condição de escuro. Nas amostras que permaneceram nesta condição, sem exposição à luz UVA, as imagens em MEV revelaram uma intensa produção de estruturas, bastante semelhantes a cristais de oxalato, porém com morfologia diferenciada das observadas nas amostras anteriores. Em Gadd (2014) são mostradas imagens de estruturas semelhantes, produzidas pelo fungo *Serpula himantioides* e *A. niger*, identificadas como oxalatos de zinco (Figura 173).

Figura 172 – Consórcio de 5 fungos em condição de escuro: a) com TiO_2 , magnificação 500x; b) sem TiO_2 , magnificação 500x; c) com TiO_2 , magnificação 2.500x; d) sem TiO_2 , magnificação 2.500x; e) com TiO_2 , magnificação 5.000x; f) sem TiO_2 , magnificação 5.000x; g) sem TiO_2 , magnificação 10.000x



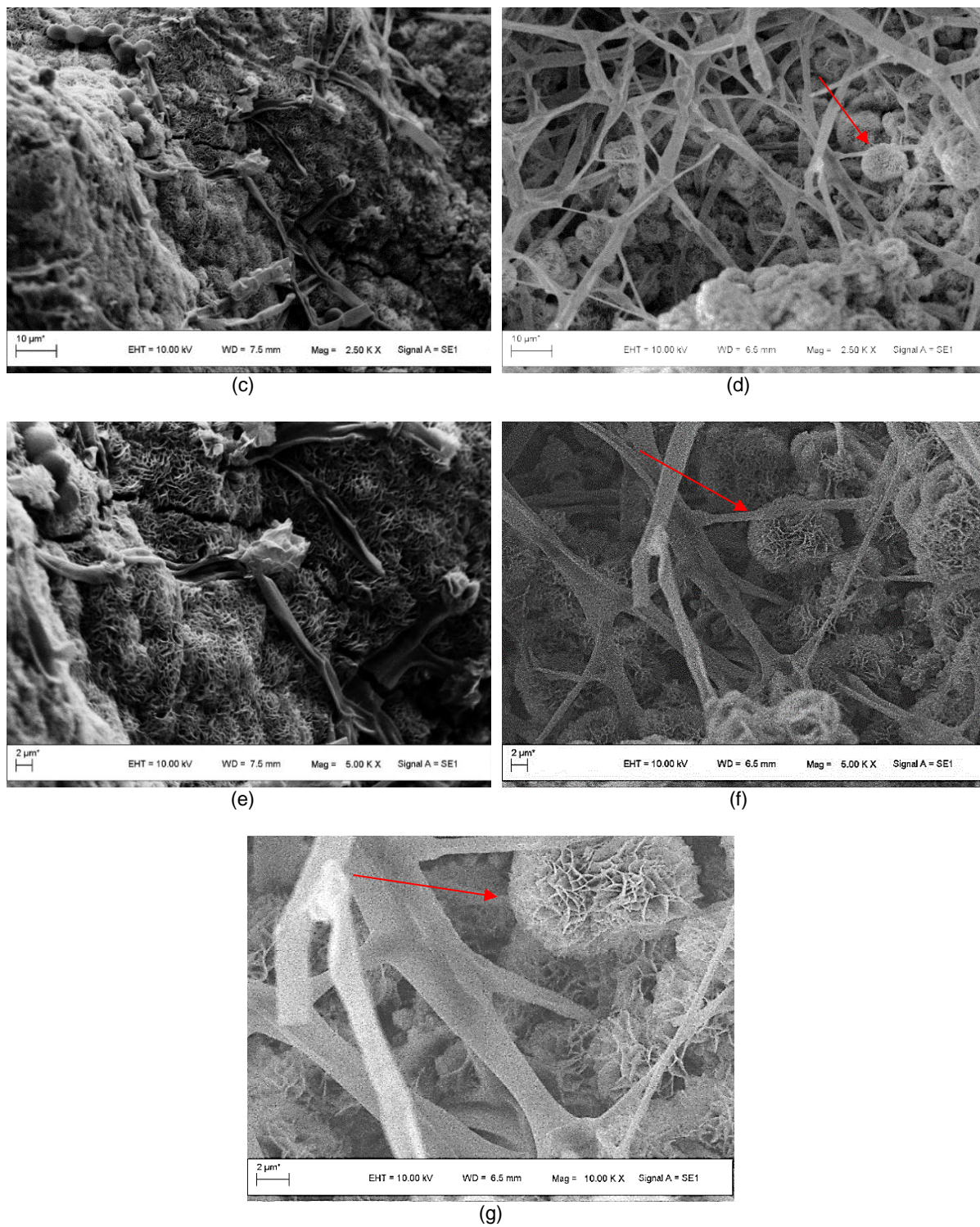
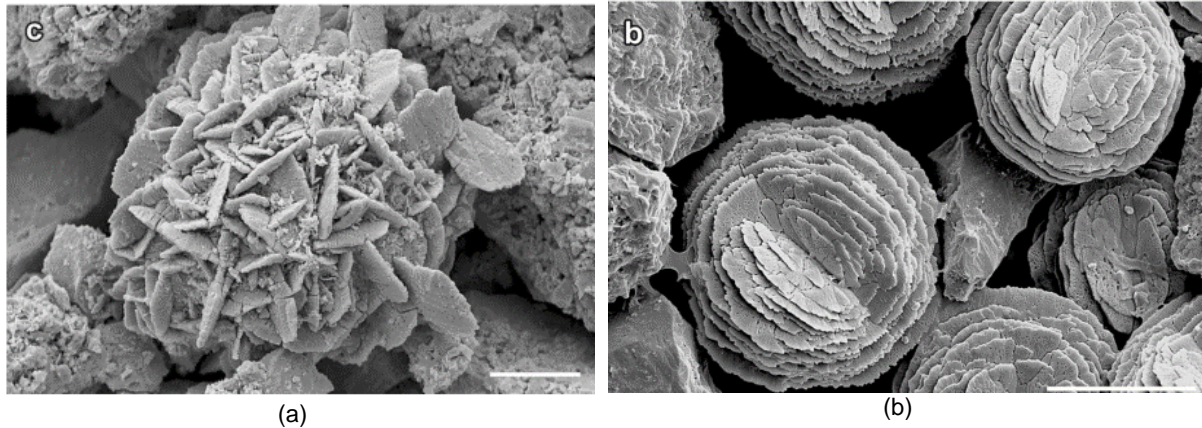


Figura 173 – Cristais de diferentes oxalatos produzidos por fungos: a) oxalato de zinco, produzido pelo fungo *Serpula himantioides*; b) oxalato de zinco produzido por *Aspergillus niger*



Fonte: (GADD *et al.*, 2014)

As análises em MEV, embora em nível qualitativo, e obtidas a partir de pontos específicos do total das amostras, permitiram verificar aspectos importante quanto à interação dos fungos inoculados e a matriz de argamassa. Devido a limitações da pesquisa, não foi possível a realização de espectroscopia de energia dispersiva (EDS), análise que seria interessante para identificação de alterações químicas no substrato analisado, bem como identificação de compostos produzidos pela interação com substâncias resultantes do metabolismo destes microrganismos. Destaca-se, ainda, que seria necessário a obtenção de imagens em mais pontos da amostra, para uma mais precisa representatividade dos aspectos observados.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficiência do fotocatalisador TiO₂ contra fungos filamentosos normalmente encontrados em argamassas típicas de edificações históricas. Com base nas análises realizadas, pretendeu-se colaborar com o estudo destes agentes biológicos, sua interação com substratos de argamassas históricas, bem como avaliar a eficiência de novas formas de tratamento a este tipo de biodeterioração, com a aplicação superficial do TiO₂.

As conclusões apresentadas a seguir, embora alinhadas com aspectos dispostos nos referenciais teóricos, apresentam dados obtidos a partir do planejamento experimental proposto, estando, assim, restritos às delimitações desta pesquisa. Faz-se necessária a execução de novos estudos, com resultados complementares que possam confirmar os aspectos aqui apontados.

4.1 CONCLUSÕES

As análises desenvolvidas a partir da Casa Godoy (Fase 1), monitorada pelo período de 1 ano, apresentou valores médios de UR acima de 70% com temperatura média de 26°C, atingindo por vários períodos do ano de medição taxas acima de 90% UR ou mesmo alcançando a condensação. Este microclima interior, associado a depósitos de sujidade, à porosidade das argamassas de revestimento, bem como características relacionadas à higroscopicidade, composição mineralógica e pH mostraram-se favoráveis ao desenvolvimento de uma considerável diversidade fúngica.

As argamassas de revestimento da edificação históricas estudada são à base de cal calcítica e magnesiana, com areia quartzosa, com traços em massa que variaram de 1:2,4 a 1:5,4 (ligante:agregado), características típicas de edificações do final do século XIX, início do XX, como a edificação analisada.

A caracterização biológica, realizada através da prospecção, isolamento, microcultivo e extração de DNA, permitiu contabilizar cerca de 60 isolados fúngicos, verificados como morfologicamente distintos. Destes, 15 foram contabilizados como os mais frequentes, sendo possível a identificação dos seguintes isolados: *Trichoderma*

harzianum, *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium* sp., *Trichoderma atroviride*, *Purpureocillium lilacinum*, *Acremonium* sp., *Penicillium oxálico*, *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*.

Os fungos identificados são, em sua maioria, largamente mencionados na bibliografia como sendo microrganismos que apresentam diferentes níveis de periculosidade à saúde humana, apresentando riscos de alergias e infecções importantes. Os riscos, associados à exposição a estes microrganismos, ainda são bastante negligenciados no Brasil, onde muitas pessoas permanecem por períodos prolongados ocupando espaços contaminados por fungos, ou mesmo profissionais da área da conservação patrimonial que, muitas vezes, acessam edificações históricas altamente contaminadas, sem tomar devidas medidas de segurança e precaução.

As análises desenvolvidas na fase 2 permitiram avaliar a eficiência do fotocatalisador proposto, o TiO_2 , com relação a dois dos isolados identificados entre os mais frequentes (*Aspergillus niger* e *Purpureocillium lilacinum*), além do consórcio composto por 5 fungos (*Trichoderma atroviride*, *Fusarium*, *Cladosporium* sp., *Cladosporium sphaerospermum* e *Acremonium* sp.) para os substratos de argamassa de composição e propriedades semelhantes àqueles encontrados na Casa Godoy, compostas de cal hidratada e areia quartzosa, com traço em massa 1:4 (cal:areia).

Para o fungo *A. niger*, houve uma diferença significativa entre as leituras iniciais e finais com o espectrofotômetro (principalmente após 4h/dia de luz UVA), com redução da diferença de cor (ΔE) e visível redução do manchamento na superfície de pelo menos duas amostras com o fotocatalisador, onde o crescimento havia sido bastante perceptível. As amostras expostas à luz UVA e sem o fotocatalisador também apresentaram diferença significativa entre as leituras inicial e final, demonstrando haver uma importante influência da luz UVA, incluindo a alteração microclimática no interior do equipamento de ensaio. As amostras com e sem TiO_2 em condição de escuro, não apresentaram diferença significativa entre as leituras.

Para o fungo *P. lilacinum* (Isolado 2), as amostras com TiO_2 e expostas à luz também apresentaram diferença estatisticamente significativa, entre as leituras inicial e final. As amostras que permaneceram expostas à luz e sem a aplicação do TiO_2 , embora tenham apresentado redução na diferença de cor, não apresentaram diferença

significativa. As amostras com e sem aplicação do TiO_2 , mantidas em condição de escuro, apresentaram redução do ΔE , sem diferença significativa entre as leituras.

Para o consórcio de fungos, onde o crescimento resultou em manchamento predominantemente de coloração clara e amarelada, diferente dos fungos anteriores, onde o crescimento foi de coloração escura, verificou-se a diferença significativa entre as medições iniciais e finais tanto para as amostras com e sem o fotocatalisador, nas condições de exposição à luz e em condição de escuro. O manchamento superficial não ocorreu de modo tão evidente a olho nu, contudo, as análises em lupa estereoscópica revelaram um crescimento intenso de micélio fúngico, com um aglomerado de hifas de coloração clara, e, em alguns trechos com crescimento de colônias de coloração escura.

As Tabela 60 e 61 mostram uma síntese esquemática da influência das diferentes configurações quanto à diferença de cor verificada com o espectrofotômetro. A seta verde representa a eficiência na redução do manchamento, com verificação significativa, através da análise estatística. A seta amarela demonstra não ter ocorrido diferença significativa no manchamento para as configurações propostas.

Tabela 60 – Síntese da análise com espectrofotômetro – amostras com TiO_2				Tabela 61 – Síntese da análise com espectrofotômetro – amostras sem TiO_2			
TiO ₂	Luz	<i>A. niger</i>	↑	Luz	<i>A. niger</i>	↑	
	Escuro		↔	Escuro		↔	
	Luz	<i>P. lilacinum</i>	↑	Luz	<i>P. lilacinum</i>	↔	
	Escuro		↔	Escuro		↔	
	Luz	Consórcio	↑	Luz	Consórcio	↑	
	Escuro		↑	Escuro		↑	

As análises em MEV mostraram, para os diferentes isolados analisados, uma forte interação entre o crescimento das estruturas biológicas e a matriz de argamassas, com a penetração das estruturas filamentosas, resultando em fragmentação superficial, em nível microscópico. Observou-se, em várias amostras, a provável produção de cristais de oxalatos, resultantes, provavelmente, da retirada de elementos minerais, como o cálcio presente no carbonato que compõe a matriz da argamassa, evidenciando uma provável alteração de ordem química e física na superfície das amostras, podendo, assim, fragilizar o material, abrindo frente para

outras manifestações patológicas mais importante, principalmente em presença de umidade. No entanto, análises complementares, tais como a associação do MEV com EDS são necessárias para identificação da composição desses cristais.

As análises desenvolvidas previamente, considerando apenas a interação do TiO₂ com isolados de *P. lilacinum*, *A. niger* e *C. sphaerospermum*, através do método da medição dos diâmetros de crescimento das colônias, revelaram que há um comportamento diferenciado entre estes fungos, mesmo quando expostos às mesmas condições de ensaio, interferindo no seu desenvolvimento. Contudo, seria importante a repetição deste ensaio, ajustando aspectos quanto ao método de disposição das colônias nas placas para medição do crescimento.

A análise em isolado da influência da luz UVA para os fungos *Penicillium* e *Cladosporium* também mostraram uma sensível influência da luz UVA, principalmente na esporulação fúngica, ou seja, início do crescimento das colônias, inibindo seu desenvolvimento, quanto maior o tempo de exposição à luz.

O estudo mostrou que o uso do fotocatalisador em amostras de argamassas históricas, com as características propostas, contra fungos filamentosos possui efetividade, principalmente quando expostas à radiação UVA, porém os diferentes fungos analisados apresentaram comportamentos diferentes com relação a diferentes condições de ensaio. O *A. niger* foi o que apresentou uma melhor resposta quanto à redução do manchamento, principalmente na associação TiO₂ e luz UVA (4 horas mínimas diárias de exposição).

O estudo mostrou-se importante por validar métodos de análises tipicamente aplicados às ciências biológicas e que, contudo, são compatíveis e adaptáveis aos estudos das manifestações patológicas em materiais de construção, podendo ser otimizados, resultando em protocolos específicos e viáveis para análises na área da construção.

O estudo comprovou a importância dos danos provocados aos materiais por esses agentes, embora em escala microscópica, fragilizando a superfície dos materiais, tornando-as mais vulneráveis à intensificação dos problemas, por maior acesso a outros agentes de degradação. Verificou-se, portanto, o que já relata a bibliografia,

que a biodeterioração por fungos filamentosos vai além da denominada “sujeidade” ou simples alteração estética.

Verificou-se também a importância que deveria ser direcionada a formulação de normativas que considerassem a qualidade do ar ambiental, expondo usuários a riscos importantes à sua saúde, quando ocupando ou atuando profissionalmente em ambientes contaminados.

5 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros indica-se:

- ampliação da listagem de fungos isolados e identificados a partir de edificações históricas, considerando diferentes períodos, materiais e microclima, entre as diferentes regiões do Brasil;
- aplicação de método molecular que permita a identificação de agentes biológicos não cultiváveis em laboratório, incluindo outros microrganismos, como as bactérias;
- avaliação da toxicidade do TiO_2 , considerando outras concentrações, bem como formas de aplicação ao substrato, sob incidência ou não de luz para outros isolados fúngicos frequentemente identificados em edificações históricas;
- avaliação da influência da irradiação UVA, considerando diferentes tempos de exposição para verificação de sua influência na esporulação e manutenção de diferentes colônias fúngicas;
- aplicação de métodos de análise que permitam a verificação de alterações de ordem químicas nos materiais deteriorados pelo desenvolvimento de fungos filamentosos.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Resolução RE nº9**, janeiro 2003.
- ABDEL HAMEED, A. A.; AYESH, A. M.; MOHAMED, M. A. R.; MAWLA, H. F. A. Fungi and some mycotoxins producing species in the air of soybean and cotton mills: a case study. **Atmospheric Pollution Research**, v. 3, n. 1, p. 126–131, 2012.
- ABE, N.; HAMADA, N. Molecular Characterization and Surfactant Utilization of *Scolecobasidium* Isolates from Detergent-Rich Indoor Environments. **Biocontrol Science**, v. 16, n. 4, p. 139–147, 2011.
- ADAMS, R. I.; MILETTO, M.; TAYLOR, J. W.; BRUNS, T. D. The diversity and distribution of fungi on residential surfaces. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, 2013.
- ADAN, C. G.; SANSOM, R. A. **Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living**. First published. Utrecht, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2011. 527p.
- ALLSOPP, D. SEAL, K.; GAYLARDE, C.; BENTO, F. M.; SHIRAKAWA, M.; SAAD, D. de S. **Introdução à biodeterioração**. Primeira edição. Porto Alegre: UFRGS, 2016.
- ANDERSEN, B.; FRISVAD, J. C.; SØNDERGAARD, IB.; RASMUSSEN, IB. S.; LARSEN, L. S. Associations between fungal species and water-damaged building materials. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 12, p. 4180–4188, 2011.
- ARCARO, S.; NIETO, M. I.; NETO, J. B. R.; OLIVEIRA, A. P. N. de. Al₂O₃ nanoparticulate LZS glass–ceramic matrix composites for production of multilayered materials. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 99, n. 11, p. 3573–3580, 2016.
- ARNOTT, H. J. Calcium oxalate (weddellite) crystals in forest litter. **Scanning Electron Microscopy**, n. pt 3, p. 1141–1149, 1982.
- ARROYO, I. The role of fungi in the deterioration of movable and immovable cultural heritage. **E-Conservation**, 2009. Disponível em: <<http://www.e-conservationline.com/content/view/748>>
- ASCASO, C.; SANCHO, L. G.; RODRIGUEZ-PASCUAL, C. The weathering action of saxicolous lichens in maritime Antarctica. **Polar Biology**, v. 11, n. 1, p. 33–39, 1990.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR NM 23**: Cimento portland e outros materiais em pó - Determinação da massa específica. ABNT: 2001.
- _____ **NBR NM 45**: Agregados - Determinação da massa unitária e do volume de vazios. ABNT: 2006.
- _____ **NBR NM 52**: Agregado miúdo - Determinação da massa específica e massa específica aparente. ABNT: 2009.
- _____ **NBR NM 248**: Agregados - Determinação da composição granulométrica. ABNT: 2003.
- _____ **NBR 7211**: Agregado para concreto - Especificação. ABNT: 1983.

_____ **NBR 13277:** Argamassa para assentamento e revestimento de paredes e tetos - Determinação da retenção de água. ABNT: 2005.

_____ **NBR 13278:** Argamassa para assentamento e revestimento de paredes e tetos - Determinação da densidade de massa e teor de ar incorporado. ABNT: 2005.

_____ **NBR 13279:** Argamassa para assentamento e revestimento de paredes - Determinação da resistência à tração na flexão e à compressão. ABNT: 2005.

_____ **NBR 13280:** Densidade de massa de argamassa no estado endurecido. ABNT: 2005.

_____ **NBR 14941:** Tintas para construção civil – Método para avaliação de desempenho de tintas para edificações não industriais – Determinação da resistência de tintas, vernizes e complementos ao crescimento de fungos em placas de Petri sem lixiviação. ABNT: 2011

_____ **NBR 15259:** Argamassa para assentamento e revestimento de paredes e tetos - Determinação da absorção de água por capilaridade e do coeficiente de capilaridade. ABNT: 2005.

_____ **NBR 15630:** Argamassa para assentamento e revestimento de paredes - Determinação do módulo de elasticidade dinâmico através da propagação de onda ultrassônica. ABNT: 2008.

ANTONIOLLI, I. Z.; KAMINSKI, J. Micorrizas - revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v. 21, n.3, 1991.

ASTM International **D3273 - 12:** Standard Test Method for Resistance to Growth of Mold on the Surface of Interior Coatings in an Environmental Chamber.

AUSTRIA, G. **Argamassa autolimpante para revestimento de fachadas: o efeito das propriedades fotocatalíticas do dióxido de titânio (TiO₂).** 2015, 174p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Núcleo Orientado para Inovação da Edificação (NORIE) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2015.

BAÍA, L. L. M.; SABBATINI, F. H. **Projeto e execução de revestimento de argamassa.** 4. ed. São Paulo: O Nome da Rosa, 2008.

BARBERIO, M.; VELTRI, S.; IMBROGNO, A.; STRANGES, F.; BONANNO, A.; ANTICI, P. TiO₂ and SiO₂ nanoparticles film for cultural heritage: Conservation and consolidation of ceramic artifacts. **Surface and Coatings Technology**, v. 271, p. 174–180, 2015.

BARRIONUEVO, M. R. E. **Biodeterioração produzida por biofilmes de fungos e cianobactérias nas ruínas jesuíticas das missões e avaliação do seu controle.** 2004, 125p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BEATO SOBRINHO, M. M. **Estudo da Ocorrência de Fungos e da Permeabilidade em Revestimentos de Argamassa em Habitações de Interesse Social - Estudo de caso na Cidade de Pitangueira/SP.** p. 89, 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2008.

BERGAMONTI, L.; PAZ, Y.; PREDIERI, G.; FORNASINI, L. Enhanced self-cleaning properties of N-doped TiO₂ coating for Cultural Heritage. **Microchemical Journal**, v. 133, n.

November, p. 1–12, 2017.

BERTOLINI, Luca. **Materiais de construção: patologia, reabilitação, prevenção**. Trad. Leda Maria Marques Dias Beck. São Paulo: Oficina de textos, 2010. Título original: *Materiali da costruzione*, V. 2: degrado, prevenzione, diagnosi, restauro.

BIRKBY, K.; PREECE, T. Calcium oxalate crystals on the sporangium of *Pilobolus*. **Mycotechnology, Leeds**, v. 2, n. 2, p. 68–69, 1988.

BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **IMA Fungus**, v. 6, n. 2, p. 263–295, 2015.

BJELLAND, T. The occurrence of biomineralization products in four lichen species growing on sandstone in western Norway. **The Lichenologist**, v. 34, n. 5, p. 429–440, 2002.

BOGOMOLOVA, E.; KIRTSIDELI, I. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 2, p. 156–160, 2009.

BURFORD, E.R., FOMINA, M.; GADD, G. M. Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals. **Mineralogical Magazine**. V.67, issue 6, p. 1127–115, december 2003.

CANEVA, G.; NUGARI, M. P.; SALVADORI, O. **La biología en la restauración**. Traducción de Rosalía Gómez. 2 ed. Sevilla: NEREA, 2000. 274p.

CAPPITELLI, F.; PRINCIPI, P.; PEDRAZZANI, R.; TONIOLO, L.; SORLINI, C. Bacterial and fungal deterioration of the Milan Cathedral marble treated with protective synthetic resins. **Science of Total Environment**, v. 385, p. 172–181, 2007.

CARASEK, H. **Argamassas**. In: ISAIA, G.C. (Org.). *Materiais de Construção Civil e Princípios de Ciência e Engenharia de Materiais*. São Paulo: IBRACON, 2007. 2v. Cap. 26. p. 863–904

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - **CETESB** - NORMA TÉCNICA L5.201: Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio. São Paulo, jan. 2006.

CHEN, F.; YANG, X.; WU, Q. Antifungal capability of TiO₂ coated film on moist wood. **Building and Environment**, v. 44, n. 5, p. 1088–1093, 2009.

CHEONG, K. K.; STRUB, C.; MONTET, D.; DURAND, N.; ALTER, P.; MEILE, J.C.; SCHORR GALLINDO, S.; FONTANA, A.. Effect of different light wavelengths on the growth and ochratoxin A production in *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus westerdijkiae*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 5, p. 745–751, 2016.

CHIRIFE, J.; FONTANA JR., A. J. **Introduction: Historical Highlights of Water Activity Research**. In: *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. IFT Press. Blackwell Publishing, USA, 2007.

CINCOTTO, M. A. Conceitos básicos e tecnologia da cal. In: V REUNIÃO ABERTA DA INDÚSTRIA DA CAL. 1985, São Paulo. **Anais...**São Paulo: ABPC, 1985.

CINCOTTO, M. A.; QUARCIONE, V. A.; JOHN, V.M. In: ISAIA, G.C. (Org.). **Materiais de Construção Civil e Princípios de Ciência e Engenharia de Materiais**. São Paulo: IBRACON, 2007. 2v. Cap. 22.1. p. 696–724. São Paulo, 2007.

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-

- SCOTT, H. M. Microbial Biofilms. **Annual review of microbiology**, v. 49, p. 711–745, 1995.
- CRISPIM, C. A. **Identificação de cianobactérias em biofilmes de superfícies externas de prédios históricos: análise morfológica e molecular**. 2003, 114p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.
- CRISPIM, C. A.; GAYLARDE, P. M.; GAYLARDE, C. C. Algal and Cyanobacterial Biofilms on Calcareous Historic Buildings. **Current Microbiology**, v. 46, p. 79–82, 2003.
- DA COSTA, L. M.; TRONTO, J.; REGINA, V.; CONSTANTINO, L.; FONSECA, M. K. A.; OLIVEIRA, A. O.; COSTA, M. R. DA. Extraction and Concentration of Biogenic. **Brazilian Society of Soil Science**, n. 33, p. 729–733, 2009.
- DAL MOLIN, D. C. C. Técnicas experimentais para estudo da microestrutura. In: ISAIA, G.C. (Org.). **Materiais de Construção Civil e Princípios de Ciência e Engenharia de Materiais**. São Paulo: IBRACON, 2007. 2v. Cap. 14. p. 403-436.
- DE FILPO, G.; PALERMO, A. M.; RACHIELE, F. Preventing fungal growth in wood by titanium dioxide nanoparticles. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 217–222, 2013.
- DE LA TORRE, M. A.; GOMEZ-ALARCON, G.; MELGAREJO, P.; SAIZ-JIMENEZ, C. Fungi in weathered sandstone from Salamanca cathedral, Spain. **Science of the Total Environment**, v. 107, n. C, p. 159–168, 1991.
- DEI, L.; SALVADORI, B. Nanotechnology in cultural heritage conservation: nanometric slaked lime saves architectonic and artistic surfaces from decay. **Journal of Cultural Heritage**, v. 7, n. 2, p. 110–115, abr. 2006.
- DI SIMONI, I. **Nanomateriali per il restauro architettonico: stato dell'arte e prospettive**. 2012, 187p. Tesi di Laurea (Ingegneria Edile-Architettura). Chimica e Tecnologia del Restauro e della Conservazione dei materiali. Facoltà di Ingegneria. Alma Mater Studiorum Università di Bologna. 2012.
- DOGGET, M. S. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. **Applied and Environment Microbiology**. V. 66 (3), mar 2000.
- DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 15, n. 2, p. 167–19, 2002.
- ERKAN, A.; BAKIR, U.; KARAKAS, G. Photocatalytic microbial inactivation over Pd doped SnO₂ and TiO₂ thin films. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 184, n. 3, p. 313–321, 2006.
- ETTENAUER, J.; PIÑAR, G.; TAFER, H.; STERFLINGER, K. Quantification of fungal abundance on cultural heritage using real time PCR targeting the B-actin gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. MAY, p. 1–8, 2014.
- ETTENAUER, J. D.; PIÑAR, G.; LOPANDIC, K.; SPANGL, B.; ELLERSDORFER, G.; VOITL, C.; STERFLINGER, K. Microbes on building materials - Evaluation of DNA extraction protocols as common basis for molecular analysis. **Science of the Total Environment**, v. 439, p. 44-53, 2012.
- FELTRIN, J.; SARTOR, M. N.; NONI, A. de, BERNARDIN, A. M.; HOTZA, D.; LABRINCHA, J. A. Superfícies fotocatalíticas de titânia em substratos cerâmicos: Parte I: Síntese,

estrutura e fotoatividade. **Cerâmica**, v. 59, p. 620–632, 2013.

FIORETTI, G. **Avaliação de desempenho de hidrofugantes para revestimentos pétreos quanto à permeabilidade e alteração de cor**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

FONSECA, A. J.; PINA, F.; MACEDO, M. F.; LEAL, N.; ROMANOWSKA-DESKINS, A.; LAIZ, L.; GÓMEZ-BOLEA, A.; SAIZ-JIMENEZ, C. Anatase as an alternative application for preventing biodeterioration of mortars: Evaluation and comparison with other biocides. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, n. 5, p. 388–396, 2010.

FONSECA, A.J.M.D. **Avaliação da eficácia de tratamentos convencionais e aplicações alternativas para prevenir a biodeterioração em patrimônio cultural**. Dissertação (Mestrado em Conservação e Restauro) – Departamento de Conservação e Restauro, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Monte da Caparica, 2009.

FONSECA, D. B. **Práticas de Análise e de Intervenção em Conservação e Restauro de Bens Culturais** (Universidade Federal de Pelotas - ICH, Ed.) Anais do IV SIMP: Memória, patrimônio e tradição. **Anais...Pelotas**: 2011

FOSTER, H. A.; DITTA, I. B.; VARGHESE, S.; STEELE, A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: Spectrum and mechanism of antimicrobial activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 6, p. 1847–1868, 2011.

FRANZONI, E.; FREGNI, A.; GABRIELLI, R.; GRAZIANI, G.; SASSONI, E. Compatibility of photocatalytic TiO₂-based finishing for renders in architectural restoration: A preliminary study. **Building and Environment**, v. 80, p. 125–135, 2014.

FRANZONI, I. E. Sperimentazioni in corso : nuovi sistemi consolidanti e protettivi ecosostenibili. 2014.

FREITAS, V. P.; TORRES, M. I.; GUIMARÃES, A. S. **Humidade Ascensional**, Gráfica Maiadouro S. A. FEUP, Porto, 2008.

FUJISHIMA, A.; ZHANG, X.; TRYK, D. A. TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. **Surface Science Reports**, v. 63, n. 12, p. 515–582, 2008.

GADD, G. M. Metals, minerals and microbes: Geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, v. 156, n. 3, p. 609–643, 2010.

GADD, G. M.; BAHRI-ESFAHANI, J.; LI, Q.; RHEE, Y. J.; WEI, Z.; FOMINA, M.; LIANG, X. Oxalate production by fungi: Significance in geomycology, biodeterioration and bioremediation. **Fungal Biology Reviews**, v. 28, n. 2–3, p. 36–55, 2014.

GARCÍA-CELA, E.; MARIN, S.; SANCHIS, V.; CRESPO-SEMPERE, A.; RAMOS, A.J. Effect of ultraviolet radiation A and B on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus parasiticus* in grape and pistachio media. **Fungal Biology**, v. 119, n. 1, p. 67–78, 2015.

GARETH JONES, E. B. Fungal adhesion. **Microbiological Research**, v. 98, p. 961–981, 1994.

GARG, K. L.; JAIN, K. K.; MISHRA, A. K. Role of fungi in the deterioration of wall paintings. **Science of the Total Environment**, v. 167, n. 1–3, p. 255–271, 1995.

GAYLARDE, P. M.; GAYLARDE, C. C. Algae and cyanobacteria on painted surfaces in southern Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 209-213, 1999.

GAYLARDE, C. C.; GAYLARDE, P. M. Biodeterioration of historic buildings in Latin America. **Proceedings of the 9th International Conference on Durability of Materials and Components**, v. 2, p. 171/1-171/9, 2002.

GAYLARDE, C. C.; GAYLARDE, P. M. A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 55, p. 131–139, 2005.

GAYLARDE, C.; OTLEWSKA, A.; CELIKKOL-AYDIN, S.; SKÓRA, J.; SULYOK, M.; PIELECH-PRZYBYLSKA, K.; GILLATT, J.; BEECH, I.; GUTAROWSKA, B. Interactions between fungi of standard paint test method BS3900. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 104, p. 411–418, 2015.

GAYLARDE, C. C.; MORTON, L. H. G.; SHIRAKAWA, M. A.. Biodeterioration of external architectural paint films - A review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 8, p. 1189–1198, 2011.

GAYLARDE, C.; RIBAS SILVA, M.; WARSCHEID, T. Microbial impact on building materials: an overview. **Materials and Structures**, v. 36, n. 5, p. 342–352, 2003.

GHERARDI, F.; COLOMBO, A.; GOIDANICH, S.; SIMONUTTI, R.; TONIOLO, L. **Innovative Nano-TiO₂ Particles for Self-cleaning Treatments of Historic Architecture and Sculptures**. 7 th International Conference on Water Repellent Treatment and Protective Surface Technology for Building Materials. **Anais...**2014.

GIANNANTONIO, D., J.; KURTH, J.C.; KURTIS, K. E.; SOBECKY, P. A. Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, 252-259, 2009.

GIORDANI, C. **Influência da cal hidratada no comportamento de argamassas mistas**. 2017, 201p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Núcleo Orientado para Inovação da Edificação (NORIE) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2017.

GOFFREDO, G. B.; ACCORONI, S.; TOTTI, C.; ROMAGNOLI, T.; VALENTINI, L.; MUNAFÒ, P. Titanium dioxide based nanotreatments to inhibit microalgal fouling on building stones surfaces. **Building and Environment**, 2016.

GÓMEZ-ORTIZ, N.; ROSA-GARCÍA, S. DE LA; GONZÁLEZ-GÓMEZ, W.; SORIA-CASTRO, M.; QUINTANA, P.; OSKAM, G.; ORTEGA-MORALES, B. Antifungal coatings based on Ca(OH)₂ mixed with ZnO/TiO₂ nanomaterials for protection of limestone. **Applied Materials & Interfaces**, v. 5, p. 1556–1565, 2013.

GORBUSHINA, A. A.; HEYRMAN, J.; DORNIEDEN, T.; GONZALEZ-DELVALLE, M.; KRUMBEIN, W. E.; LAIZ, L.; PETERSEN, K.; SAIZ-JIMENEZ, C.; SWINGS, J. Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins Church (Greene-Kreiensen, Germany). **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 53, n. 1, p. 13–24, 2004.

GÓRNY, R. L. Filamentous microorganisms and their fragments in indoors air - a review. **Ann Agric Environ Med**, v. 11, p. 185–197, 2004.

GU, J. D.; FORD, E.; BERKE, N. S.; MITCHELL, R. Biodeterioration of concrete by the fungus *Fusarium*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 41, n. 2, p. 101–

109, 1998.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, H. G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 206–213, 2007.

GUERRA, F. L. **Biodeterioração de conjunto histórico do século XIX em Pelotas / RS : fungos filamentosos**. 2012, 169p. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Urbanismo) Faculdade de Arquitetura e Urbanismo da Universidade Federal de Pelotas, 2012.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. **Building and Environment**, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, 2007.

GUTAROWSKA, B.; SKORA, J.; ZDUNIAK, K.; REMBISZ, D. Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 68, p. 7–17, mar. 2012.

HALEEM KHAN, A. A.; MOHAN KARUPPAYIL, S. Fungal pollution of indoor environments and its management. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 4, p. 405–426, 2012.

HAMADA, N.; ABE, N. Comparison of fungi found in bathrooms and sinks. **Biocontrol science**, v. 15, 51-56, 2010.

HARDING, M. W.; MARQUES, L. L. R.; HOWARD, R.; OLSON, M. E. Can filamentous fungi form biofilms? **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 11, p. 475–480, 2009.

HE, Y.; LUO, Q.; GE, P.; CHEN, G.; WANG, H. Review on Mould Contamination and Hygrothermal Effect in Indoor Environment. **Journal of Environmental Protection**. v. 9, p. 100–110, 2018.

HOLMBERG, J. P.; AHLBERG, E.; BERGENHOLTZ, J.; HASSELLÖV, M.; ABBAS, Z. Surface charge and interfacial potential of titanium dioxide nanoparticles: Experimental and theoretical investigations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 407, p. 168–176, 2013.

HORNER, H. T.; TIFFANY, L. H.; KNAPHUS, G. Oak-Leaf-Litter Rhizomorphs from Iowa and Texas: calcium Oxalate Producers. **Mycologia**, v. 87, n. 1, p. 34–40, 1995.

HORRE, R. and de HOOG, G.S. Primarycerebral infections bymelanized fungi: a review. **Studies in Mycology**, v. 43, P.176-193, 1999.

JOHANSSON, P.; EKSTRAND-TOBIN, A.; SVENSSON, T.; BOK, G. Laboratory study to determine the critical moisture level for mould growth on building materials. **International Biodeterioration &**, v. 73, p. 23–32, 2012.

JOHANSSON, P.; SVENSSON, T.; EKSTRAND-TOBIN, A. Validation of critical moisture conditions for mould growth on building materials. **Building and Environment**, v. 62, p. 201–209, 2013.

JONES, D.; MC HARDY, W.J.; WILSON, M.J.; VAUGHAN, D. Scanning electron microscopy of calcium oxalate on mantle hyphae of hybrid larch roots from a farm forestry experimental site. **Micron and Microscopia Acta**, v. 23, n. 3, p. 315–317, 1992.

JONES, E. B. G. Fungal adhesion. **Mycological Research**, v. 98, n. 9, p. 961–981, 1994.

KANAN, M. I. **Manual de conservação e intervenção em argamassas e revestimentos à base de cal**. Programa Monumenta, Cadernos Técnicos, 8. 172p. Brasília, 2008.

KARBOWSKA-BERENT, J.; GÓRNY, R. L.; STRZELCZYK, A. B.; WLAZLO, A. Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. **Building and Environment**, v. 46, n. 10, p. 1872–1879, out. 2011.

KIEL, G. U. **Diversidade bacteriana em biofilmes de superfícies externas de prédios históricos na cidade de Porto Alegre**. 2005, 90p. . Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

KOBURGER, T.; BELOW, H.; KRAMER, A. Decontamination of room air adjoining wall surfaces by nebulizing hydrogen peroxide. **GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär**, v. 6(1), p. 1-11, 2011.

KSONTINI, H.; KACHOURI, F.; EL ABED, S.; KORAICHI, S. I.; MEFTAH, H.; LATRACHE, H.; HAMDY, M. Dairy biofilm: An investigation of the impact on the surface chemistry of two materials: Silicone and stainless steel. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 27, n. 7, p. 783–793, 2013.

KURTH, J. C. **Mitigating Biofilm Growth Through the Modification of Concrete Design and Practice**. 2008, 234p. Thesis (Master of Science in Civil Engineering) - School of Civil & Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, 2008.

LA RUSSA, M. F.; RUFFOLO, S. A.; ROVELLA, N.; BELFIORE, C. M.; PALERMO, A. M.; GUZZI, M. Y.; CRISCI, G. M. Multifunctional TiO₂ coatings for Cultural Heritage. **Progress in Organic Coatings**, v. 74, n. 1, p. 186–191, 2012.

LA RUSSA, M. F.; MACCHIA, A.; RUFFOLO, S. A.; DE LEO, F.; BARBERIO, M.; BARONE, P.; CRISCI, G.; URZÌ, C. Testing the antibacterial activity of doped TiO₂ for preventing biodeterioration of cultural heritage building materials. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 96, p. 87–96, 2014.

LAPEYRIE, F. Oxalate synthesis from soil bicarbonate by the mycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. **Plant and Soil**, v. 110, n. 1, p. 3–8, 1988.

LECH, T.; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA, A.; KRUPA, N. Analysis of microflora present on historical textiles with the use of molecular techniques. **International Journal of Conservation Science**, v. 6, n. 2, p. 137–144, 2015.

LERSCH, I. M. **Contribuição Para a Identificação Dos Principais Fatores E Mecanismos De Degradação Em Edificações Do Patrimônio Cultural De Porto Alegre**. 2003, p.180. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003.

LEWIS, G. N.; RANDALL, M. **Thermodynamics**. 2 ed. Michigan: McGraw Hill, 1961. 723p.

LI, Q. ZHANG, B.; HE, Z.; YANG, X. Distribution and Diversity of Bacteria and Fungi Colonization in Stone Monuments Analyzed by High-Throughput Sequencing. **PLOS one**. v. 22, p. 1–17, 2016.

LIU, G. LI, G.; QIU, X.; LI, L. Synthesis of ZnO/titanate nanocomposites with highly photocatalytic activity under visible light irradiation. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 481, n. 1-2, p. 492–497, 2009.

LOMBARDI, S. **Umidita' nelle murature : diagnosi e recupero**. 2005, 685p. Dottorato Interpolo (Conservazione Integrata dei Beni Culturali ed Ambientali) - Universita' degli Studi di Napoli "Federico II", 2005.

LONGO, V. M.; PICON, F.; ZAMPERINI, C.; ALBUQUERQUE, A.; SAMBRANO, J. R.; VERGANI, C. E.; MACHADO, A. L.; ANDRÉS, J.; HERNANDES, A. C.; VARELA, J. A.; LONGO, E. Experimental and theoretical approach of nanocrystalline TiO₂ with antifungal activity. **Chemical Physics Letters**, v. 577, p. 114–120, 2013.

LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; VAN DOORN, T.; HONG, S. B.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 321, n. 2, p. 141–149, 2011.

LUCAS, S. S.; FERREIRA, V. M.; DE AGUIAR, J. L. B. Incorporation of titanium dioxide nanoparticles in mortars — Influence of microstructure in the hardened state properties and photocatalytic activity. **Cement and Concrete Research**, v. 43, p. 112–120, jan. 2013.

MANSO, S.; CALVO-TORRAS, M. A.; DE BELIE, N.; SEGURA, I.; AGUADO, A. Evaluation of natural colonisation of cementitious materials: Effect of bioreceptivity and environmental conditions. **Science of the Total Environment**, v. 512–513, p. 444–453, 2015.

MANSUROV, R. R.; SAFRONO, A. P.; SAMATOV, O. M.; BEKETOV, I. V.; MEDVEDEV, A. I.; LAKIZA, N. V. Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide Nanoparticles Produced by Methods of High-Energy Physical Dispersion. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 90, n. 2, p. 179–185, 2017.

MARKOWSKA-SZCZUPAK, A.; WANG, K.; ROKICKA, P.; ENDO, M.; WEI, Z.; OHTANI, B.; MORAWSKI, A. W.; KOWALSKA, E. The effect of anatase and rutile crystallites isolated from titania P25 photocatalyst on growth of selected mould fungi. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 151, p. 54–62, 2015.

MARQUES, S. **Estudo de Argamassas de Reabilitação de Edifícios Antigos**. 2005, 154p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro, 2005.

MASUERO, A.; DAL MOLIN, D.C.C.; SCHRANK, A.; GREVEN, H.A.; VAINSTEIN, M.; JUNGES, A.; GUERRA, F. L.; SBARAINI, N.; AUSTRIA, G.; TREVISIO, J. P. M.; GIORDANI, C.; VIAPIANA, C.; SASSO, H.; BERSH, J.; HARTMANN, M.; FREITAS, A.; VIEIRA, G. Dióxido de titânio (TiO₂): nanomaterial inovador para promover a autolimpeza de fachadas expostas ao microclima urbano e evitar a biodeterioração em prédios históricos.

SINDUSCON PREMIUM 2017/2018. Porto Alegre, RS. 2017. Disponível em: http://www.sinduscon-rs.com.br/premium2017/assets/uploads/UFRGS_3_concluido_-_corrigida_final.pdf. Acesso em: 18 de set 2018.

MATSUNAGA, T.; TOMODA, R.; NAKAJIMA, T.; WAKE, H. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. **FEMS Microbiology Letters**, v. 29, 1-2, 1985.

MIHAJLOVSKI, A.; SEYER, D.; BENAMARA, H.; BOUSTA, F.; DI MARTINO, P. An overview of techniques for the characterization and quantification of microbial colonization on stone monuments. **Annals of Microbiology**, 2014.

MICHAELSEN, A.; PINZARI, F.; BARBABIETOLA, N.; PIÑAR, G. Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 84, p. 333-341, 2013.

MULLIS, B. The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. **Scientific American**,

April, 1990.

MUNAFÒ, P.; QUAGLIARINI, E.; GOFFREDO, G. B.; BONDIOLI, F.; LICCIULLI, A. Durability of nano-engineered TiO₂ self-cleaning treatments on limestone. **Construction and Building Materials**, v. 65, p. 218–231, 2014.

MUNAFÒ, P.; GOFFREDO, G. B.; QUAGLIARINI, E. TiO₂-based nanocoatings for preserving architectural stone surfaces: An overview. **Construction and Building Materials**, v. 84, p. 201–218, 2015.

NG, D. H. P.; KUMAR, A.; CAO, B. Microorganisms meet solid minerals: interactions and biotechnological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 16, p. 6935–6946, 2016.

NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M. PCR em tempo real. **Cycle**, ed.33, p. 10–13, 2004.

OHAMA, Y.; VAN GEMERT, D. Introdução. In: **Application of Titanium Dioxide Photocatalysis to Construction Materials**. State-of-Art Report of the RILEM Technical Committee 194-TDP, Springer Dordrecht Heilderberg London New York, 2011.

OLGYAY, V. **Arquitectura y clima: manual de diseño para arquitectos y urbanistas**. Barcelona: Gustavo Gili, 2008. 203p.

OSMAN, M.; ELSAYED, M. A.; MOHAMED, Y. A. H.; ABO-ZEID, A. M. Effect of ultraviolet irradiation on germination and growth in *Aspergillus flavus* and *Penicillium notatum*. **Mycological Research**, v. 92, n. 3, p. 293–296, 1989.

OYARBIDE, F.; OSTERRIETH, M. L.; CABELLO, M. *Trichoderma koningii* as a biomineralizing fungous agent of calcium oxalate crystals in typical Argiudolls of the Los Padres Lake natural reserve (Buenos Aires, Argentina). **Microbiological Research**, v. 156, n. 2, p. 113–119, 2001.

ORTEGA-MORALES, B.; NAKAMURA, G.; MONTEJANO-ZURITA, G. The biodeterioration of stone: a review of deterioration mechanisms, conservation case histories, and treatment. **African Journal of Biotchnology**, v.1, p.343-368, 2013.

PAOLETTI, D.; AMBROSINI, D.; SFARRA, S.; BISEGNA, F. Preventive thermographic diagnosis of historical buildings for consolidation. **Journal of Cultural Heritage**, v. 14, n. 2, p. 116–121, 2013.

PARAMÉS, J. R. R. **Nanotecnologia na Indústria da Construção**. 2008, 160 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa, 2008.

PEREIRA, L. M. **Avaliação das Patologias e da Biodeterioração na Biblioteca Central da UFSM**. 2012, 126p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental). Centro de Tecnologia da Universidade Federal de santa Maria, 2012.

PEVSNER, Nikolaus. **Academias de arte: Passado e presente**. Tradução: Vera Maria Pereira; coordenação: Sérgio Micelli. São Paulo: Companhia das letras, 2005

PINHEIRO, A. C.; MACEDO, M. F.; JURADO, V.; SAIZ-JIMENEZ, C.; VIEGAS, C.; BRANDÃO, J.; ROSADO, L. Mould and yeast identification in archival settings: Preliminary results on the use of traditional methods and molecular biology options in Portuguese archives. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 4, p. 619–627, 2011.

PINHEIRO, S. M. DE M. **Impacto da colonização do fungo *Cladosporium Sphaerospermum* sobre a argamassa do concreto**. 2003, 135f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, 2003.

PINNA, D. Fungal physiology and the formation of calcium oxalate films on stone monuments. **Aerobiologia**, v. 9, n. 2, p. 157–167, 1993.

PINZARI, F.; TROIANO, F.; PIÑAR, G.; STERFLINGER, K.; MONTANARI, M. The Contribution of Microbiological Research in the Field of Book, Paper and Parchment Conservation. **New Approaches to Book and Paper Conservation - Restoration**, 2011.

PINZARI, F.; TATE, J.; BICCHIERI, M.; RHEE, Y. J.; GADD, G. M. Biodegradation of ivory (natural apatite): Possible involvement of fungal activity in biodeterioration of the Lewis Chessmen. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 4, p. 1050–1062, 2013.

POLIZZI, V.; ADAMS, A.; PICCO, A. M.; ADRIAENS, E.; LENOIR, J.; VAN PETEGHEM, C.; SAEGER, S. DE; KIMPE, N. DE. Influence of environmental conditions on production of volatiles by *Trichoderma atroviride* in relation with the sick building syndrome. **Building and Environment**, v. 46, n. 4, p. 945–954, 2011.

POZO-ANTONIO, J. S.; DIONÍSIO, A. Physical-mechanical properties of mortars with addition of TiO₂ nanoparticles. **Construction and Building Materials**, v. 148, p. 261–272, 2017.

RAMIREZ, A. M.; DE BELIE, N. Application of TiO₂ Photocatalysis to Cementitious Materials Self-Cleaning Purposes. In: **Application of Titanium Dioxide Photocatalysis to Construction Materials**. State-of-Art Report of the RILEM Technical Committee 194-TDP, Springer Dordrecht Heilderberg London New York, 2011.

RAMOS, N. M. M. **A importância da inércia higroscópica no comportamento higrotérmico dos edifícios**. 2007, 486p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2007.

RECENA, F.A.P. **Conhecendo argamassa**. 2^oed. – Porto Alegre: EDIPUCRS, 2011.

REID, D. S. **Water activity: Fundamentals and Relationships**. In: *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. IFT Press. Blackwell Publishing, USA, 2007.

RODEN, A.; MOTA, B.; VIANA, D.; FONSECA, D.; POLESELLO, E.; PINTO, M.; MUÑOZ N. S. **Contribuição ao estudo da evolução construtiva e da manutenção da conservação do monumento Igreja Nossa Senhora das Dores**. Trabalho acadêmico da disciplina: Patologia das Edificações - PPGEC-NORIE-UFRGS. POrto Alegre, 2009.

ROHDE, G. M.; BONIN, L. C.; MALLMANN, J. E.; ZWONOK, O. **Cal Pozolânica no Estado do Rio Grande do Sul: Abordagem Técnica para Produtos Inovadores**. Porto Alegre: CIENTEC, 2012.

ROMANO, R. C. DE O.; SEABRA, M. A.; JOHN, V. M.; PILEGGI, R. G. Caracterização reológica de suspensões cimentícias mistas com cales ou filitos. **Ambiente Construído**, v. 14, p. 75–84, 2014.

ROSADO, T.; GIL, M.; MIRÃO, J.; CANDEIAS, A.; CALDEIRA, A. T. Oxalate biofilm formation in mural paintings due to microorganisms - A comprehensive study. **International Biodeterioration and Biodegradation**. v. 85, p. 1-7, 2013.

RUFFOLO, S. A.; LA RUSSA, M. F.; MALAGODI, M.; ROSSI, C. O.; PALERMO, A. M.; CRISCI, G. M. ZnO and ZnTiO₃ nanopowders for antimicrobial stone coating. **Applied**

Physics A: Materials Science and Processing, v. 100, n. 3, p. 829–834, 2010.

RUFFOLO, S. A.; DE LEO, F.; RICCA, M.; ARCUDI, A.; SILVESTRI, C.; BRUNO, L.; URZÌ, C.; LA RUSSA, M. F. Medium-term in situ experiment by using organic biocides and titanium dioxide for the mitigation of microbial colonization on stone surfaces. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 123, p. 17–26, 2017.

SACKHEIM, G.I.; LEHMAN, D.D. Química e Bioquímica para Ciências Biomédicas. São Paulo: Manole. 2001. 654p.

SAMARANAYAKE, L. **Fundamentos de microbiologia e imunologia na odontologia**. Elsevier Editora Ltda. 2012.

SANTOS, A. B. DOS. **Identificação Biológica e aplicação de biocidas na população microbiana que forma os biofilmes de alguns monumentos históricos**. 2011, 147p. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Urbanismo). Faculdade de Arquitetura e Urbanismos da Universidade Federal da Bahia, 2011.

SANTOS, E. DE S.; GAMA, E. M.; FRANÇA, R. S. DA, SOUZA, A. S.; MATOS, R. P. Espectrometria de fluorescência de raios-X na determinação de espécies químicas. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia**. v.9, p. 3413–3432, 2013.

SANTOS, L. C. S.; MORA, N. D. **Fungos Filamentosos no Basalto e sua influência na Biodeterioração**. In: VIII Seminário del Sector Eléctrico Paraguay – CIGRE. Paraguay, 2008

SCARTEZINI, L.M.; CARASEK, H. Avaliação da perda de água da argamassa fresca para substrato por sucção capilar. In: V Simpósio Brasileiro de Tecnologia em Argamassa (SBTA). **Anais**. São Paulo, 2003.

SCHILLING, J. S.; JELLISON, J. Extraction and translocation of calcium from gypsum during wood biodegradation by oxalate-producing fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 60, n. 1, p. 8–15, 2007.

SEDLBAUER, K. **Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components**. 2001, 247p. Fraunhofer Institute for Building Physics, 2001.

SHEERER, S.; ORTEGA-MORALES, O.; GAYLARDE, C. Chapter 5 – Microbial deterioration of stone monuments – An updated overview. **Advances in Applied Microbiology**. V. 66, p. 97-139, 2009.

SHIRAKAWA, M. A. **Estudo da biodeterioração do concreto por *Thiobacillus***. 1994, 137p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo (CNEN/SP), 1994.

SHIRAKAWA, M.; CINCOTTO, M. A.; CARNEIRO, A. M. P.; GAMBALE, W. Atividade de água e biodeterioração de argamassas por fungos filamentosos. **II Simpósio Brasileiro de Tecnologia das Argamassas**, v. 1, p. 120–132, 1997.

SHIRAKAWA, M. A.; MONTEIRO, M. B.; SELMO, S. M. S.; CINCOTTO, M. A. **Identificação de fungos em revestimentos de argamassa com bolor evidente**. In: I Simpósio Brasileiro de Tecnologia das Argamassas, v. 1, p. 402-409, 1995.

SHIRAKAWA, M. A.; GAYLARDE, C.; GAYLARDE, P. M.; JOHN, V.; GAMBALE, W. Fungal colonization and succession on newly painted buildings and the effect of biocide. **FEMS**

Microbiology Ecology, v. 39, n. 2, p. 165–173, 2002.

SHIRAKAWA, M. A.; BEECH, I.; TAPPER, R.; CINCOTTO, M. A.; GAMBALE, W. The development of a method to evaluate bioreceptivity of indoor mortar plastering to fungal growth. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 51, n. 2, p. 83–92, 2003.

SHIRAKAWA, M. A.; VIEIRA, E. N.; TANACA, H.; CESAR, R. T.; BRUM, F.; JOHN, V. M. Avaliação do Crescimento de fungos após um ano de envelhecimento natural de argamassas de revestimento aditivadas e com pintura. **VIII Simpósio Brasileiro de Tecnologia das Argamassas - VIII SBTA**, n. 1, p. 1–13, 2009.

SHIRAKAWA, M. A.; GAYLARDE, C. C.; SAHÃO, H. D.; LIMA, J. R. B. Inhibition of *Cladosporium* growth on gypsum panels treated with nanosilver particles. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 85, p. 57–61, 2013.

SHIRAKAWA, M. A.; ZILLES, R.; MOCELIN, A.; GAYLARDE, C. C.; GORBUSHINA, A.; HEIDRICH, G.; GIUDICE, M.; DEL NEGRO, G. M. B.; JOHN, V. M. Microbial colonization affects the efficiency of photovoltaic panels in a tropical environment. **Journal of Environmental Management**, v. 157, p. 160–167, 2015.

SHIRAKAWA, M. A.; CINCOTTO, M. A.; GAMBALE, W. Padronização de teste crescimento acelerado para a avaliação da resistência de argamassas de revestimento de interiores ao de fungos. **III Simpósio Brasileiro de Tecnologia das Argamassas**, 1999.

SHIRAKAWA, M. A.; ZILLES, R.; MOCELIN, A.; GAYLARDE, C.C.; GORBUSHINA, A.; STERFLINGER, K. The role in deterioration of cultural heritage. **Fungal Biology Reviews**, v. 24, 47-55, 2010.

SOBRINHO, M. M. B. **Estudo da ocorrência de fungos e da permeabilidade em revestimentos de argamassa em habitações de interesse social - Estudo de caso na cidade de Pitangueiras/SP**. 2008, 91p. (Dissertação) - Universidade Federal de São Carlos, 2008.

SILVA, F. H. **Biodeterioração de tinta látex com e sem biocid, expostas ao meio ambiente externo e experimento acelerado**. 2009, 166p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

SOUSA, V.; PEREIRA, F. D.; BRITO, J. DE. Rebocos Tradicionais : Principais Causas de Degradação. **Engenharia Civil, UM**, v. 23, p. 5–18, 2005.

STEFANOWSKI, B. K.; CURLING, S. F.; ORMONDROYD, G. A. A rapid screening method to determine the susceptibility of bio-based construction and insulation products to mould growth. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 116, p. 124–132, 2017.

STERFLINGER, K. Fungi as geologic agents. **Geomicrobiology Journal**. v. 17, p. 97-124, 2000.

STERFLINGER, K. Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage. **Fungal Biology Reviews**, v. 24, n. 1–2, p. 47–55, 2010.

STERFLINGER, K.; PINZARI, F.; PIÑAR, G.; GU, J. D. Future directions and challenges in biodeterioration research on historic materials and cultural properties. **International Biodeterioration and Biodegradation**, n. February, p. 1–3, 2018a.

STERFLINGER, K.; PIÑAR, G.; VOITL, C.; LOPANDIC, K. Big Sound and Extreme Fungi-

Xerophilic, Halotolerant *Aspergilli* and Big Sound and Extreme Fungi — Xerophilic , Halotolerant *Aspergilli* and *Penicillia* with Low Optimal Temperature as Invaders of Historic Pipe Organs. **Life**, v. 8, n. June, p. 1–14, 2018b.

STERFLINGER, K.; PIÑAR, G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art tilting at windmills? **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9637–46, nov. 2013.

SUGIYAMA, J.; KIYUNA, T.; NISHIJIMA, M.; NA, K. D.; NAGATSUKA, Y.; TAZATO, N.; HANDA, Y.; HATA-TOMITA, J.; SATO, Y.; KIGAWA, R.; SANO, C. Polyphasic insights into the microbiomes of the Takamatsuzuka Tumulus and Kitora Tumulus. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 63, n. 2, p. 63–113, 2017.

TEUTONICO, J. M. **A laboratory manual for architectural conservators**. International Centre for the Study of the Preservation and Restoration of Cultural Property (ICCROM), Roma, 1988.

TIANO, P. Biodegradation of Cultural Heritage: Decay Mechanisms and Control Methods. **CNR-Centro di Studio Sulle Cause Deterioramento e Metodi Conservazione Opere d'Arte**, v. 9, p. 1–37, 2001.

TORRACA, G. **Lectures on Materials science for Architectural Conservation**. The Getty Conservation Institute. Los Angeles, 2009.

TORTORA, G. FUNKE, B. CASE, C. **Microbiologia**, 10^oed, Artmed Editora: Porto Alegre, 2012.

TREVISÓ, J. P. **Avaliação da eficiência de autolimpeza em argamassas e pastas contendo TiO₂ expostas ao microclima urbano**. 2016, 204p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Núcleo Orientado para Inovação da Edificação (NORIE) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2016.

URZÌ, C.; LEO, F. DE. **Biodeterioration of Cultural Heritage in Italy: State of Art**. Workshop ARIADNE A08 "Biodegradation of Cultural Heritage". **Anais...**Prague: 2001. Disponível em: <http://www.arcchip.cz/w08/w08_de_leo.pdf>

VÁZQUEZ-NION, D.; SILVA, B.; PRIETO, B. Influence of the properties of granitic rocks on their bioreceptivity to subaerial phototrophic biofilms. **Science of the Total Environment**, v. 610–611, p. 44–54, 2018.

VEIGA, M. R.; TAVARES, M. Características das paredes antigas, requisitos dos revestimentos por pintura. In: A Indústria das tintas no início do século XXI. **Anais...**Lisboa, APTETI, 2002.

VEIGA, M. R.; AGUIAR, J.; SILVA, A.S.; CARVALHO, F. **Conservação e renovação de revestimentos de paredes de edifícios antigos**. Lisboa: Laboratório Nacional de Engenharia Civil – LNEC, 2004.

VERDIER, T.; COUTAND, M.; BERTRON, A.; ROQUES, C. A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods. **Building and Environment**, v. 80, p. 136–149, 2014.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de microbiologia**. São Paulo: Guanabara, 2006. 256p.

VICENT, M.; SÁNCHEZ, E.; SANTACRUZ, I.; MORENO, R. Dispersion of TiO₂ nanopowders to obtain homogeneous nanostructured granules by spray-drying. **Journal of**

the European Ceramic Society, v. 31, n. 8, p. 1413–1419, 2011.

VIITANEN, H.; VINHA, J.; SALMINEN, K.; OJANEN, T.; PEUHKURI, R.; PAAJANEN, L.; LAHDESMÄKI, P. Moisture and bio-deterioration risk of building materials and structures. **Journal of Building Physics**, v. 33, n. 3, p. 201–224, 2010.

WARSCHEID, T.; BRAAMS, J. Biodeterioration of stone: A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 46, n. 4, p. 343–368, 2000.

WHITNEY, K. D.; ARNOTT, H. J. Calcium oxalate crystal morphology an development in *agaricus bisporus*. **Mycologia**, v. 79(2), p. 180–187, 1987.

YANG, J.; TEWARI, J. P. P.; VERMA, P. R. R. Calcium oxalate crystal formation in *Rhizoctonia solani* AG 2-1 culture and infected crucifer tissue: relationship between host calcium and resistance. **Mycological Research**, v. 97, n. 12, p. 1516–1522, 1993.