



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

JOSÉ NILSON BANDEIRA DE MOURA FILHO

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA EM FUNGOS DE REVESTIMENTO DE
UMA SOLUÇÃO FUNGICIDA E DA PRATA COLOIDAL**

MOSSORÓ

2018

JOSÉ NILSON BANDEIRA DE MOURA FILHO

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA EM FUNGOS DE REVESTIMENTO DE
UMA SOLUÇÃO FUNGICIDA E DA PRATA COLOIDAL**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Matias

Co-orientador: Prof. Dr. Lívio Carvalho de
Figueiredo

MOSSORÓ

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

F488a Filho, José Nilson Bandeira de Moura.
AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA EM FUNGOS DE
REVESTIMENTO DE UMA SOLUÇÃO FUNGICIDA E DA PRATA
COLOIDAL / José Nilson Bandeira de Moura Filho. -
2018.
34 f. : il.

Orientadora: Fernanda Matias.
Coorientador: Lívio Carvalho de Figueiredo.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
2018.

1. Biodeterioração. 2. Fungos. 3. Biocidas. 4.
Solução fungicida. 5. Íons de prata. I. Matias,
Fernanda, orient. II. de Figueiredo, Lívio
Carvalho, co-orient. III. Título.

JOSÉ NILSON BANDEIRA DE MOURA FILHO

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIFÚNGICA EM FUNGOS DE REVESTIMENTO DE
UMA SOLUÇÃO FUNGICIDA E DA PRATA COLOIDAL**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 13 / 09 / 2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fernada Matias (UFERSA)
Presidente

Prof. Dr. Lívio Carvalho de Figueiredo (UFERSA)
Membro Examinador

Profa. MSc. Maria Jocileide de Medeiros Marinho (UFERSA)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deusa, por sempre me sustentar em momentos de fraqueza.

Agradeço aos meus pais, por persistirem muito na realização dessa conquista. Incentivando-me e ajudando-me em vários momentos difíceis enfrentados durante o caminho.

Agradeço a UFERSA pelas oportunidades disponibilizadas para meu crescimento, de todas as maneiras possíveis.

Agradeço a minha orientadora, Fernanda Matias, por acreditar em mim mesmo quando ninguém acreditou e ter me ajudado de maneira tão positiva na realização dessa obra.

Agradeço a professora Ana Carla, que pela maior parte do curso me ajudou e orientou da melhor forma possível.

Agradeço a banca examinadora, pela disponibilidade e interesse em avaliar-me perante o desenvolvimento desta obra.

Agradeço aos professores, alguns por se disponibilizarem a ensinar além de conteúdos, aos que me ajudaram a crescer na vida.

Agradeço a minhas irmãs, por servirem de exemplo e me encorajarem durante essa caminhada, com certeza vocês foram espelhos que me ajudaram a concluir essa caminhada.

Agradeço em especial aos minhas amigas mais próximas, que foram ombro amigo, psicólogos, bêbados, jogadores, parceiros indispensáveis nos momentos mais escuros dessa caminhada, a vocês, Érica, Ysla.

Agradeço aos meus amigos de turma, que suportaram o fardo junto comigo e que caminharam seus destinos da melhor forma que lhes era capaz.

Agradeço aos amigos que fiz no curso, que estiveram sempre presentes pra trocar informações e ajudar no crescimento do próximo.

RESUMO

Frequentemente edificações da construção civil sofrem com fatores que não conseguem ser controlados pelo homem, entre eles a umidade, radiação, precipitação, e também ação de macro e microrganismos. A biodeterioração se caracteriza por um conjunto de ações de microrganismo que atuam sobre os materiais da construção civil de forma negativa, podendo alterar as propriedades destes materiais. Pode variar desde uma deterioração estética com a presença de manchas escuras ou amareladas ou ainda pelo desenvolvimento de biofilme. Ou também, uma deterioração mais agressiva, alterando a composição dos materiais e degradando-os. Para solucionar tal problema, a indústria vem utilizando-se de alguns biocidas a seco, que possuem alta eficiência na ação fungicida. Todavia, alguns deles possuem uma alta lixiviação e podem ser prejudiciais para a saúde humana. Dessa forma, o estudo de formas alternativas de biocidas que possuam ampla eficiência e não agredam o meio ambiente nem a população se tornou mais frequente. Uma solução criada em laboratório constituída de alguns compostos químicos foi analisada quanto a ação fungicida e verificada qual a concentração mínima conseguia inibir o crescimento dos fungos. Outra alternativa analisada foi água coloidal, sintetizada por método físico, onde íons de prata foram transferidos para água que foi utilizada em concentrações variadas pretendendo analisar a eficácia da ação fungicida. A ação dos dois compostos foi avaliada pelo crescimento fúngico em placas de Petri, através de repique de colônias e os testes foram realizados em duplicata. A solução fungicida agiu a partir de determinada concentração conseguindo afetar no crescimento das colônias e na inibição do crescimento. A água coloidal não conseguiu inibir o crescimento fúngico, muito provavelmente pela concentração baixa de íons na água sintetizada.

Palavras-chave: Biodeterioração, Fungos, Biocidas, Solução fungicida, íons de prata.

ABSTRACT

Oftentimes, Civil construction suffers from factors that can not be controlled by men, including humidity, radiation, precipitation, as well as macro and microorganisms actions. Biodeterioration is characterized by a set of microorganism actions that act on the materials of the civil construction in a negative way, being able to alter the properties of these materials the same. It can range from an aesthetic deterioration with the presence of dark or yellowish spots or by the development of biofilm. Or, a more aggressive deterioration, altering the composition of the materials and degrading them. To solve this problem, the industry has been using some dry biocides, which have high efficiency in the fungicide action. However, some of them have a high leaching and can be harmful to human health. Thus, the study of alternative forms of biocides that have high efficiency and do not harm the environment nor the population has become more frequent. A laboratory solution made up of some chemical compounds was analyzed for fungicide action and the minimum concentration could inhibit fungal growth. Another alternative analyzed was colloidal water, synthesized by physical method, where silver ions were transferred to water that was used in varied concentrations aiming to analyze the effectiveness of the fungicide action. The action of the two compounds was evaluated by fungal growth in Petri dishes and the tests were performed in duplicate. The fungicidal solution acted from a certain concentration and could affect the growth of colonies and inhibition of growth. Colloidal water failed to inhibit fungal growth, most likely by the low concentration of ions in the synthesized water.

Key words: Biodeterioration, Fungi, Biocides, Fungicide solution, silver ions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular para o carbendazim: Metil carbamato de benzimidazole-2-il.	17
Figura 2 – Estrutura molecular do diuron: N'-(3,4-diclorofenil)-N, N-dimetilureia.	17
Figura 3 – Materiais A) Materiais utilizados na síntese de água coloidal B) Eletrodos de prata pura.	21
Figura 4 – Método físico utilizado para a síntese da água coloidal. Ionização da água com íons de prata através da corrente elétrica gerada pelas baterias e que passaram pelos eletrodos de prata pura carreando esses íons.	21
Figura 5 – Fungo isolado de paredes da UFERSA e casas do município de Mossoró. A) colônia de coloração branca. B) colônia de coloração escura.	23
Figura 6 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,0005 µL/µL de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,00125 µL/µL de Solução Fungicida.	24
Figura 7 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,0025 µL/µL de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,005 µL/µL de Solução Fungicida.	25
Figura 8 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,025 µL/µL, de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,0375 µL/µL e de Solução Fungicida. C) Placa com concentração de 0,05 µL/µL de Solução Fungicida.	26
Figura 9 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,0005 µL/µL de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,00125 µL/µL de Solução Fungicida.	26
Figura 10 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,0025 µL/µL de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,005 µL/µL de Solução Fungicida.	27
Figura 11 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,025 µL/µL, de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,0375 µL/µL e de Solução Fungicida. C) Placa com concentração de 0,05 µL/µL de Solução Fungicida.	28
Figura 12 Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de água coloidal. A) Placa com concentração de 0,025 µl/ml. B) Placa com concentração de 0,0375 µl/ml.	29

C) Placa com concentração 0,05 µl/ml. D) Placa com concentração 0,075 µl/ml. E) Placa com concentração 0,1 µl/ml.

Figura 13 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de água coloidal. A) 30 Placa com concentração de 0,025 µl/ml. B) Placa com concentração de 0,0375 µl/ml. C) Placa com concentração 0,05 µl/ml. D) Placa com concentração 0,075 µl/ml. E) Placa com concentração 0,1 µl/ml.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Meio (batata, dextrose, ágar)
CMIT	5-cloro-2-metil-4-isotiazoli-3-ona
DCOIT	o 4,5 isotiazolin-3-ona
g	grama
LABIN	Laboratório de Biotecnologia Industrial e Nanotecnologia
mg/kg	Miligrama por kilograma
MIT	2-metil-4-isotiazoli-3-ona
µl/µl	Microlitro por microlitro
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido

LISTA DE SÍMBOLOS

μ	Microlitro
-------	------------

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 BIODETERIORAÇÃO DE CONSTRUÇÕES	14
2.1.1 Tipos de Biodeterioração	14
2.1.2 Fungos e ação deteriorante	15
2.1.3 Biocidas	16
2.2 NANOBIOTECNOLOGIA	18
2.3 PRATA COLOIDAL	18
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 ISOLAMENTO DOS FUNGOS	20
4.2 TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE SOLUÇÃO FUNGICIDA	20
4.3 METODOLOGIA DA ÁGUA COLOIDAL	20
4.4 TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA COLOIDAL	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 ISOLAMENTO DOS FUNGOS	23
5.2 TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE SOLUÇÃO FUNGICIDA	24
5.3 4 TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA COLOIDAL	29
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

Antes da construção de edificações fazem-se diversos estudos para que sua síntese e duração sejam desenvolvidas das melhores maneiras possíveis, porém, alguns fatores são inevitáveis e fora do controle do homem, prejudicando as construções de uma forma tanto estética, como também de forma mais agressiva, alterando as estruturas das superfícies e prejudicando as propriedades físicas e químicas dos constituintes dessas construções (cimento, pedra, tintas, argamassa). A partir dessa problemática cada vez mais ocorrente o setor industrial começou a realizar estudos nas áreas dessas patologias da construção civil, verificando que vários podem ser os causadores desses problemas, como: umidade, radiação solar, variação de temperatura, ação antrópica, ação de macro e microrganismos (SOUZA, 2016).

Esses fatores geralmente ocorrem simultaneamente e podem afetar de forma positiva ou negativa uns aos outros. De acordo com Shirakawa *et al.* (1998) caracterizar-se a biodeterioração como sendo o conjunto de determinadas mudanças negativas nas propriedades dos materiais devido à ação dos macro ou microrganismos. A biodeterioração de acordo com seus agentes e consequências se subclassificou em algumas categorias podendo ser física ou mecânica, estética e química, sendo a química classificada em assimilatória, que utiliza os componentes dos materiais como fonte de alimento, ou não assimilatória, que não o utiliza diretamente, mas produz metabólitos que o deteriora (PEREIRA, 2012).

Dentre os microrganismos que conseguem se desenvolver e atuar de forma deteriorante, os fungos se destacam por conseguirem um espectro de atuação amplo, podendo afetar desde forma estética com a produção ou não de biofilme. Além disso, quando as hifas se desenvolvem e penetram nas superfícies, elas garantem uma maior resistência do microrganismo com a superfície, produzindo metabólitos, que muitas vezes são ácidos e atuam deteriorando os componentes dos materiais das construções. Outro fator negativo na biodeterioração por fungos é que algumas espécies são consideradas alergênicas, associados a algumas doenças, como pneumonia. Outras espécies de fungos também são capazes de sintetizar toxinas prejudiciais à saúde, algumas até carcinogênicas (SILVA, 2009; ABREU *et al.*, 2015).

Para proteção das construções, existem alguns produtos no mercado, sendo uma das mais disseminadas e com relativa eficácia o uso de biocidas nos materiais antes e depois da composição das estruturas. Os mais utilizados são formaldeído, cianobutano, isotiazolonas

carbenzadín e diuron. Apesar de eficazes na contenção e morte dos microrganismos, esses químicos possuem alta lixiviação e alguns possuem malefícios à saúde humana (FAIRBANCKS, 2007).

Devido a tais desvantagens apresentadas pelos biocidas já estabelecidas no mercado, há um enfoque em alternativas que possuam eficiência compatível e até melhor que tais biocidas e que não possuam as mesmas desvantagens. A nanotecnologia tem sido um dos setores que despertaram o interesse do setor científico e industrial. Através dessa multidisciplinaridade pode-se sintetizar nanopartículas que são capazes de fazer um carregamento de determinados compostos para o interior da célula, que se encarrega de absorver tais compostos na sua superfície ou encapsulá-los, fazendo com que as nanoestruturas sejam um novo olhar para diversos problemas (COELHO, 2017).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. BIODETERIORAÇÃO DE CONSTRUÇÕES

Nos últimos anos há um crescente estudo relacionado à área de patologias da construção civil, mais especificamente, à biodeterioração causada por microrganismos em diversas edificações expostas a diversos fatores do meio como: umidade, ação mecânica, variações de clima e tempo, ações química e biológica. De acordo com Shirakawa *et al.* (1998) caracterizar-se a biodeterioração como sendo o conjunto de determinadas mudanças negativas nas propriedades dos materiais devido à ação dos macro ou microrganismos. Os microrganismos agem fixando-se nas superfícies e muitas vezes também desenvolvendo um biofilme, que é caracterizado por Shirakawa *et al.* (1998) como uma película sintetizada a partir da atividade metabólica de microrganismos vivos na presença de água, que pode ocasionar alteração na coloração da superfície. Dessa maneira eles conseguem se estruturar melhor causando danos físicos e químicos ao longo do tempo na estrutura (PEREIRA, 2012).

2.1.1 Tipos de Biodeterioração

A ação deteriorante dos microrganismos tem um espectro de variação amplo, indo desde problemas estéticos que podem ser causados pela formação do biofilme, por exemplo, até problemas funcionais desencadeados pelas ações químicas e, conseqüentemente, físicas. Devido a essa variação nos problemas ocasionados pela ação deteriorante dos microrganismos, os conceitos de biodeterioração passaram a possuir algumas categorias que podem acontecer simultaneamente ou individualmente (LAPA, 2008), sendo:

- a) Quando os organismos estão crescendo ou se locomovendo eles podem causar uma pressão superficial que rompe a estrutura do material, dessa maneira o material não é utilizado diretamente como fonte de alimento do microrganismo, porém o organismo o deteriora mesmo assim. A esse tipo de processo se dá o nome de biodeterioração física ou mecânica (ALSSOPP, 2004).
- b) Quando a biodeterioração tem resultados apenas na aparência estética, não modificando o desempenho do material nem sua composição química se diz que é o processo de biodeterioração estética, como por exemplo, aparecimento de manchas escuras ou alteração de cor do material (LAPA, 2008)
- c) Outro processo de biodeterioração se caracteriza como química, que pode se subclassificar em: biodeterioração química assimilatória, que ocorre quando o

microrganismo se utiliza diretamente do material como fonte de alimentação para o crescimento e desenvolvimento, depositando metabólitos (ácidos) sobre o material para facilitar no processo de absorção, e a biodeterioração química não assimilatória, em que a ação ácida transforma os minerais do material em sais e quelatos reagindo com o material o deteriorando (PEREIRA, 2012).

2.1.2 Fungos e ação deteriorante

O reino Fungi é um dos mais expressivos reinos existentes, constituído de milhões de espécies, aproximadamente 1,5 milhão, e são capazes de habitar, basicamente, todos os ecossistemas existentes da Terra. Esses organismos possuem tamanha importância que a sobrevivência de diversas outras espécies está intimamente atrelada à existência deles, uma vez que eles são reguladores dos ciclos biológicos, inclusive dos seres humanos (SILVA, 2016).

Os fungos são caracterizados como organismos eucarióticos (possuidores de membrana nuclear que envolve cromossomos e nucléolo), heterotróficos (não são capazes de absorver a energia luminosa e sintetizar compostos orgânicos) obtendo sua alimentação ou nutrindo-se de hospedeiros vivos (como parasitas), ou a partir de matéria orgânica inanimada. Tais microrganismos influenciam a vida do homem de diferentes formas, seja na participação de processos desejáveis ou prejudiciais. Generalizando, os fungos incluem os bolores (ou mofos) e as leveduras. Os bolores são filamentosos e pluricelulares e as leveduras se apresentam sob a forma unicelular (TORTORA, 2012).

Em termos gerais, os fungos possuem grande relevância agrícola e ecológica, sendo mantenedores do equilíbrio ambiental, atuando na degradação de substâncias tóxicas, decomposição de restos vegetais, auxiliando as plantas a crescerem e se protegerem de outros microrganismos patogênicos ou outros inimigos naturais. Além disso, esses microrganismos podem atuar em outros setores, como farmacêutico, o alimentício, onde são utilizados na produção de alimentos fermentados e bebidas alcoólicas, na biodeterioração, atuando no tratamento biológico de efluentes. São organismos capazes de realizar a biotransformação e atuam também como produtores de enzimas de interesse industrial (ABREU *et al.*, 2015).

Locais com alta disponibilidade de matéria orgânica são ideais para o crescimento destes microrganismos, que muitas vezes associam-se a certos organismos autotróficos, estabelecendo vários níveis de relacionamento. A ação biodeteriorante dos fungos se caracteriza principalmente pelas alterações estéticas que estes causam, modificando algumas

vezes a coloração da superfície devido à produção de ácidos orgânicos e inorgânicos. Além disso, são capazes de penetrar as superfícies através de hifas que serão as responsáveis pela degradação mecânica penetrando a estrutura do reboco, além de poder agredir as estruturas das construções através de uma deterioração química (BEATO SOBRINHO, 2008).

Dos fungos filamentosos que mais se destacam na biodeterioração de edificações estão os gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium* que podem atuar individualmente ou em associação com outros microrganismos. Esses fungos são capazes de produzir diversos ácidos, que possuem ação solubilizante direta na composição da estrutura e influenciando no pH da mesma, desencadeando danos na estrutura e maior facilidade de corrosão. Além do problema estético/funcional causado pela ação dos fungos filamentosos, estes podem ser alergênicos e associados a algumas doenças como pneumonia e terão ação potencializada em indivíduos imunossuprimidos. Outras espécies de fungos também são capazes de sintetizar toxinas (tais toxinas variam de acordo com a espécie e à fonte de alimento) prejudiciais à saúde, algumas até carcinogênicas (SILVA, 2009).

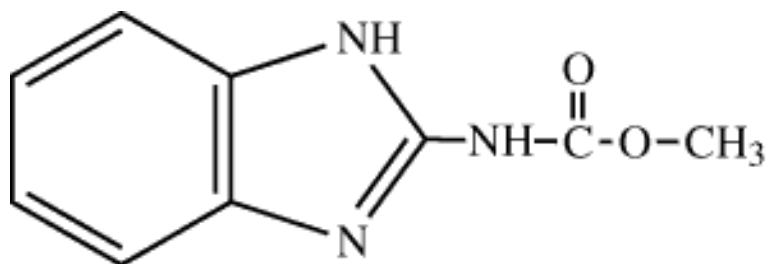
2.1.3 Biocidas

Com o aumento da frequência dessas biodeteriorações há um maior interesse no desenvolvimento de alternativas que possam conter ou parar a ação e desenvolvimento destes microrganismos. Tintas imobiliárias estão cada vez mais utilizando biocidas em sua composição com a finalidade de protegerem a tinta durante seu período enlatado e também após a aplicação seca, evitando o desenvolvimento dos microrganismos. O uso do biocida deve ser eficaz realizando as funções essenciais de conter o crescimento e desenvolvimento do microrganismo e se possível eliminar o mesmo, não reagir de forma negativa nos produtos aplicados, possuir variação de eficácia em mais de uma formulação, não fornecer riscos ao pessoal de aplicação nem aos usuários do produto e nem acarretarem problema ao meio ambiente. Quanto mais fácil atingir os parâmetros citados, menor será a quantidade necessária e, conseqüentemente, a concentração do biocida na formulação (COSTA, 2015).

De acordo com Fazenda (1995) os biocidas se classificam em duas principais categorias. A primeira sendo chamadas de bactericidas utilizadas na manutenção das tintas na lata, pois agem contra microrganismos que se desenvolvem principalmente na composição líquida possuindo como principais representantes formaldeído, cianobutano e isotiazolonas. A segunda sendo utilizada contra microrganismos que se desenvolvem no filme seco, os quais geralmente são fungicidas e algicidas que possuem como principais representantes o

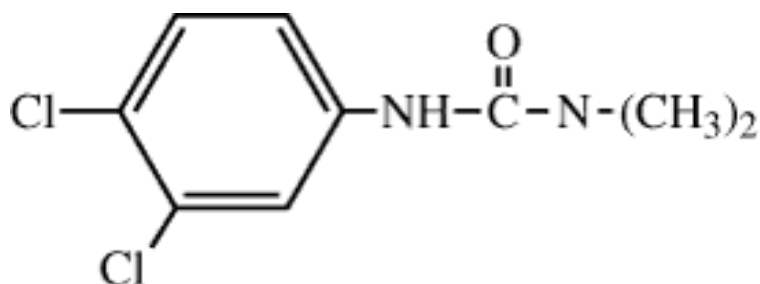
carbenzadin (fungicida) e o diuron (herbicida eficaz na contenção de algas), apresentadas nas Figuras 1 e 2.

Figura 1- Estrutura molecular para o carbendazim: Metil carbamato de benzimidazole-2-il.



(Fonte: GALHARDO, 2012).

Figura 2 - Estrutura molecular do diuron: N'-(3,4-diclorofenil)-N, N-dimetilureia.



(Fonte: GALHARDO, 2012).

Devido a determinados problemas já existentes na indústria, como um custo elevado na síntese final do produto e também a lixiviação elevada apresentada por tais biocida, impulsiona-se o desenvolvimento de biocidas alternativos como extratos de plantas, nanopartículas, que agredam menos o meio ambiente e a saúde e que possuam eficácia elevada. Uma alternativa seria o uso de nanopartículas de prata, uma vez que a prata possui ação antibacteriana e poderia atuar em determinada ação antifúngica (GALHARDO, 2012).

2.2. NANOBIOTECNOLOGIA

Nas últimas décadas se torna notório o forte interesse de grande parte da comunidade científica a respeito do ramo da nanociência. Esta se caracteriza basicamente por direcionar seus estudos sobre mudanças nas propriedades físicas de alguns sólidos, onde há uma redução à escala nanométrica das dimensões, acarretando, então, a possibilidade de gerenciar os componentes estruturais de materiais (NOGUEIRA, 2012).

A nanobiotecnologia caracteriza-se como uma ciência multi e interdisciplinar por integrar em seu estudo conhecimentos provindo das engenharias, física, química (supramolecular), biologia, ciência coloidal. O desenvolvimento dos seus materiais necessita do esforço para integrar tais áreas numa nanoescala, enfrentando fenômenos peculiares, os “efeitos quânticos”. As nanoestruturas, por possuírem um minúsculo tamanho, são capazes de fazer um carregamento de determinados compostos como, por exemplo, íons para o interior da célula, esta, por sua vez, se encarrega de absorver tais compostos na superfície da sua membrana ou até encapsula-los para o interior celular (COELHO, 2017).

2.3. PRATA COLOIDAL

O conhecimento sobre as nanopartículas de prata permite caracterizá-las como partículas oligodinâmicas, pois mesmo em concentrações consideradas baixas possui uma ação bactericida. Sua ação bactericida ainda não é bem estabelecida, porém as diferentes teorias propõem que: 1) as nanopartículas se aglutinam na superfície da membrana celular carregada negativamente desnaturando proteínas o que ocasiona a morte celular; 2) íons são introduzidos no interior celular e interagem com determinados compostos, como DNA, mais especificamente com moléculas de enxofre, causando o dano celular e morte. Os métodos de síntese de nanopartículas metálicas são variáveis, podendo ser biológico, químico ou físico. O método biológico é até preferível em relação aos químicos e físicos em questão de sustentabilidade, uma vez que espécies de microrganismos, plantas e enzimas são eficazes na redução de íons metálicos e, conseqüente, formação de nanopartículas metálicas. Porém, nem sempre é fácil de realizar o mecanismo biológico, sendo os processos químicos e físicos preferíveis (OLIVEIRA, 2014).

Verificando a ação antibacteriana já conhecida de nanopartículas metálicas e analisando a ação deteriorante de fungos em superfícies de construções, propôs-se a avaliação da ação antifúngica de um composto químico e da prata coloidal, sintetizada a partir de um método físico.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Isolar fungos de parede e avaliar a ação fungicida de uma solução fungicida e prata coloidal.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar diferentes fungos de paredes deterioradas;
- Testar diferentes concentrações de um solução química fungicida;
- Sintetizar água coloidal, introduzindo íons de prata;
- Testar diferentes concentrações de água coloidal com íons de prata.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ISOLAMENTO DOS FUNGOS

Os fungos foram isolados a partir do filme seco de paredes deterioradas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), na cidade de Mossoró – Rio Grande do Norte em em duas casa na mesma cidade, mas em locais um pouco distante da universidade. O método de isolamento foi adaptado de Shirakawa (2003) onde pedaços retangulares de carpetes foram cortados, esterilizados e usados como carimbos, pressionados contra a parede e enrolados em papel alumínio para transporte até o laboratório. Os pedaços de carpete, já carimbados, foram transferidos pra placas contendo meio BDA (39g meio + 1l água destilada) ideal para o crescimento de fungos, a partir disso houve o crescimento de colônias (entre cinco e sete dias).

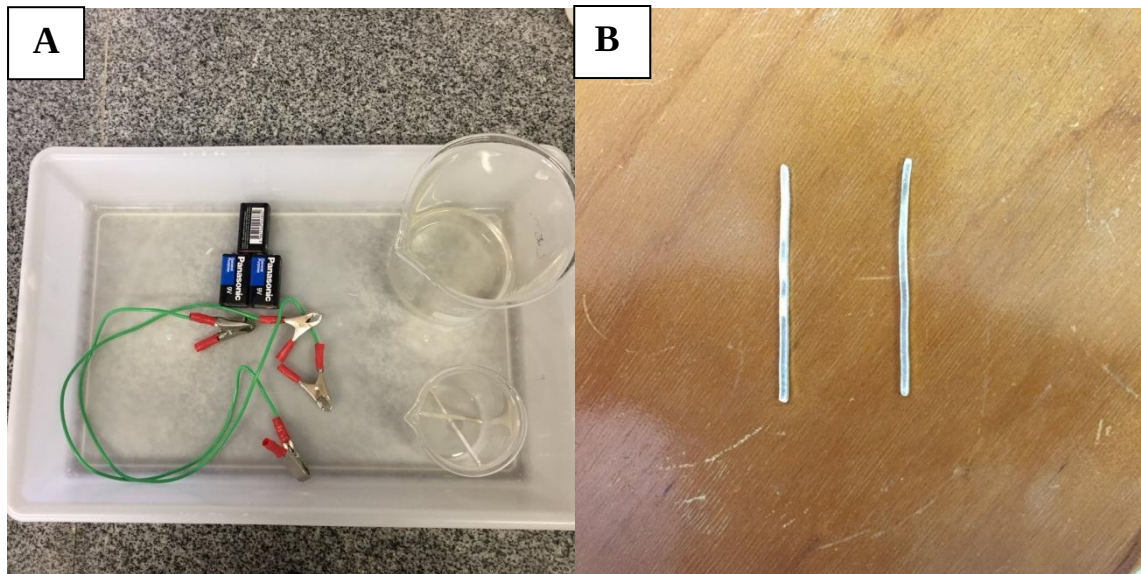
4.2. TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE SOLUÇÃO FUNGICIDA

Após o isolamento das variedades de fungos, estes foram repicados em placas de Petri contendo 20 mL de BDA e concentrações crescentes (0,0005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,00125 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,0025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$) de uma solução sintetizada pelo Laboratório de Biotecnologia Industrial e Nanobiotecnologia – LABIN onde objetivava verificar qual a concentração mínima de atuação antifúngica da solução . O teste foi realizado em duplicata (SHIRAKAWA, 2003).

4.3. METODOLOGIA DE ÁGUA COLOIDAL

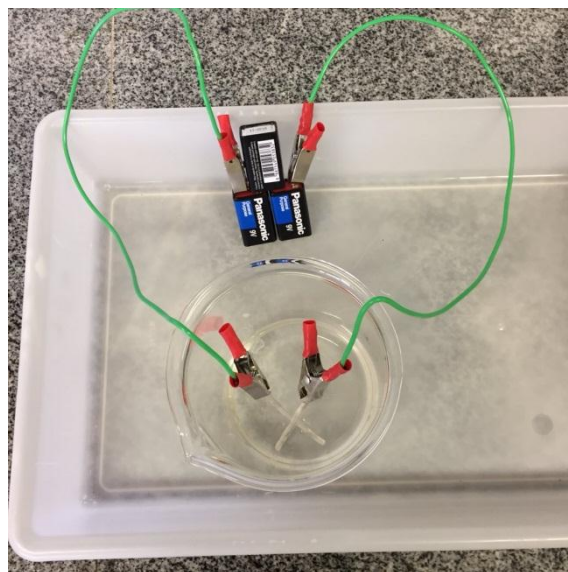
A água coloidal foi produzida a partir de 200 mL de água de osmose reversa autoclavada, onde foram inseridos dois eletrodos de prata pura com objetivo de passar uma corrente elétrica dentro do líquido, dispersando então os íons de prata na água. Foram utilizadas três baterias de nove volts interligadas para gerar um potencial elétrico e unidas com o uso de fios e ganchos metálicos, onde uma ponta do fio permanece ligada ao eletrodo de prata e outra à bateria (FIGURA 3). Apenas os eletrodos de prata pura são inseridos na água para que nenhum outro íon além dos de prata passem pra água. A corrente foi passada por 60 minutos e a concentração de íons foi verificada pela pesagem dos eletrodos antes e depois do processo (FIGURA 4).

Figura 3 – A) Materiais utilizados na síntese de água coloidal através do método físico utilizando corrente elétrica. B) Eletrodos de prata pura.



(Fonte: Autoria própria, 2018).

Figura 4 – Método físico utilizado para a síntese da água coloidal. Ionização da água com íons de prata através da corrente elétrica gerada pelas baterias e que passaram pelos eletrodos de prata pura carregando esses íons.



(Fonte: Autoria própria, 2018).

4.4. TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA COLOIDAL

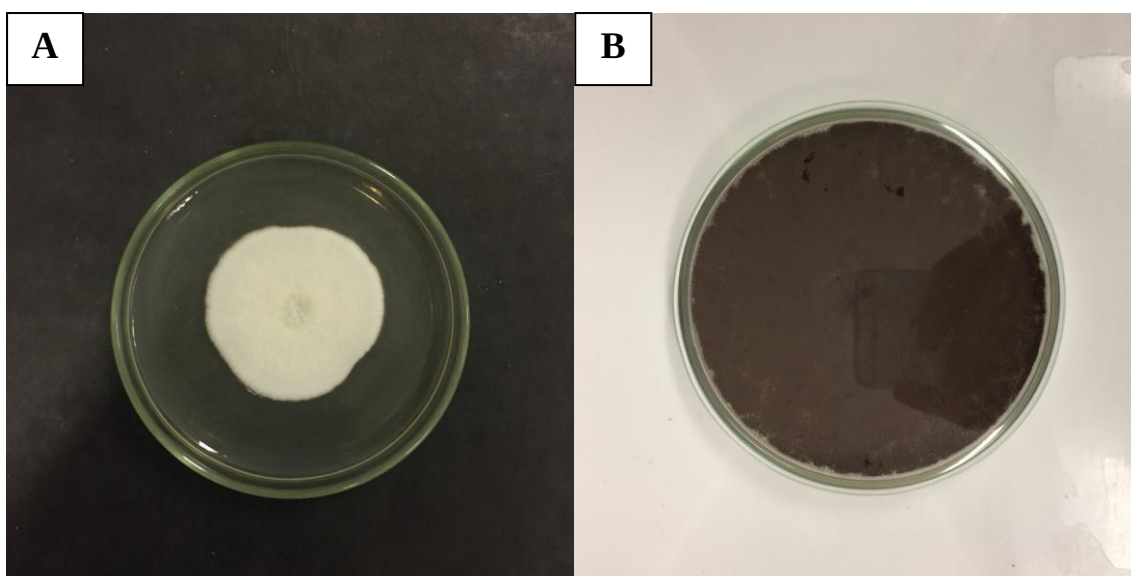
Após a obtenção da água coloidal através da ionização da água por corrente elétrica em eletrodos de prata pura, realizou-se o teste de inibição fúngica por concentrações variadas (0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ 0,075 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,1 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$) onde objetivava verificar qual a concentração mínima de atuação antifúngica da água coloidal. O teste foi realizado em duplicata para ambos os fungos (SHIRAKAWA, 2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ISOLAMENTO DOS FUNGOS

Com a transferência dos pedaços de carpete pra placa, houve o crescimento de diversas colônias de fungos, apresentando características diferentes. Verificou-se que em todas as placas havia repetição de duas colônias, uma com coloração branca e a outra com coloração escura (FIGURA 5). Dessa maneira, isolou-se essas duas variedades de fungos para a realização dos trabalhos seguintes, já que as mesmas demonstraram maior abundância e facilidade no desenvolvimento e multiplicação superiores às outras colônias.

Figura 5 – Fungo isolado de paredes da UFERSA e casas do município de Mossoró. A) colônia de coloração branca. B) colônia de coloração escura.



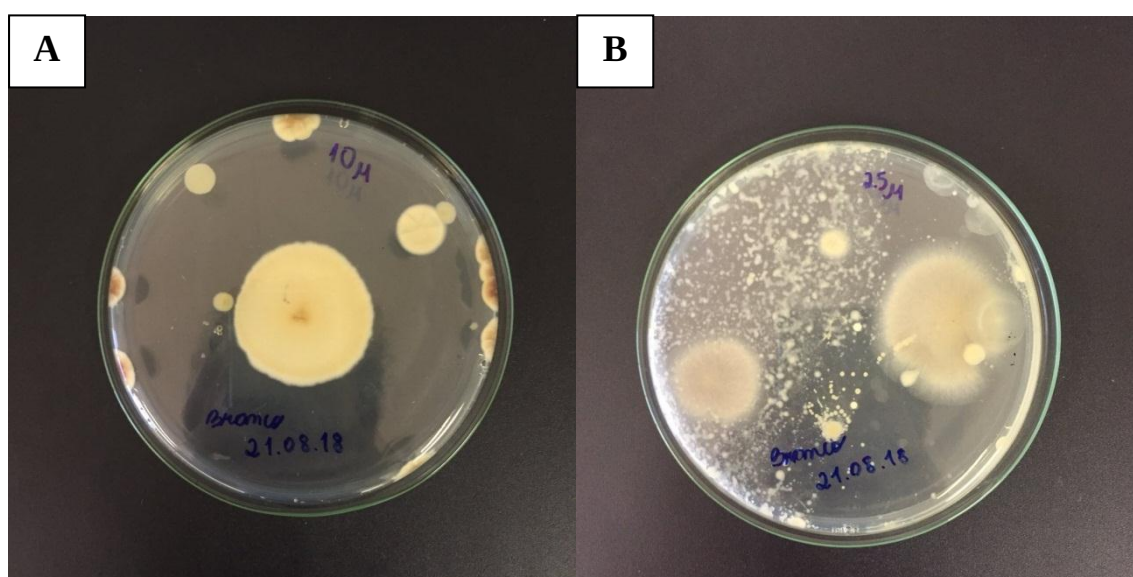
(Fonte: Autoria própria, 2018).

Avaliando-se as duas variedades de fungos por microscopia óptica, verificou-se que ambas tinham morfologia e estruturas de reprodução semelhantes, o que pode indicar mesmo gênero. Pelo fato de serem diferentes macroscopicamente, tanto em cor, quanto em maneira de multiplicação, é necessário maiores estudos para poder identificar esses fungos, como a técnica de 18S rDNA.

5. 2. TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÃO DE SOLUÇÃO FUNGICIDA

Os fungos de coloração branca possuem característica de crescer numa colônia centralizada, não esporulando por toda placa. Quando cultivado com o fungicida nas concentrações de 0,0005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,00125 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ as placas apresentaram crescimento irregular e contaminação bacteriana (o trabalho não se utilizou de antibióticos no meio), demonstrando que tais concentrações não são eficientes para uma ação fungicida (FIGURA 6).

Figura 6- Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida. A) Placa com concentração de 0,0005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,00125 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.

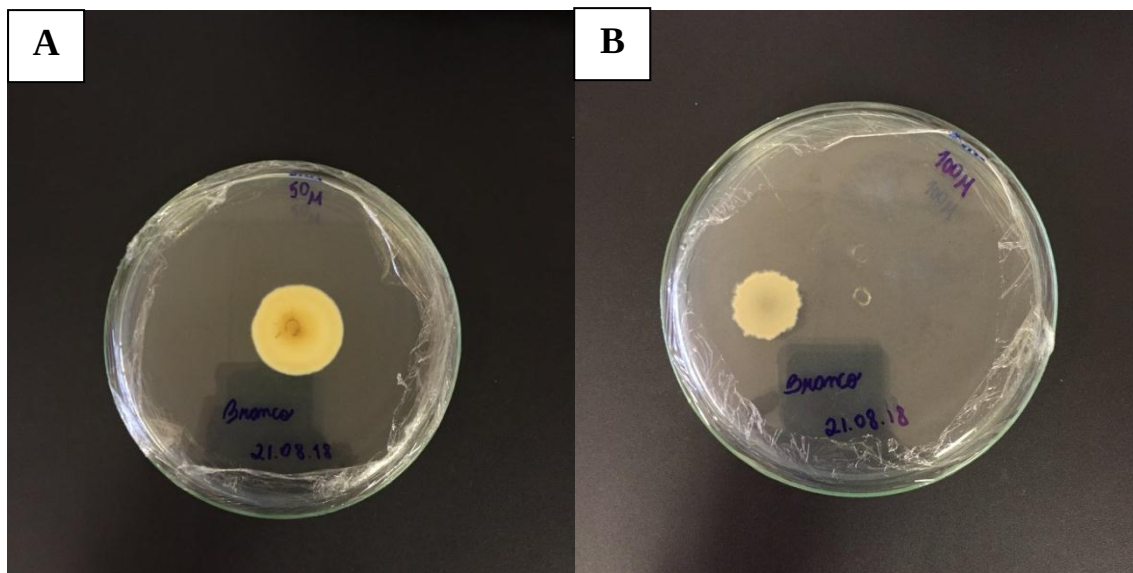


(Fonte: Autoria própria, 2018).

Para as concentrações de 0,0025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ as placas apresentaram colônias com tamanho reduzido em relação ao tamanho da placa controle, não havendo contaminação por bactérias. Dessa maneira constatou-se que a solução fungicida gerou um efeito negativo no crescimento do fungo, que apesar de não impedir seu crescimento completo, dificultou o desenvolvimento do mesmo (FIGURA 7).

Figura 7 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida.

A) Placa com concentração de 0,0025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.



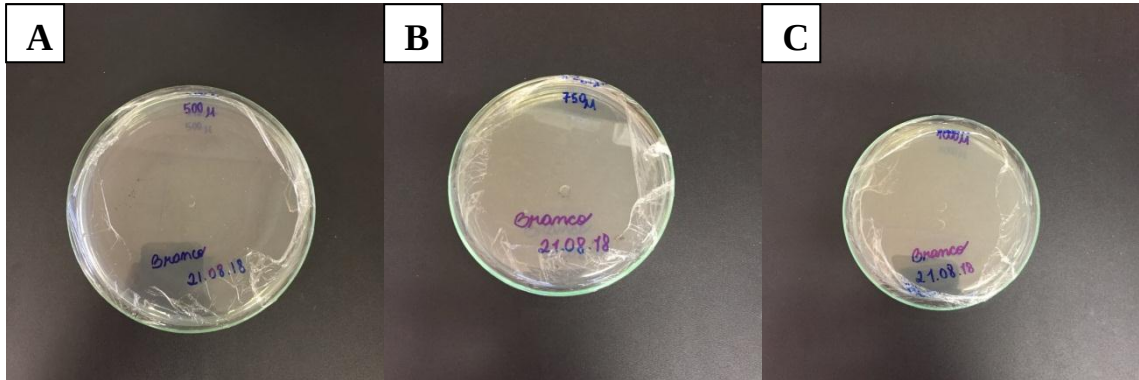
(Fonte: Autoria Própria, 2018).

Em concentrações mais elevadas 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ as placas não apresentaram crescimento algum (FIGURA 8), demonstrando que a partir de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ a solução fungicida já possui um elevado espectro de ação negativa no crescimento e sobrevivência do fungo.

Nos fungos de coloração escura, uma característica do seu crescimento era uma esporulação por toda a placa de maneira uniforme com pigmentação escura forte. No entanto, nas quantidades de 0,0005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,00125 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ houve uma modificação da aparência macroscópica da colônia, ocorrendo uma dispersão de esporulação e mudança da cor das colônias, possivelmente por contaminação bacteriana (FIGURA 9).

Figura 8 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida.

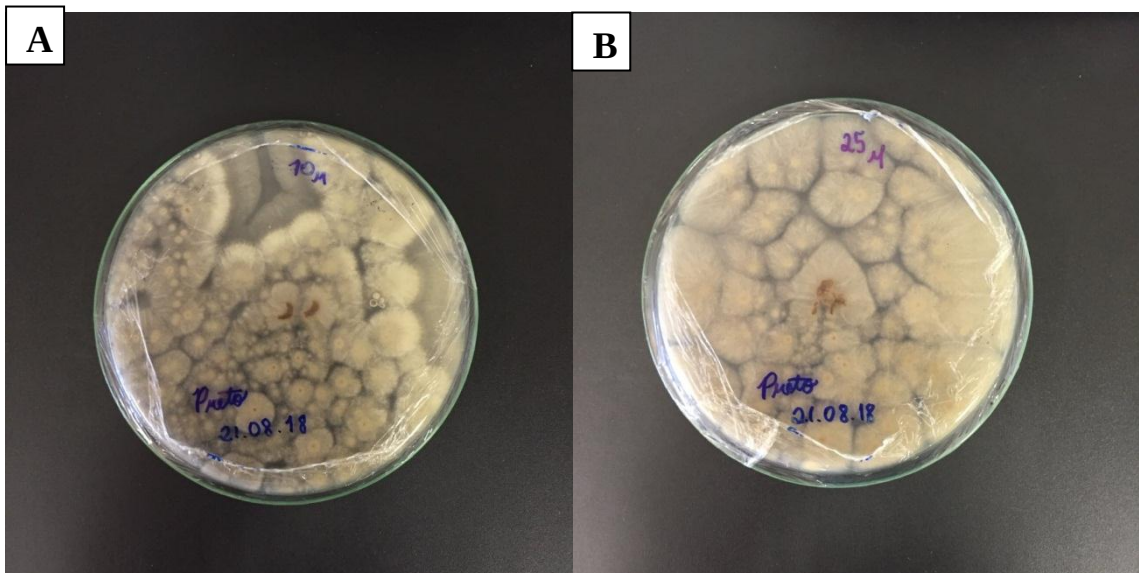
A) Placa com concentração de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e de Solução Fungicida. C) Placa com concentração de 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.



(Fonte: Autoria própria, 2018).

Figura 9 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida.

A) Placa com concentração de 0,0005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,00125 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.

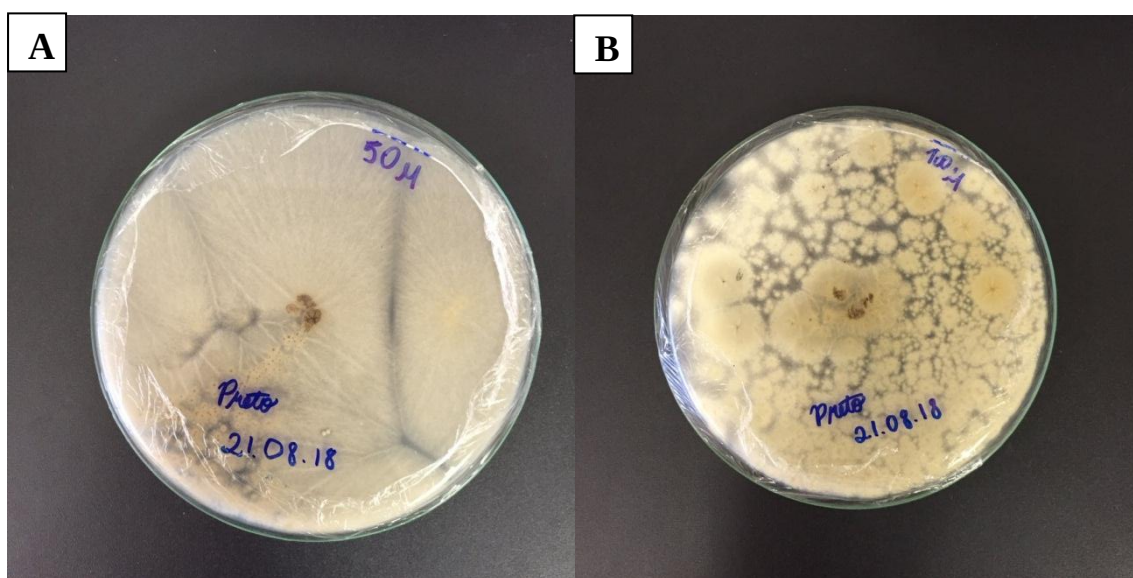


(Fonte: Autoria própria, 2018).

Assim como nos testes dos fungos de coloração branca, nos de coloração escura as concentrações a partir de 0,0025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ os fungos apresentaram uma esporulação mais uniforme em relação ao crescimento das colônias de outras concentrações (FIGURA 10-A). As concentrações de 0,005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ apresentaram uma esporulação mais escassa, favorecendo a verificação dos pontos de formação de colônia e não demonstrando uma uniformidade superficial, assim como nos fungos de coloração branca, isso pode demonstrar um início de dificuldade de crescimento e desenvolvimento, devido à ação da solução fungicida (FIGURA 10-B).

Figura 10 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida.

A) Placa com concentração de 0,0025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,005 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.

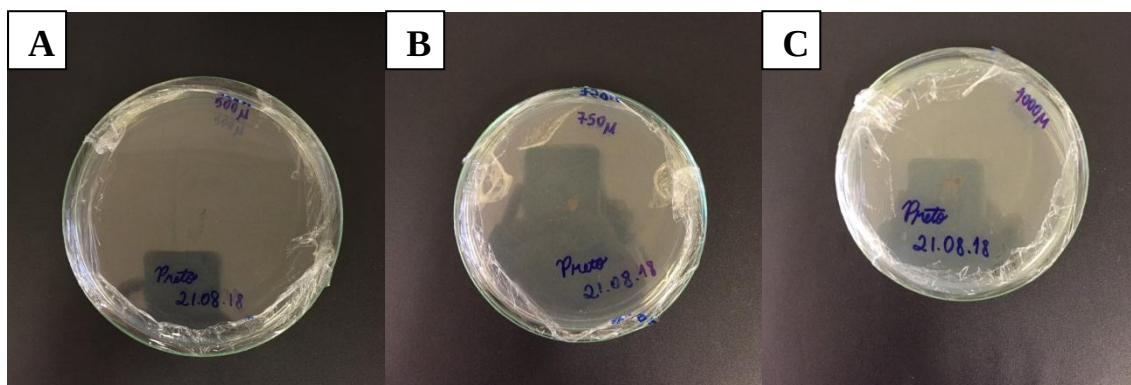


(Fonte: Autoria própria, 2018).

Também se assemelhando aos resultados obtidos nos fungos de coloração branca, as concentrações mais elevadas de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ tiveram ação antifúngica comprovadas por não apresentar crescimento algum nas placas (FIGURAS 11).

Figura 11 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de Solução Fungicida.

A) Placa com concentração de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, de Solução Fungicida. B) Placa com concentração de 0,0375 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ e de Solução Fungicida. C) Placa com concentração de 0,05 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ de Solução Fungicida.



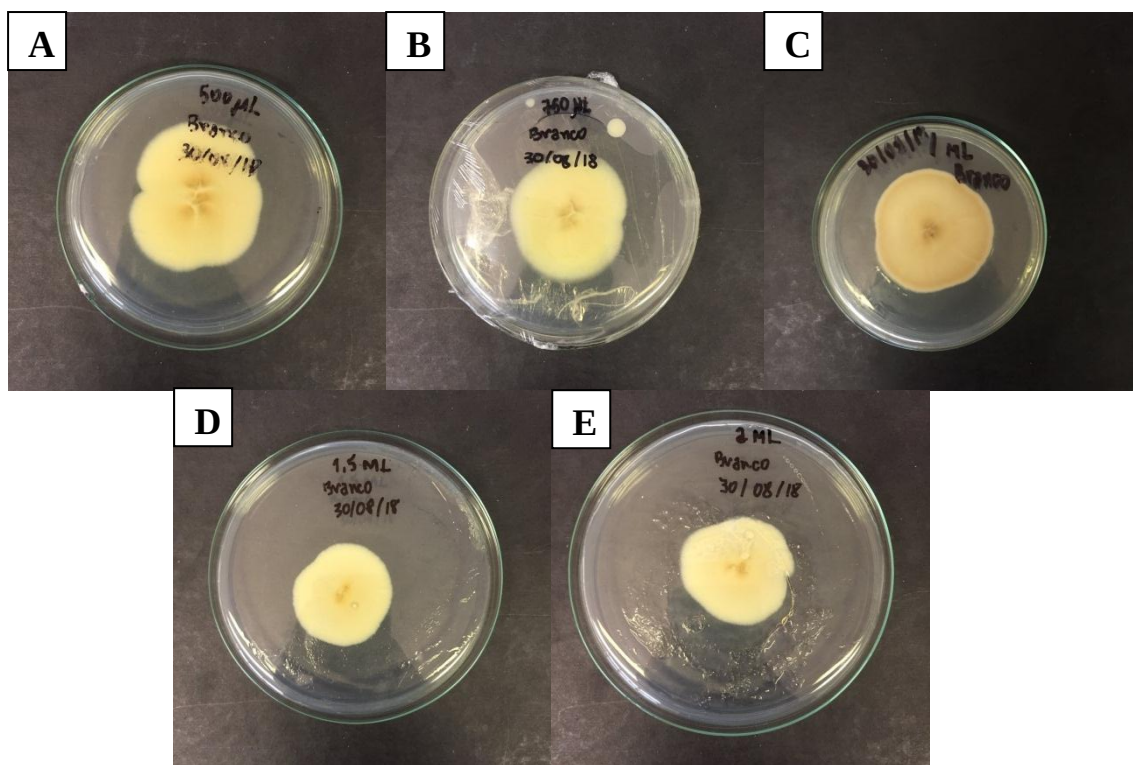
(Fonte: Autoria própria, 2018).

Segundo Galhardo (2012) biocidas a base de isotiazolinonas são os mais empregados na indústria pela sua eficácia, uma vez que é capaz de efetuar o controle da contaminação por bactérias, fungos e algas, fato não muito comum entre os biocidas mais utilizados. Além disso, uma das classes de biocidas a base de isotiazolinonas também atende aos requisitos ambientais, o 4,5 isotiazolin-3-ona (DCOIT) é o principal. Galhardo (2012) também apresenta o produto mais utilizado como sendo uma mistura, na proporção de 3:1 de 5-cloro-2-metil-4-isotiazoli-3-ona (CMIT) e 2-metil-4-isotiazoli-3-ona (MIT), que possui a concentração mínima de inibição de 0,47 mg/kg para um fungo e 0,76 mg/kg para outro. Dessa forma, percebe-se a eficiência da ação da solução fungicida em concentrações a partir de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$. Como a solução F se constitui de diversos componentes químicos, estudos futuros analisarão a eficácia individual de cada um deles, e suas devidas concentrações na ação antifúngica.

5.3. TESTE DE INIBIÇÃO FÚNGICA POR CONCENTRAÇÕES DE ÁGUA COLOIDAL

Após a verificação da solução fungicida quanto à ação antifúngica, uma segunda alternativa de biocida foi testada. A prata pura foi pesada antes e depois da ionização, para verificar a diferença de peso e consequente transferência de íons pra água. O peso inicial dos dois eletrodos era de 14,0924 g e após a ionização passou a ser 14,0923 g. A massa dos íons positivos de prata é relativamente muito baixa e não altera tanto o peso dos eletrodos. Em relação aos fungos de coloração branca, todas as concentrações 0,025 µl/ml, 0,0375 µl/ml, 0,05 µl/ml, 0,075 µl/ml e 0,1 µl/ml os fungos se desenvolveram (FIGURA 12), apresentando os melhores desenvolvimentos de colônias em relação a solução fungicida.

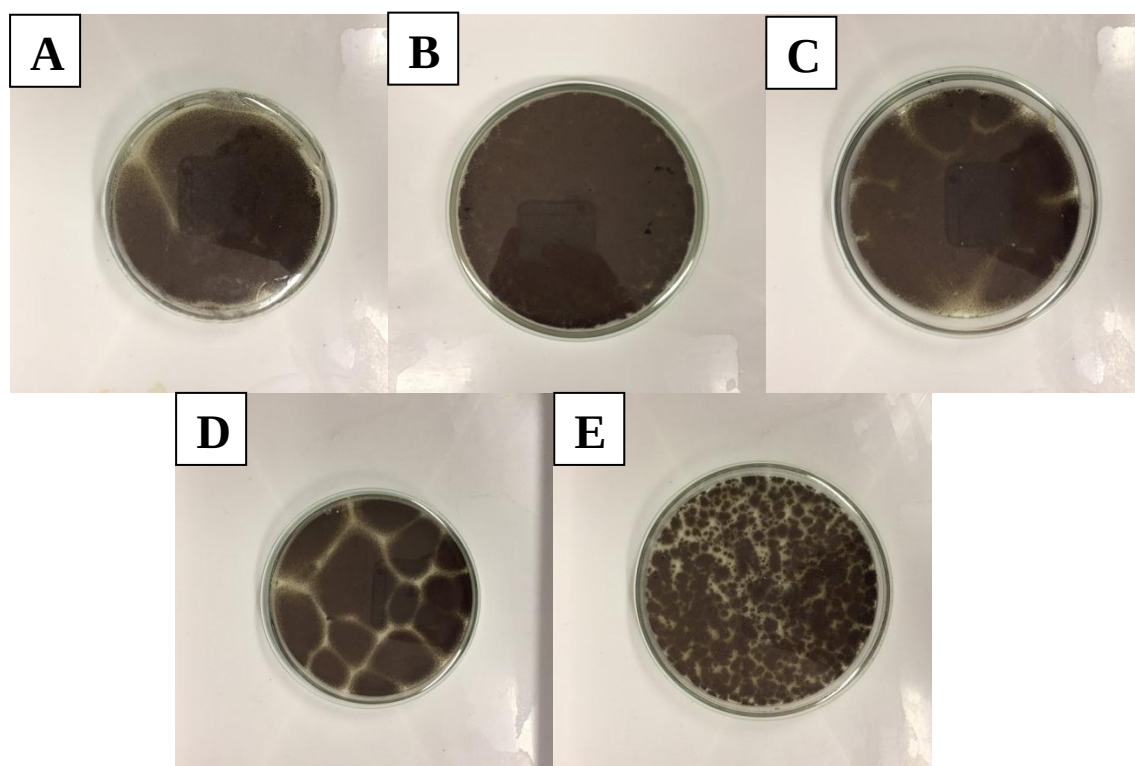
Figura 12 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de água coloidal. A) Placa com concentração de 0,025 µl/ml. B) Placa com concentração de 0,0375 µl/ml. C) Placa com concentração 0,05 µl/ml. D) Placa com concentração 0,075 µl/ml. E) Placa com concentração 0,1 µl/ml.



(Fonte: Autoria própria, 2018).

Nas placas de coloração escura, a ação da água coloidal também não atingiu a eficiência esperada na ação antifúngica (FIGURA 13). As placas com concentrações variadas demonstraram crescimento das colônias sem a interferência bacteriana e sua coloração forte, escura. Pode-se observar que a colônia não cresce de forma uniforme com o crescimento da concentração, o que indica menor capacidade de se desenvolver. Essa característica fica mais evidente nas placas contendo 0,05 $\mu\text{l/ml}$, 0,075 $\mu\text{l/ml}$ e 0,1 $\mu\text{l/ml}$ onde há maiores vales de meio de cultivo separando as colônias (FIGURA 13-C/D/E) e formação de maior número de pequenas colônias espalhadas no meio de cultivo (FIGURA 13-E).

Figura 13 – Teste de crescimento fúngico em meio sólido BDA + de água coloidal. A) Placa com concentração de 0,025 $\mu\text{l/ml}$. B) Placa com concentração de 0,0375 $\mu\text{l/ml}$. C) Placa com concentração 0,05 $\mu\text{l/ml}$. D) Placa com concentração 0,075 $\mu\text{l/ml}$. E) Placa com concentração 0,1 $\mu\text{l/ml}$.



(Fonte: Autoria própria, 2018).

De acordo com Freire (2018) o efeito da água coloidal negativo pode ter sido devido à concentração baixa de íons na síntese da água. Dessa maneira, estudos futuros poderão realizar a síntese da água coloidal numa maior concentração de íons prata.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desse estudo foi possível analisar a ação antifúngica de dois produtos que podem servir de alternativas para o mercado de biocidas em construção civil, uma vez que os produtos já existentes possuem muitas vezes uma alta lixiviação e pode ser prejudiciais à saúde humana. A solução fungicida desenvolvida pelo laboratório possui elevada eficácia a partir de concentrações de 0,025 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$, atuando num amplo espectro dos biocidas, sendo eficaz na ação contra microrganismos. Já a água coloidal, possivelmente por possuir uma concentração de íons metálicos de prata relativamente baixa, não conseguiu ter ação antifúngica eficaz, podendo demonstrar resultados promissores para pesquisa futuras em que haja uma maior concentração de íons prata.

REFERÊNCIAS

ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPHILE, J. A. Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM. Revista UNINGÁ Review - Vol.21,nº 1, pp.55-59 (Jan – Mar 2015).

ALLSOPP, D.; SEAL, K. J.; GAYLARD, C. C. **Introduction to Biodeterioation**. Second Edition. Cambridge University Press. United States. 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**. 2008. 91 f. Tese (Mestrado) - Curso de Construção Civil, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

COELHO, M. de B. **Nanobiotecnologia e o controle de pragas e doenças**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-corte/busca-de-noticias/-/noticia/21133296/artigo-nanobiotecnologia-e-o-controle-de-pragas-e-doencas>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

COSTA, L. C. et al. Resinas poliméricas reticuladas com ação biocida: atual estado da arte. **Polímeros**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.414-423, ago. FapUNIFESP (SciELO). 2015.

Fazenda, J. M. R. (Coord.) **Tintas e Vernizes: ciência e tecnologia**. 2ª edicao.Vol1. ABRAFATI, São Paulo, 1995.

FIÓRIO, C. E. **Mofo nos domicílios dos recém-nascidos de uma coorte na cidade de São Paulo, Brasil - Projeto Chiado**. 2009. 101 f. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Usp, São Paulo, 2009.

GALHARDO, C. M. **Biocidas em preparações pigmentárias: Biodeterioração de tintas e a importância do uso de biocidas**. 2012. 36 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

LAPA, J. S. **PATOLOGIA, RECUPERAÇÃO E REPARO DAS ESTRUTURAS DE CONCRETO**. 2008. 56 f. Monografia (Especialização) - Curso de Construção Civil,

Departamento de Engenharia de Materiais e Construção, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

MARTINS, O. de A. **Fungos anemófilos e leveduras isolados em ambientes de laboratórios de microbiologia em Instituição de Ensino Superior**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

NOGUEIRA, A. F. PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E OURO: UM MÉTODO SIMPLES PARA A INTRODUÇÃO DA NANOCIÊNCIA EM LABORATÓRIO DE ENSINO. **Quim. Nova**, Campinas - Sp, v. 35, n. 9, p.1872-1878, jul. 2012.

OLIVEIRA, J. F. A. **FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM ANTIBIÓTICOS β -LACTÂMICOS: UMA ALTERNATIVA PARA RESISTÊNCIA BACTERIANA**. 2014. 174 f. Tese (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

PEREIRA, L. M. **AVALIAÇÃO DAS PATOLOGIAS E BIODETERIORAÇÃO NA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFSM**. 2012. 126 f. Tese (Mestrado) - Curso de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rs, Brasil, 2012.

SHIRAKAWA, M. A; JOHN, V. M; CINCOTTO, M. A; GAMBALE, W. **A biodeterioração de materiais da construção civil**. Revista de tecnologia da construção – Técnica, v.5, n.33, p. 36-39. São Paulo. 1998.

SHIRAKAWA, M.a. et al. The development of a method to evaluate bioreceptivity of indoor mortar plastering to fungal growth. **Elsevier: International Biodeterioration & Biodegradation**, São Paulo, v. 51, n. 1, p.83-92, out. 2003.

SILVA, F. H. **BIODETERIORAÇÃO DE TINTAS LÁTEX COM E SEM BIOCIDA, EXPOSTAS AO MEIO AMBIENTE EXTERNO E EXPERIMENTO ACELERADO**. 2009. 166 f. Tese (Mestrado) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

SILVA, C. J. A. DA. A IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS NA BIOTECNOLOGIA. **Cadernos de Graduação: Ciências biológicas e da saúde**, Recife, v. 2, n. 3, p.49-66, jul. 2016.

SOUZA, R. B. de et al. INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS ATMOSFÉRICAS NA DEGRADAÇÃO DOS MATERIAIS DA CONSTRUÇÃO CIVIL. **Reec - Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.1-19, 31 ago. Universidade Federal de Goiás. 2016.

TORTORA, G.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. Microbiologia. 8ª Ed. – São Paulo: Editora Atheneu, 2012.