



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

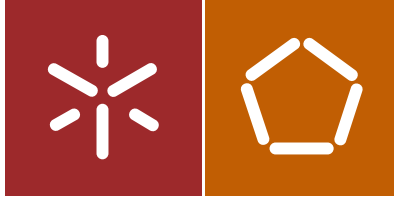
Alexandre José Alves Jerónimo | USO DE NANOMATERIAIS NA PREVENÇÃO DE FUNGOS EM PAREDES E TETOS

Alexandre José Alves Jerónimo

USO DE NANOMATERIAIS NA PREVENÇÃO
DE FUNGOS EM PAREDES E TETOS

UMinho | 2020

março de 2020



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Alexandre José Alves Jerónimo

USO DE NANOMATERIAIS NA PREVENÇÃO
DE FUNGOS EM PAREDES E TETOS

Tese de Doutoramento
Doutoramento em Engenharia Civil

Trabalho efetuado sob a orientação de
Professor Doutor José Barroso De Aguiar
Professor Doutor Nelson Lima

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.



Atribuição- Não Comercial-Sem Derivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

AGRADECIMENTOS

“O essencial é invisível aos olhos...”

in O Pequeno Príncipe de Antoine de Saint-Exupéry

“O sonho comanda a vida...”

Os últimos três anos foram incríveis, espero com bastante ansiedade a conclusão deste ciclo e certamente, será o início de outro. Aprender será sempre o meu modo de vida.

Serviu também para me aproximar de Deus...

Muitas pessoas se cruzaram no meu caminho e de uma forma ou de outra me ajudaram nesta caminhada, a todos, o meu muito obrigado.

Individualmente quero agradecer:

Ao Departamento de Engenharia Civil da Universidade do Minho, pela oportunidade.

Ao meu orientador Professor José Luis Barroso de Aguiar que sempre me ajudou, esteve presente e insistiu em seguir a linha orientadora traçada para esta investigação. Mesmo sendo um tema bastante arrojado dado a sua característica multidisciplinar e uma área desconhecida sempre senti a sua presença.

Ao meu co-orientador Professor Nelson Lima pela sua paciência e disponibilidade inicial. Conseguiu mais um apaixonado pelo “*reino fungi*” e com o decorrer da investigação foi fundamental para os resultados obtidos.

As amizades ficarão e este trabalho também é vosso.

A todos os professores, técnicos de laboratório em especial à Célia Soares e Carla Santos da Micoteca da Universidade do Minho (MUM). Às empresas Quimidroga na pessoa de Maria do Carmo Ferreira; Amorim Cork Composites na pessoa de Vitor Monteiro e Nogueira – Materias de Construção pelas amostras de materiais fornecidas para este trabalho.

Aos meus pais que são os responsáveis pelo meu gosto em descobrir, experimentar e aprender sempre mais. Obrigado por estarem sempre ao meu lado.

À Maria José ao Alexandre e à Maria João que são a alegria dos meus dias. Ao meu irmão, aos meus sogros e a toda família por todo o apoio e acreditarem sempre em mim.

A todos sem exceção que fizeram parte desta jornada da minha vida, muito obrigado por tudo!

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração da presente tese. Confirmando que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri à prática de plágio ou a qualquer forma de falsificação de resultados.

Mais declaro que tomei conhecimento integral do Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Universidade do Minho: ____ / ____ / _____

Nome completo: Alexandre José Alves Jerónimo

Assinatura : _____

RESUMO

Os revestimentos à base de cal entraram em desuso com o aparecimento do cimento, um ligante mais resistente e mais fácil de aplicar. No entanto, as argamassas de cimento provaram ser rígidas para substituir as argamassas de cal. Na reabilitação, o uso de argamassas à base de cal tem sido mais frequente. Com o aumento deste tipo de obras espera-se aumentar a aplicação deste tipo de revestimentos.

Os fungos desenvolvem-se na superfície, no interior de poros e fissuras de paredes e tetos e têm muita influência na degradação da qualidade dos edifícios e do seu ambiente interior, além de problemas de higiene e estéticos, também podem causar problemas de alergias e respiratórios.

Este trabalho teve como principal objetivo desenvolver argamassas de cal hidráulica incorporando nano e micro aditivos com propriedades antifúngicas. Foi analisado o desenvolvimento de fungos em argamassas aditivadas de nano TiO_2 e micro grânulos de cortiça. As características físicas e mecânicas também foram verificadas.

Foram isolados fungos do género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria* existentes em diversos edifícios de habitação da zona norte de Portugal. A sua caracterização morfológica e molecular permitiu a sua identificação e caracterização e conhecer as condições ótimas para o seu desenvolvimento. Para os ensaios de crescimento acelerado de fungos em laboratório usou-se o fungo *C.halotolerans*.

Desenvolveram-se diferentes composições de argamassas onde a quantidade de nano TiO_2 e micro grânulos de cortiça foi variada. Observaram-se diferenças significativas nas propriedades como trabalhabilidade, resistência à compressão e flexão.

Verificou-se um bom desempenho das propriedades antifúngicas de argamassas nano-aditivadas com TiO_2 e micro grânulos de cortiça. Estes resultados podem ser um ponto de partida para uma transição das atuais proteções antifúngicas para novas proteções antifúngicas usando nano e micro aditivos, permitindo melhorar a qualidade das construções, a saúde dos utilizadores e a qualidade ambiental.

Palavras chave: Argamassas; Nano e micro aditivos; Antifúngico; Porosidade.

ABSTRACT

The use of lime-based coatings came into disuse with the appearance of cement, a stronger and easier to apply binder. However, cement mortars have proven to be rigid to replace lime mortars. In rehabilitation, the use of lime-based mortars has been more frequent. With the increase of this type of works it is expected to increase the application of this type of coatings.

Fungi develop on the surface, inside pores and cracks of walls and ceilings and play a very important role in the quality degradation of the buildings and their interior environment as well as hygiene and aesthetic issues, can also cause allergy and respiratory problems.

The main objective of this work was to develop hydraulic lime mortars incorporating nano-additives with antifungal properties. The development of fungi in mortars added with nano TiO_2 and micro cork granules was analyzed. Physical and mechanical characteristics were also verified.

Fungi of the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Alternaria* were isolated in several residential buildings in the north of Portugal. The morphological and molecular characterization of the fungi were done with the objective of identifying and characterizing the existing fungi. With these results and knowing the optimal conditions for its development. For the tests of accelerated growth of fungi in laboratory using the fungus *C. halotolerans*.

Different mortar compositions were developed where the amount of nano TiO_2 and micro cork granules was varied. Significant differences in properties such as workability, compressive and flexure strengths were observed.

The antifungal properties of nano-additive mortars with TiO_2 and cork were found to perform well . The results obtained can be a starting point for a transition from the current antifungal protections to new antifungal protections using nano-additives, allowing to improve the quality of the constructions, the health of the users and the environmental quality.

Keywords: Mortars; Nano and micro additives; Antifungal; Porosity.

AGRADECIMENTOS	III
DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XV
1 ESTADO DA ARTE	1
1.1 INTRODUÇÃO	2
1.2 PATOLOGIAS EM EDIFÍCIOS	3
1.3 CONSEQUÊNCIAS DAS PATOLOGIAS	9
1.4 DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS E FATORES FÍSICOS (HUMIDADE, TEMPERATURA E VENTILAÇÃO)	11
1.5 REABILITAÇÃO DE EDIFÍCIOS	14
1.6 APLICAÇÃO DE NANOTECNOLOGIA NA PREVENÇÃO E REMOÇÃO DE FUNGOS	17
1.7 INDÚSTRIA DA CORTIÇA	22
2 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS EXISTENTES EM EDIFÍCIOS DE HABITAÇÃO NA ZONA NORTE DE PORTUGAL	23
2.1 INTRODUÇÃO	24
2.2 RECOLHA DAS AMOSTRAS	25
2.3 ANÁLISE AO MICROSCÓPIO ELETRÓNICO DE VARRIMENTO	27
2.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FUNGOS ISOLADOS	30
2.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE FUNGOS	35
3 PROCEDIMENTOS DE ENSAIO E MATERIAIS UTILIZADOS	45
3.1 INTRODUÇÃO	46
3.2 PROCEDIMENTOS DE ENSAIO	46

3.2.1	<i>Caracterização das matérias-primas</i>	47
3.2.2	<i>Propriedades físicas das argamassas</i>	53
3.2.3	<i>Propriedades mecânicas das argamassas</i>	55
3.3	MATERIAIS USADOS NA INVESTIGAÇÃO	57
3.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
4	ARGAMASSAS DE CAL COM INCORPORAÇÃO DE NANO TiO₂	64
4.1	INTRODUÇÃO	65
4.2	COMPOSIÇÃO E FABRICAÇÃO	66
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4.3.1	<i>Análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e de gás hélio</i>	67
4.3.2	<i>Trabalhabilidade</i>	71
4.3.3	<i>Comportamento à flexão e à compressão</i>	72
4.3.4	<i>Crescimento acelerado de fungos</i>	75
4.4	CONCLUSÃO	84
5	ARGAMASSAS DE CAL COM INCORPORAÇÃO DE MICRO GRÂNULOS DE CORTIÇA	85
5.1	INTRODUÇÃO	86
5.2	COMPOSIÇÃO E FABRICAÇÃO	86
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
5.3.1	<i>Análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e de gás hélio</i>	87
5.3.2	<i>Trabalhabilidade</i>	90
5.3.3	<i>Comportamento à flexão e à compressão</i>	91
5.3.4	<i>Crescimento acelerado de fungos</i>	94
5.4	CONCLUSÃO	100
6	CONCLUSÃO	103
6.1	CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
6.2	TRABALHOS FUTUROS	106
7	REFERÊNCIAS	107

Índice de figuras

Figura 1-1 - Ligação entre a natureza dos agentes de deterioração e as patologias nos edifícios.	7
Figura 1-2 - Distribuição dos sinistros em função das principais patologias (Observatoire de la Qualité de la Construction, 2016).	7
Figura 1-3 - Incidência das patologias (Rodrigues et al., 2007).	8
Figura 1-4 - Causas das patologias (Rodrigues et al., 2007).	9
Figura 1-5 - Evolução de custos (Sitter, 1984).	10
Figura 1-6 – Exemplos de consequências da não correção das patologias em edifícios.	10
Figura 1-7 - Síndrome do edifício doente (Salud Pasion, 2017).	14
Figura 1-8 - Procedimento de reparação de paredes e tetos com fungos.	15
Figura 1-9 – Evolução do crescimento de fungos em nanofibras PVA com iões de cobre. a) aos dois dias; b) aos 4 dias (retirado de Ráková et al. (2013).	20
Figura 1-10 - Crescimento de fungos em nanofibras (PVA) com iões de prata aos 4 dias. a) <i>Aspergillus niger</i> ; b) <i>Aspergillus niger</i> e <i>Penicillium</i> ; c) <i>Aspergillus niger</i> e <i>Alternaria alternata</i> (retirado de Ráková et al. (2013).	20
Figura 2-1 - Fluxograma usado na identificação dos fungos.	26
Figura 2-2 - Locais de recolha de amostras de fungos.	26
Figura 2-3 - Parede e teto do quarto: local de recolha de amostras de fungos na moradia em Sendim.	27
Figura 2-4 – Imagens obtidas no microscópio eletrónico de varrimento (ampliação 5000 x a), c) e d) e 10.000 x b)) das amostras: a) edifício com mais de 35 anos; b) edifício com cerca de 20 anos; c) edifício com cerca de 10 anos; d) edifício com cerca de 25 anos	28
Figura 2-5 – Análise EDS nos pontos Z1 e Z2.	29
Figura 2-6 - Espectro EDS no ponto Z1.	29
Figura 2-7 – Espectro EDS no ponto Z2.	30
Figura 2-8 – Esquema da inoculação de placas em meio de cultura.	31
Figura 2-9 – Exemplo de preparação do meio de cultura DRBC.	32

Figura 2-10 - Crescimento dos fungos em meio DRBC - 3° dia – amostra 10 (edifício local IV).....	32
Figura 2-11 - Crescimento de fungos em meio DRBC - 3° dia - amostra 11 (edifício local IV)	32
Figura 2-12 - Crescimento dos fungos em meio MEA - 6° dia - amostra 10 (edifício local IV)	32
Figura 2-13 - Crescimento dos fungos em meio MEA - 6° dia - amostra 5 (edifício local II).....	32
Figura 2-14 - Esquema de preparação de lâminas com amostras dos fungos e sua observação ao microscópio	33
Figura 2-15 - Estrutura de fungo do género <i>Aspergillus</i>	35
Figura 2-16 - Estrutura de fungo do género <i>Penicillium</i>	35
Figura 2-17 - Estrutura de fungo do género <i>Cladosporium</i>	35
Figura 2-18 - Estrutura de fungo do género <i>Alternaria</i>	35
Figura 2-19 - Homogeneizador FastPrep-24™ Classic Instrument.....	36
Figura 2-20 –Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 5B- <i>Cladosporium halotolerans</i>	38
Figura 2-21 - Sequenciação obtida para a amostra 5B - <i>Cladosporium halotolerans</i>	38
Figura 2-22 - BLAST com os resultados da pesquisa após a introdução da sequência da amostra 5B.....	39
Figura 2-23 - Sequências com alinhamentos significativos.	40
Figura 2-24 - Alinhamento com o <i>Cladosporium halotolerans</i>	40
Figura 2-25 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 2B – <i>Aspergillus jensenii</i>	41
Figura 2-26 - Sequenciação obtida para a amostra 2B – <i>Aspergillus jensenii</i>	41
Figura 2-27 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 6B – <i>Penicillium chrysogenum</i>	42
Figura 2-28 - Sequenciação obtida para a amostra 6B – <i>Penicillium chrysogenum</i>	42
Figura 2-29 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 12B – <i>Alternaria sect. Alternaria</i>	42
Figura 2-30 - Sequenciação obtida para a amostra 12B – <i>Alternaria sect. Alternaria</i>	43
Figura 2-31 – Etapas da identificação molecular de fungos.	43
Figura 2-32 - Estrutura de fungo do género <i>C. halotolerans</i>	44
Figura 3-1 - Microscópio eletrônico no SEMAT	50

Figura 3-2 - Microscópio eletrónico idêntico ao do Laboratório de Micologia Aplicada da Micoteca da Universidade do Minho (Paralab, 2019).....	51
Figura 3-3 - Difração de raios X (XRD) (Semat, 2019).....	53
Figura 3-4 – Ensaio de trabalhabilidade	54
Figura 3-5 - Ensaio à flexão.....	56
Figura 3-6 - Ensaio à compressão.....	57
Figura 3-7 - Curva granulométrica da areia.	58
Figura 3-8 - Difratoograma de raio X (XRD) da amostra de TiO ₂ - P25 fornecida pela Evonik.	59
Figura 3-9 – Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da amostra de cortiça em (+)	60
Figura 3-10 - Análise química da amostra de cortiça no ponto (+).....	61
Figura 3-11 - Difratoograma de raios X (XRD) da amostra de micro grânulos de cortiça.	61
Figura 3-12 – Histograma da análise granulométrica da amostra de cortiça.	63
Figura 4-1 – Esquema simplificado da fotocatalise heterogénea do TiO ₂ adaptado de (Ferreira, 2005)	66
Figura 4-2 - Percentagem de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias.....	68
Figura 4-3 – Quantidade de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias	68
Figura 4-4 – Sumário de porosidade (Jerónimo, et al., 2019)	69
Figura 4-5 - Porosidade das argamassas aos 180 dias (Jerónimo, et al., 2018)	70
Figura 4-6 - Percentagem de superplastificante em função da percentagem de nano TiO ₂	72
Figura 4-7 - Comportamento à compressão das argamassas aos 28 dias	73
Figura 4-8 - Comportamento à flexão das argamassas aos 28 dias.....	74
Figura 4-9 – Preparação das amostras (colocação das argamassas em tijolos).....	75
Figura 4-10 - Concentração de esporos <i>C. halotolerans</i>	76
Figura 4-11 - Pulverização dos esporos nas amostras	76
Figura 4-12 – Evolução do fungo <i>C. halotolerans</i> nas placas Petri aos 3 dias.....	76
Figura 4-13 - Distribuição de cor da energia espectral das lâmpadas	77
Figura 4-14 - Amostras na câmara climática aos 49 dias.....	77
Figura 4-15 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x)	78

Figura 4-16 – MEB.....	79
Figura 4-17 – Câmara climática após a pulverização de MEB aos 49 dias.....	79
Figura 4-18 - Amostra A0 _{0%TiO2(C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x).....	80
Figura 4-19 - Amostra A0 _{0%TiO2(controlo)} aos 49 dias (3000x).....	80
Figura 4-20 - Amostra A2 _{4%TiO2(C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x).....	81
Figura 4-21 - Amostra A0 _{0%TiO2(C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x).....	82
Figura 4-22 - Amostra A1 _{2%TiO2(C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x).....	82
Figura 4-23 - Amostra A2 _{4%TiO2(controlo)} aos 118 dias (1000x).....	83
Figura 4-24 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x)	83
Figura 4-25 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x).	84
Figura 4-26 – Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x).	84
Figura 5-1 - Percentagem de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias	88
Figura 5-2 – Quantidade de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias	88
Figura 5-3 - Porosidade das argamassas aos 180 dias.....	89
Figura 5-4 - Percentagem de superplastificante em função da percentagem de micro grânulos de cortiça.....	91
Figura 5-5 - Comportamento à compressão das argamassas aos 28 dias.....	92
Figura 5-6 - Comportamento à flexão das argamassas aos 28 dias.....	93
Figura 5-7 - Amostra B0 _{0% CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x)	95
Figura 5-8 - Amostra B0 _{0%CORTIÇA (controlo)} aos 49 dias (3000x).....	96
Figura 5-9 - Amostra B1 _{2%CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x).....	96
Figura 5-10 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x)	97
Figura 5-11 - Amostra B2 _{4% CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x)	97
Figura 5-12 - Amostra B1 _{2%CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x)	98
Figura 5-13 - Amostra B2 _{4% CORTIÇA (controlo)} aos 118 dias (1000x)	98
Figura 5-14 - Visualização da amostra B1 _{2%CORTIÇA (controlo)} contaminada com <i>Aspergillus</i> (3000x) 99	
Figura 5-15 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x)	99
Figura 5-16 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (1000x).	100
Figura 5-17 – Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x).	101
Figura 5-18 - Visualização das amostras A1 _{2%TiO2} e B2 _{4%CORTIÇA} aos 118 dias (1000x).....	102

Índice de tabelas

Tabela 1-2 - Agentes de deterioração de edifícios com origem interna (adaptado de (Lichtenstein, 1986).....	6
Tabela 1-3 - Características dos biocidas carbendazim e octiliosotiazolinona (Paulus, 2005).	17
Tabela 2-1 - Locais de recolha dos fungos.....	27
Tabela 2-2 - Preparação dos meios de cultura.....	31
Tabela 2-3 – Componentes e materiais incluídos no kit Fast ADN.....	36
Tabela 3-1 - Identificação química da amostra de cortiça no ponto (+).	60
Tabela 3-2 – Condições técnicas dos ensaios realizados.	62
Tabela 3-3 - Análise granulométrica da amostra de cortiça.	62
Tabela 4-1- Formulação das argamassas (kg/m ³).	67
Tabela 4-2 - Resultados de porosidade das argamassas	70
Tabela 4-3- Classificação das argamassas de acordo com a especificação NP EN 998- 1:2010	74
Tabela 4-4- Classificação das argamassas segundo a resistência à compressão	74
Tabela 4-5 - Classificação do desenvolvimento do <i>C. halotolerans</i> na superfície das amostras aos 49 dias	81
Tabela 4-6 - Classificação do desenvolvimento do <i>C. halotolerans</i> na superfície das amostras aos 118 dias	83
Tabela 5-1- Formulação das argamassas (kg/m ³).	87
Tabela 5-2 - Resultados de porosidade das argamassas aos 180 dias.	90
Tabela 5-3- Classificação das argamassas de acordo com a especificação NP EN 998- 1:2010	93
Tabela 5-4- Classificação das argamassas segundo a resistência à compressão	93
Tabela 5-5 - Classificação do desenvolvimento do <i>C. halotolerans</i> na superfície das amostras aos 49 dias	96

Tabela 5-6 - Classificação do desenvolvimento do <i>C. halotolerans</i> na superfície das amostras aos 118 dias.....	100
Tabela 5-7 – Comparação da classificação do desenvolvimento do <i>C. halotolerans</i> na superfície das amostras aos 118 dias entre as argamassas	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - percentagem

μl – microlitro

μm – micrómetro

2C2T – Laboratório do Centro de Ciência Textil da Universidade do Minho

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AgNPs – nanopartículas de prata

APCOR – Associação Portuguesa de Cortiça

APT – Associação Portuguesa de Tintas

AQC – Agence Qualité Construction – França

AVAC – Aquecimento, ventilação e ar condicionado

BRE – Building Research Establishment – Inglaterra

CEN – European Committee for Sandardization

CSTS – Centre Scientifique et Technique de la Construction – Bélgica

DGS – Direção Geral de Saúde

DRBC – Meio de cultura (Agar Dicloram Rosa Bengala Cloranfenicol)

EDS – Espectroscopia de raios X por dispersão de energia

eV – eletrão-volt

F – Carga de rotura

g – grama

IPQ – Instituto Português da Qualidade

kg/m^3 – quilograma por metro cúbico

kV – quilovolt

kW – quilowatt

LEST – Laboratório de Estruturas do Departamento de Engenharia Civil da Universidade do Minho

LNEC – Laboratório Nacional de Engenharia Civil

m/s – metro por segundo

MEA – Meio de cultura (Malt Extract Agar)

MEV – Microscópio eletrônico de varrimento

ml – mililitro

MUM – Micoteca da Universidade do Minho

N/s – newton por segundo

nm – nanómetros

°C – Grau celcius

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PDA – Meio de cultura (Potato Dextrose Agar)

PVA – poli(álcool vinílico)

R_c – Resistência à compressão

R_f – Resistência à flexão

SEMAT/UM – Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho

SP - Superplastificante

TiO₂ – Dióxido de titânio

UV – radiação ultravioleta

VOC's – Compostos orgânicos voláteis

XRD – Difração de raios X

γ – Massa volúmica

1 ESTADO DA ARTE

1.1 Introdução

A existência de microrganismos nos edifícios causa inúmeros problemas, quer para os utilizadores quer para a durabilidade dos edifícios. No caso dos utilizadores as alergias e problemas respiratórios são os mais correntes. As manifestações alérgicas são extremamente frequentes na população em geral, não sendo restritas do ambiente interior dos edifícios. Mas é indiscutível que a presença de grande número de fungos (entre os quais *Aspergillus*, *Candida* e *Alternaria*) constitui uma das grandes causas das manifestações alérgicas (Filipe, 2001).

Para além dos problemas de saúde, os fungos visualmente são muito inestéticos, pois a sua proliferação manifesta-se através de manchas escuras que acompanham a degradação dos rebocos e pinturas obrigando inúmeras vezes à reparação e pintura desses locais. Os odores a bolor, ou mofo, originados pelos compostos orgânicos voláteis (VOC's) que libertam, associado à humidade, tornam os locais com deficientes condições de habitabilidade.

Em Portugal existe grande dificuldade em prevenir o aparecimento e remoção de fungos nos edifícios. Os erros de conceção e construção associados a uma baixa ventilação dos edifícios estão entre as principais causas. Na remoção e reabilitação de paredes e tetos verifica-se pouca eficácia dos produtos antifúngicos existentes, ou uma eficácia com durabilidade reduzida.

Cerca de 80% das patologias dos edifícios estão associadas a fissuras e humidade (Observatoire de la Qualité de la Construction, 2016). O excesso de humidade torna o meio propício para o desenvolvimento de microrganismos. Nos países mais desenvolvidos, o futuro da construção passa em grande parte pela reabilitação das construções existentes. Uma das áreas também com grande peso será a manutenção de edifícios. O custo da correção de patologias é elevado, comparado com a adoção de medidas preventivas em fases anteriores do processo construtivo.

A melhoria da qualidade do ar interior das edificações poderá ter um grande avanço com o melhor conhecimento dos microrganismos. Os recentes desenvolvimentos em nanotecnologia vieram contribuir para o desenvolvimento de soluções ecoeficientes para a construção ou reabilitação de edifícios. Assim as limitações existentes nos materiais de construção são quebradas com a introdução da nanotecnologia como potenciadora de novos produtos com novas funcionalidades.

O trabalho experimental efetuado para a presente tese incluiu três fases. Na primeira fase, procedeu-se a recolha dos fungos, identificação e definiram-se os ensaios a efetuar assim como qual o fungo a usar nos ensaios posteriores. Numa segunda fase, executaram-se os ensaios que incidiram essencialmente na avaliação do crescimento de fungos. E na terceira e última fase, analisaram-se os resultados de forma a identificar que materiais são mais eficazes na prevenção do crescimento de fungos.

1.2 Patologias em edifícios

Atualmente, os edifícios começam a ser analisados como um todo. Os problemas de mau desempenho começam a ser entendidos dentro de um contexto global e não de forma independente, como anteriormente (Lichtenstein, 1986; Freitas et al., 2007).

Devido à necessidade de consolidar, organizar e ampliar os conhecimentos nesta área, vários organismos nacionais e internacionais têm desenvolvido estudos sobre esta questão. Primeiro, fizeram-se, e continuam-se a fazer, levantamentos da situação dos edifícios em utilização, com o objetivo de catalogar as falhas. Os resultados mostram um grande número de edifícios com falhas, mesmo em países com tradição de bem construir.

O Centre Scientifique et Technique de la Construction (CSTC) na Bélgica, o Building Research Establishment (BRE) na Inglaterra e a Agence Qualité Construction (AQC) em França, têm

atuado na área da patologia das construções, tanto no levantamento e análise dos problemas mais frequentes, assim como nas soluções para os evitar e reparar.

A patologia das construções já deu bastantes passos no processo de levantamento da situação existente, assim como na homogeneização de conceitos. Mas o caminho a seguir ainda é longo.

Nas Tabela 1-1 e Tabela 1-2, apresentam-se os agentes de deterioração de edifícios. Por sua vez a Figura 1-1 mostra a ligação entre a natureza dos agentes de deterioração e as patologias observadas nos edifícios.

Existe uma preocupação crescente com a qualidade da construção, mas muitos dos edifícios construídos nos últimos anos não apresentam o desempenho e a durabilidade esperada. A falta de sistematização da informação origina erros e patologias repetidos muitas vezes (Freitas et al., 2007).

A AQC, em França, criou um mecanismo de recolha e análise dos sinistros declarados às companhias seguradoras – sistema SYCODÉS. Analisou, entre 1995 e 2015, 440.000 casos de sinistros declarados às companhias seguradoras (Observatoire de la Qualité de la Construction, 2016).

Verifica-se que os problemas de estanquidade à água atingem 58% dos sinistros declarados. Se os associarmos a problemas relacionados com condensações verifica-se que este valor ainda aumenta ligeiramente (Figura 1-2).

Tabela 1-1 - Agentes de deterioração de edifícios com origem externa (adaptado de (Lichtenstein, 1986).

NATUREZA	EXTERIOR AO EDIFÍCIO	
	ATMOSFERA	SOLO
AGENTES MECÂNICOS		
Gravidade	Neve, chuva	Solo, água
Forças impostas	Gelo, dilatação térmica e higroscopia	Deslizes e assentamentos
Energia cinética	Vento, granizo e choques exteriores	
Vibrações	Ruídos	Sismos, outras vibrações
AGENTES ELECTRO-MAGNÉTICOS E RADIOATIVOS		
Radiação/radioatividade	Radiação solar e radioatividade	Radioatividade dos solos
Eletricidade	Raios	Correntes parasitas
Magnetismo	Campos magnéticos	Campos magnéticos
AGENTES TÉRMICOS		
	Aquecimento, congelamento e choque térmico	Aquecimento e congelamento
AGENTES QUÍMICOS		
Água e solventes	Humidade do ar e condensação precipitação	Água de superfície e subterrânea
Oxidantes	Oxigénio, ozono e óxidos de nitrogénio	
Redutores		Sulfetos
Ácidos	Ácido carbónico e excrementos	Ácido carbónico e ácidos húmidos
Bases		Cal
Sais	Névoa salina	Nitratos, fosfatos, cloretos e sulfatos
Matérias inertes	Poeira	Calcário e sílica
AGENTES BIOLÓGICOS		
	Bactérias, pólenes, insetos, pássaros e fungos	Bactérias, fungos (incluindo os cogumelos), raízes, roedores e vermes

Tabela 1-2 - Agentes de deterioração de edifícios com origem interna (adaptado de (Lichtenstein, 1986).

NATUREZA	INTERIOR AO EDIFÍCIO	
	USO	CONCEPÇÃO/CONSTRUÇÃO
AGENTES MECÂNICOS		
Gravidade	Sobrecarga de utilização	Cargas permanentes
Forças impostas	Esforços de uso	Retrações, fluência, forças e deformações impostas
Energia cinética	Choques interiores, abrasão e impacto	
Vibrações	Ruídos e vibrações interiores	Ruídos e vibrações do edifício
AGENTES ELECTRO-MAGNÉTICOS E RADIOATIVOS		
Radiação/radioatividade	Lâmpadas	Materiais com radioatividade
Eletricidade		Correntes de distribuição
Magnetismo	Campos magnéticos	Campos magnéticos
AGENTES TÉRMICOS		
	Calor emitido, lareiras, cigarros e fogo	Aquecimento
AGENTES QUÍMICOS		
Água e solventes	Ações de lavagem e condensações	Águas de distribuição e infiltrações.
Oxidantes	Hipoclorito de sódio e água oxigenada	Potenciais eletroquímicos positivos
Redutores	Combustíveis e amónia	Combustíveis potenciais eletroquímicos negativos
Ácidos	Vinagre, ácido cítrico, ácido carbónico	
Bases	Soda cáustica, hidróxido de potássio, hidróxido de amónio	Soda cáustica, cimentos
Sais	Cloreto de sódio	Cloreto de cálcio, sulfatos, gesso
Matérias inertes	Gorduras, óleos, tintas, poeiras	Gorduras, óleos, poeiras, sujidade
AGENTES BIOLÓGICOS		
	Bactérias, plantas domésticas, animais domésticos e fungos.	

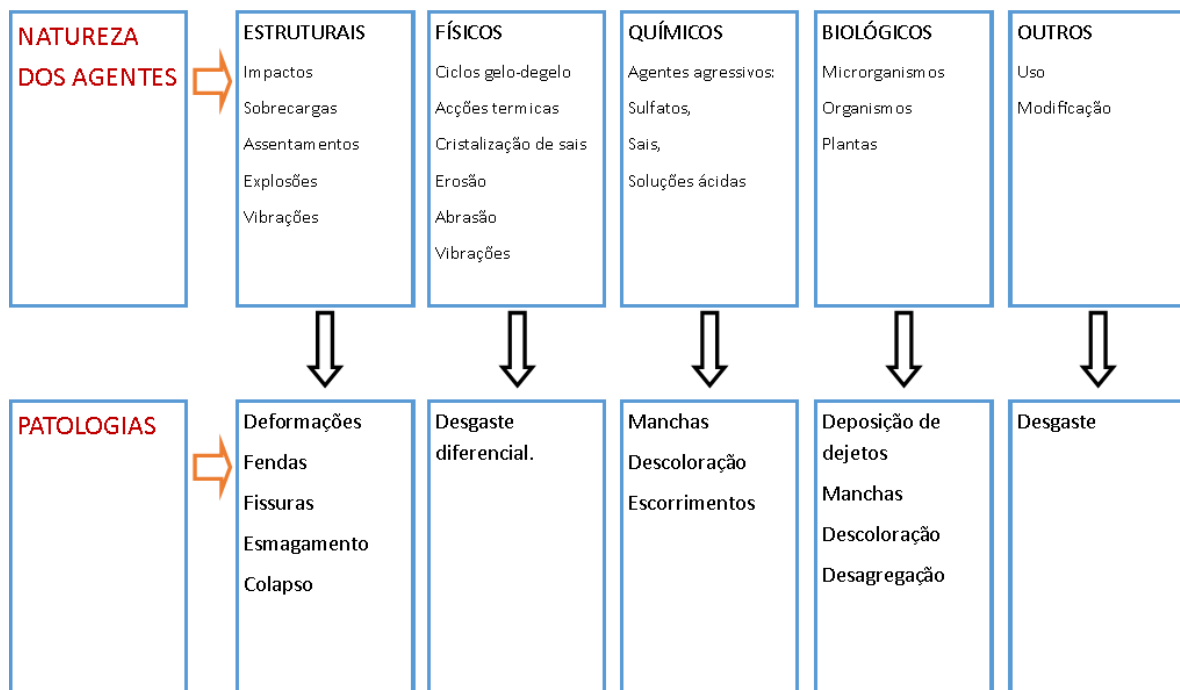


Figura 1-1 - Ligação entre a natureza dos agentes de deterioração e as patologias nos edifícios.

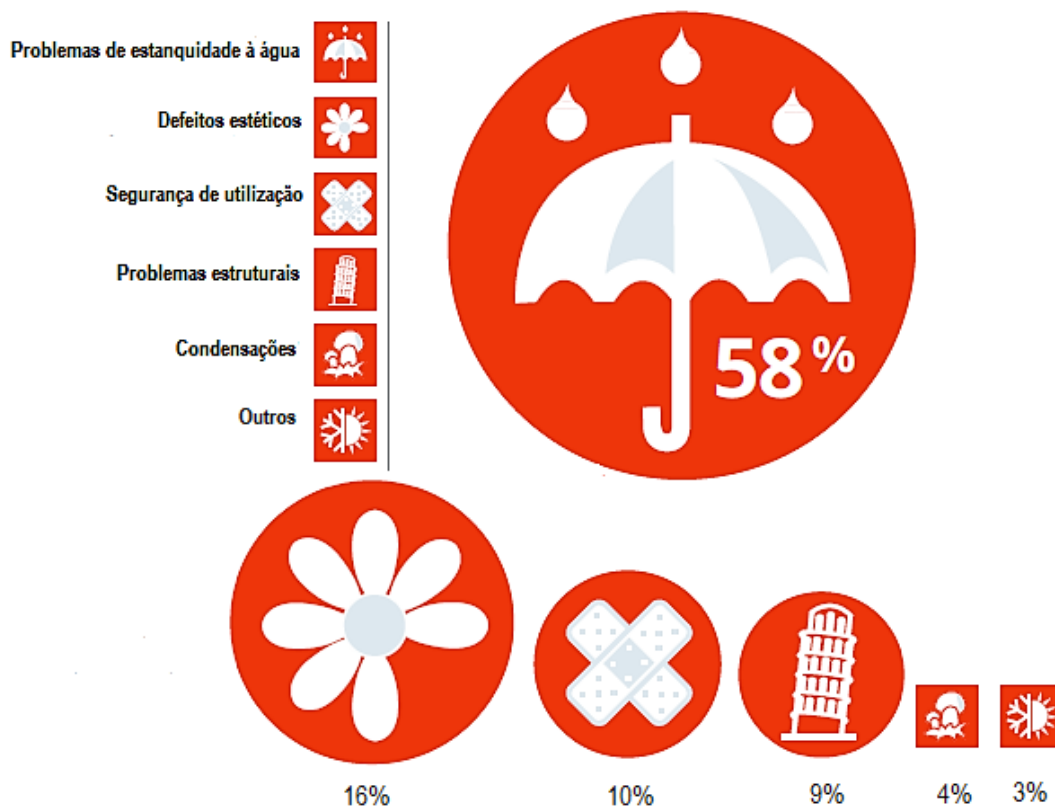


Figura 1-2 - Distribuição dos sinistros em função das principais patologias (Observatoire de la Qualité de la Construction, 2016).

Estes dados, bastante recentes, vão de encontro a diversos estudos, onde a patologia relacionada com a humidade e fissuração representa cerca de 80% dos casos. Assim, das principais causas que estiveram na origem das manifestações observadas, salienta-se a existência de erros de processo (projeto e construção), como a causa mais frequente (Figura 1-3 e Figura 1-4) (Rodrigues et al., 2007).

Verifica-se que apesar de existirem diversos estudos em anos diferentes, no que se refere à natureza das anomalias observadas, a partir das quais foi possível diagnosticar as respetivas patologias, os dados recolhidos são bastante próximos. Ou seja, as humidades e fissuração representam mais de 80% das situações estudadas cujas causas em cerca de 80% das situações são atribuídas à fase de projeto ou de construção (Rodrigues et al., 2007).

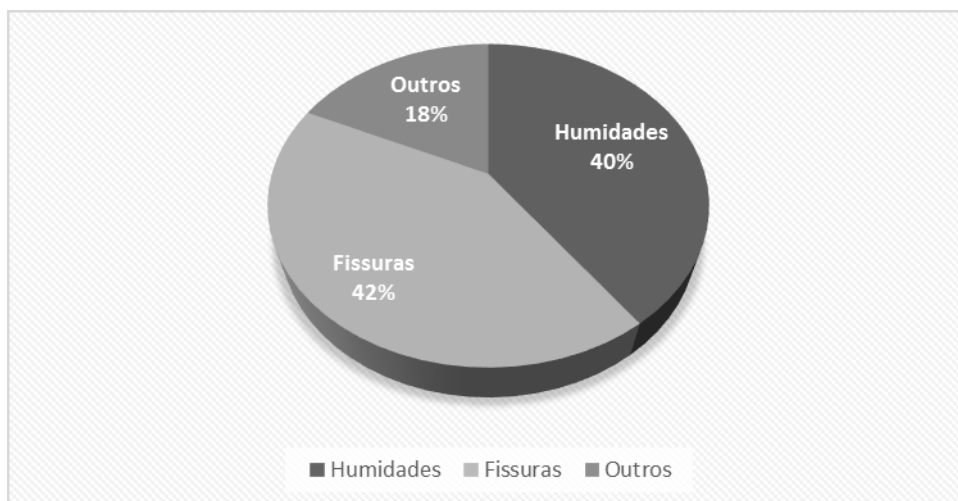


Figura 1-3 - Incidência das patologias (Rodrigues et al., 2007).

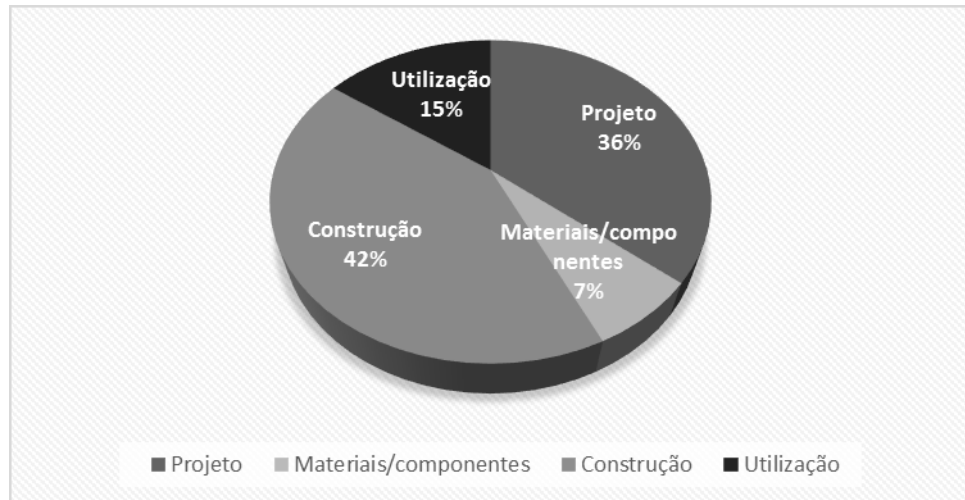


Figura 1-4 - Causas das patologias (Rodrigues et al., 2007).

1.3 Consequências das Patologias

Os problemas patológicos, salvo raras exceções, apresentam manifestações externas características, a partir das quais se pode verificar qual a natureza, a origem e os mecanismos dos fenômenos envolvidos, assim como estimar suas prováveis consequências.

Os problemas patológicos só se manifestam após o início da execução propriamente dita, a última etapa da fase de produção. Em relação à recuperação dos problemas patológicos, podemos afirmar que "as correções serão mais duráveis, mais efetivas, mais fáceis de executar e muito mais baratas quanto mais cedo forem executadas" (Sitter, 1984). A demonstração mais expressiva desta afirmação é a chamada "regra de Sitter" que mostra o aumento dos custos segundo uma progressão geométrica. Dividindo as etapas construtivas e de utilização em quatro períodos correspondentes ao projeto, à execução propriamente dita, à manutenção preventiva efetuada antes dos primeiros três anos e à manutenção corretiva efetuada após o aparecimento dos problemas, a cada uma corresponde um custo. Como se pode observar na Figura 1-5 a evolução de custos segue uma progressão geométrica de razão cinco (Oliveira, 2013; Sitter, 1984).

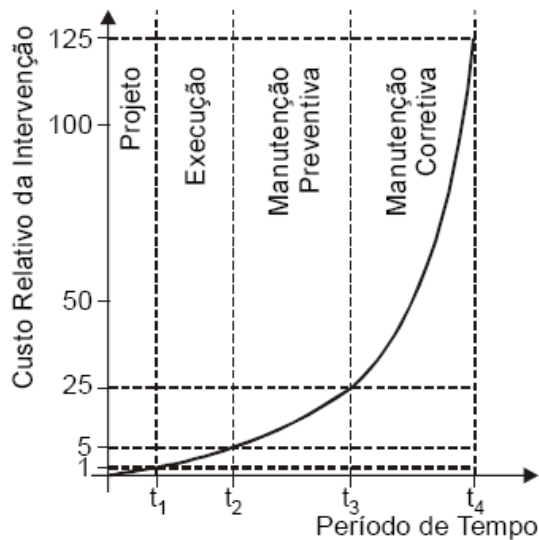


Figura 1-5 - Evolução de custos (Sitter, 1984).

Quando se trata de patologias estruturais que põem em risco os utilizadores dos edifícios devem ser corrigidas de imediato ou o edifício é interdito ao uso. Outros tipos de patologias, como humidades, fissuras, condensações, como não têm riscos imediatos, muitas das vezes as suas correções vão-se arrastando no tempo, mas normalmente contribuem para uma degradação da qualidade do edifício e podem causar graves problemas aos utilizadores (Figura 1-6).

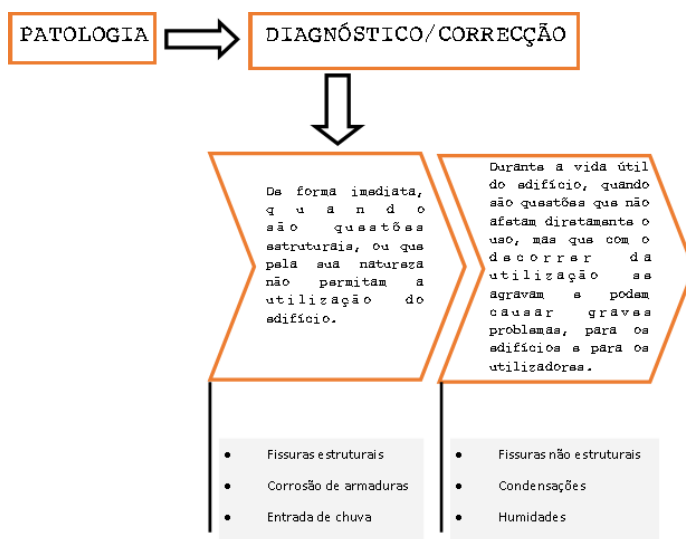


Figura 1-6 – Exemplos de consequências da não correção das patologias em edifícios.

1.4 Desenvolvimento de microrganismos e fatores físicos (humidade, temperatura e ventilação)

Os microrganismos, que inclui bactérias e fungos, estão entre os poluentes do ar interior mais importantes e menos compreendidos, sendo a sua presença frequente e ubíqua nos ambientes urbanos. Os fungos são organismos heterotróficos com um diâmetro aerodinâmico compreendido entre 1 a 30 μm . Existem dois tipos morfológicos de fungos: fungos filamentosos e fungos leveduriformes (fungos unicelulares conhecidos também por leveduras) (Quadros et al., 2009). Alguns destes fungos produzem metabolitos, tais como, VOC's, e micotoxinas, que podem provocar reações alérgicas no hospedeiro (Bergman et al., 2009).

Num edifício são vários os fatores que potenciam o crescimento da população microbiana, tais como elevados níveis de humidade, ventilação reduzida, disponibilidade de nutrientes, temperatura adequada ao seu desenvolvimento, a existência de fontes de contaminação interiores (sistemas AVAC, materiais de construção e decoração, infiltrações de água, ocupantes), bem como as entradas de ar (Bergman et al., 2009).

Existe assim um mundo por descobrir dentro das nossas construções. Ainda mais quando sabemos que cerca de 80% das patologias das construções estão associadas a fissuras e humidade. O excesso de humidade torna o meio propício para o desenvolvimento de microrganismos.

Atualmente exige-se cada vez mais conforto térmico no interior dos edifícios. O conforto térmico é um conceito muito subjetivo que não implica uma temperatura exata. Trata-se de um estado de espírito no qual a pessoa sente satisfação com o ambiente térmico. Os seres humanos sentem conforto numa gama de temperaturas entre 20 e 26 $^{\circ}\text{C}$ e com uma humidade relativa entre 30 e 85%. Com a humidade relativa inferior a 50% podem sentir conforto até temperaturas de 28 $^{\circ}\text{C}$. Uma forma de solucionar o problema pode ser a arquitetura bioclimática, que permite manter os edifícios em zonas de conforto através de

ventilação natural, sem ar condicionado nem aquecimento, evitando vírus, bactérias como a legionela, pólen e fungos (Garrido, 2013; Fuente, 2013). Esta ventilação natural permite sentir as variações sazonais, resultando uma melhor qualidade do ar e do bem-estar psicológico dos utilizadores (Fuente, 2013).

O emprego de materiais saudáveis, biocompatíveis e higroscópicos, facilita a troca de humidade entre a atmosfera e o edifício. O edifício deve respirar. Estes materiais evitam a condensação e tornam um clima interior mais saudável. Materiais como a madeira, cortiça, argila, gesso ou argamassas à base de cal, dão os melhores resultados (Lledó, 1999). O excesso de humidade permite o aparecimento de organismos prejudiciais à saúde, especialmente em caves ou em edifícios que sofrem inundações, assim como em zonas habitáveis onde ocorrem condensação ou entrada de água (Garrido, 2013).

Existem centenas de espécies de bactérias e fungos, que crescem nos interiores húmidos e com ventilação deficiente. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que esses microrganismos causam reações inflamatórias e tóxicas em humanos, no entanto ainda não existe uma identificação de quais as espécies individuais e os níveis de exposição que podem causar danos à saúde. Muitos destes microrganismos permanecem no ar e depositam-se no sistema respiratório, e alguns dos esporos menores, mesmo nos alvéolos pulmonares.

A remediação de locais onde surge mofo e a prevenção da sua ocorrência são problemas presentes devido ao esforço de melhorar o ambiente interno dos edifícios. Os fungos são organismos eucarióticos cujos núcleos são dispersos em micélios (conjunto de hifas) contínuos ou septados. Para se desenvolverem precisam de fontes orgânicas de carbono. As fontes da sua energia são substâncias simples que são produzidas por divisão enzimática extracelular de materiais, como alimentos, couro, papel, plástico, pedras decorativas, betão e argamassas. Produzem, enzimas, compostos orgânicos voláteis e micotoxinas além de substâncias simples que prejudicam a saúde humana, causando asma, problemas de pele, etc. (Shoemaker et al., 2006).

O oxigénio é outra das condições essenciais para a sua vida, assim como a humidade relativa até 80%, mas, para certos tipos, é suficiente humidade relativa em volta de 65%, a temperatura ideal é de 18 a 28 °C, e o pH entre 5 a 7.

O controlo da temperatura e a circulação de ar são os métodos de prevenção mais usados. Como soluções básicas mais comuns de remediação temos: o isolamento térmico de edifícios, a preparação de revestimentos, a eliminação de fugas de água, a substituição de janelas existentes (associadas a ventilação forçada ou natural). No essencial é necessário evitar a humidade na construção. Adicionalmente, temos a desinfeção e aplicação de biocidas nas superfícies afetadas. As condições internas dependem sempre dos utilizadores e dos seus comportamentos. É sempre bom ventilar os edifícios, reduzir os fatores que promovem condensações, reduzir a carga biológica, entre outros. Poderíamos reduzir a humidade de maneira a atingir um mínimo onde os parâmetros do ar interior fossem inadequados ao desenvolvimento de fungos (humidade relativa cerca de 50%), mas constituiria outros riscos para a saúde, como a sequeidão das mucosas (Deng et al., 2012).

O meio ambiente interno dos “edifícios doentes” (especialmente destinados a comércio e serviços) constitui um nicho ecológico com o seu próprio meio bioquímico, fauna e flora (Figura 1-7). Estes edifícios por serem hermeticamente fechados, apresentam um dilema quanto à regulação da humidade e da temperatura do ar que circula pelos ductos e pelo próprio edifício, pois as diferentes espécies de microrganismos têm diferentes combinações de humidade e temperatura para se desenvolverem (Sterling et al., 1991).



Figura 1-7 - Síndrome do edifício doente (Salud Pasion, 2017).

1.5 Reabilitação de edifícios

Nos países mais desenvolvidos o futuro da construção passa em grande parte pela reabilitação das construções existentes. Uma das áreas também com grande peso será a manutenção de edifícios ou outro tipo de construções. Nestas fases o custo da correção de patologias é elevado, comparado com a adoção de medidas preventivas em fases anteriores do processo construtivo.

Um aspeto importante a considerar na reabilitação de edifícios é a melhoria da qualidade do ar interior. O melhor conhecimento dos microrganismos que se desenvolvem no interior dos edifícios é importante para desenvolver soluções e produtos eficazes na sua prevenção e remoção. O uso de produtos antifúngicos (biocidas) na construção é amplamente publicitada por empresas que comercializam materiais de construção ou de limpeza. Quase todas as marcas de tintas possuem nos seus catálogos tintas ou aditivos antifúngicos. Para a sua limpeza o produto mais recomendado é uma solução a 5% de hipoclorito de sódio (lixívia) em água. Os principais passos recomendados pela grande maioria dos produtores e vendedores de tintas para solucionar o problema existente com fungos apresenta-se na Figura 1-8 (CIN, 2017)

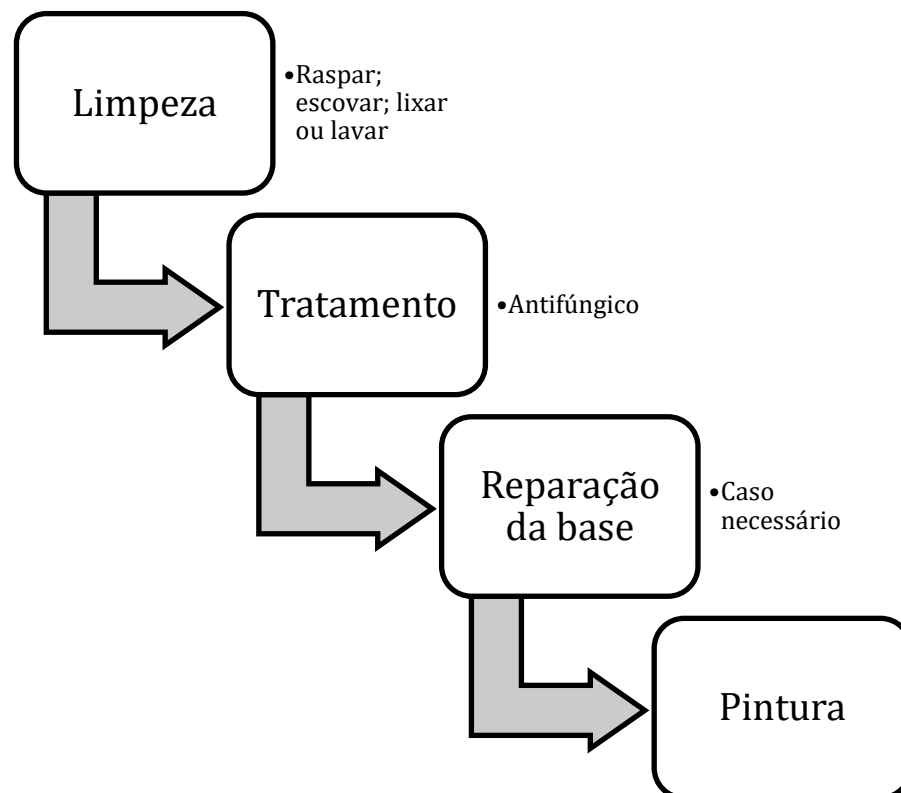


Figura 1-8 - Procedimento de reparação de paredes e tetos com fungos.

Os fungos são os agentes mais agressivos na deterioração da pintura. Segundo (Paulus, 2005) os fungicidas mais comuns para esta finalidade são: iodo propinil butil carbamato, carbendazim, octilisotiazolinona, dicloro isotiazolinona e piritionato de zinco.

Os produtos designados por biocidas compreendem uma vasta gama de substâncias ativas e preparações que as contêm, de características muito diversas e cobrindo um amplo leque de utilizações. Tratam-se de produtos com benefícios para a proteção da saúde (humana e animal) e para o ambiente, mas alguns deles comportam um risco potencial, pelo que a respetiva colocação no mercado pode requerer um processo de registo ou de autorização. Para as tintas com ação fungicida/algicida, aditivo concentrado de fungicida para adicionar às tintas para uso no interior, aditivo concentrado de fungicida/algicida para adicionar às tintas para uso no exterior e tintas com ação inseticida ou repelente de insetos esse processo de registo ou autorização é da responsabilidade da Direção Geral de Saúde (DGS) (APT, 2017).

Nas pinturas o crescimento dos fungos funciona como um bioindicador da eficiência dos biocidas antifúngicos usados. O uso de biocidas em tintas ou produtos de limpeza contribui em grande escala para a contaminação de águas superficiais e profundas (Kupper et al., 2005). O carbendazim é tóxico para os seres humanos, animais e plantas. A toxicidade em mamíferos conduz a anomalias e falhas na espermatogênese (Nakai et al., 1997). Este composto surge nas águas, solo e alimentos (Readman et al., 1997).

Na Tabela 1-3 listamos as principais características dos biocidas carbendazim e octiliosotiazolinona em relação aos animais testados com a concentração máxima letal e concentração efetiva que não causa morte mas tem efeitos tóxicos.

A resistência dos microrganismos aos biocidas também pode ser devido à biodiversidade existente no local (Uemoto, 2001).

Sabe-se que os produtos com características antifúngicas são prejudiciais para o ambiente e saúde de pessoas e animais. Por este motivo, a indústria das tintas investiga melhores tintas com biocidas degradáveis, assim como consideram a inclusão de nanopartículas de prata, cobre, óxido de zinco e dióxido de titânio como aditivos para a proteção das tintas contra a degradação microbiana, física e química. No futuro, os biocidas degradáveis serão substituídos por nanomateriais. Resultados iniciais indicam que o uso de nanomateriais em tintas não resultará num maior nível de exposição e que não haverá um maior risco para a saúde comparativamente aos produtos convencionais (Kaiser et al., 2013).

Tabela 1-3 - Características dos biocidas carbendazim e octiliosotiazolinona (Paulus, 2005).

Biocidas	Octiliosotiazolinona (OIT)	Carbendazim (BCM)
CAS Number	26530-20-1	10605-21-7
Fórmula	C ₁₁ H ₁₉ NOS	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂
Densidade (g/ml)	1,038	1,5
Mutagenecidade		Categoria 2
DL 50 oral em ratos (mg/kg)	760	640
DL 50 oral em camundongos (mg/kg)		11.000
DL50 dérmica (mg/kg)	690 (coelho)	>2000 (rato)
CL 50 inalação aerosol mg/l ratos (4 horas/nariz somente)	1,25	
CL 50 para <i>Bluegill sunfish</i> (96 h estática) mg/l	0,196	
CL 50 para <i>Fathead minnow</i> (96 h estática) mg/l	0,14	
CL50 para “ <i>Rainbow trout</i> ” (96 h estática)mg/l	0,065	
CL 50 para <i>Daphnia magna</i> (48 h estática)mg/l	0,32	0,22
CE50 para algas verdes <i>Scenedesmus subs.</i> (72 horas) mg/l		419
CE50 para peixe <i>Cyprinus caprio</i> (96 horas) mg/l		0,61

DL 50 = dose que mata 50% dos animais testados – Avaliação de toxicidade

CL 50 = concentração letal para 50% dos organismos no tempo estipulado – Avaliação de ecotoxicidade

CE 50 = concentração efetiva que não causa morte, mas efeitos tóxicos para 50% dos organismos em tempo estipulado - Avaliação de ecotoxicidade

1.6 Aplicação de nanotecnologia na prevenção e remoção de fungos

Na construção civil, os nanomateriais vão ter um papel importante no futuro (aplicações estruturais em cerâmicos, revestimentos, metais, compósitos), assim como em muitas áreas diversas: cosmética, tecnologias de informação, biotecnologia, medicina, aplicação de sensores, aplicações ambientais, entre muitas outras (Conde, 2005). Os recentes desenvolvimentos da nanotecnologia vieram contribuir para o envolvimento da construção de edifícios nas questões ambientais, de sustentabilidade/reabilitação. Assim as limitações existentes nos materiais de construção são quebradas com a introdução da nanotecnologia como potenciadora de novos produtos com novas funcionalidades (Broeckhuizen et al., 2009).

A nanotecnologia é considerada como uma das principais tecnologias do futuro. O termo “nanotecnologia” é usado para produção, análise ou utilização de produtos com menos de 100 nanômetros (nm) como por exemplo partículas, películas ou tubos em pelo menos uma dimensão. Em nanoescala os materiais têm novas propriedades muito importantes para o desenvolvimento de novos produtos e aplicações. Nos últimos anos, o uso de dióxido de titânio (TiO₂) tem atraído consideravelmente a atenção da comunidade científica e do setor industrial devido às suas características de autolimpeza das superfícies e de purificação de alguns poluentes atmosféricos (Mathiazhagan et al., 2011).

Diversos estudos sobre a propriedade purificadora das tintas e outros materiais, devido à adição de dióxido de titânio à escala nanométrica na presença de luz ultravioleta mostraram um forte poder de remoção de gases como o óxido nítrico, óxido de azoto e dióxido de azoto devido às suas propriedades fotocatalíticas (Auvinen et al., 2008).

A prevenção e remediação da ocorrência de fungos em edifícios pode ser realizada usando métodos clássicos (pulverização, pintura, etc.) ou novos métodos - que incluem o uso de nanotecnologia. As nanofibras têm características funcionais específicas (por exemplo, grande área de superfície) de acordo com a sua produção e podem ser utilizadas para remediação e prevenção contra fungos filamentosos. O efeito das nanofibras pode ser aumentado pela adição de nanopartículas ou outra substância antimicrobiana (Ráková et al., 2013).

O uso de nanofibras como proteção antimicrobiana é muito usado em várias áreas, como na medicina para pensos respiráveis usados nas cirurgias, na reconstrução da pele e dos ossos (Parizek et al., 2012), vasos sanguíneos, músculos e tecido nervoso, e também, transporte e administração controlada de drogas ou células. Nos têxteis, componentes eletrônicos, tratamento de água, etc. (Ashby et al., 2009). Nestes casos, o efeito antimicrobiano é obtido com a adição de nanopartículas de prata em solução básica de polímeros para nanofibras mas com este tipo de utilização libertam-se nanopartículas de polímero e diminui a atividade antimicrobiana (Geranio et al., 2009). A Nanospider™ tem uma tecnologia, que permite a

produção de nanofibras a partir de solventes de polímeros em água, em ácidos e assim por diante. Os tecidos de nanofibra são produzidos sob a forma de têxteis não tecidos. O tecido de nanofibra é fino, enquanto os tecidos fortes são porosos, os buracos formam a estratificação de fibras com orientação diferente (Faggio et al., 2012). O polímero sozinho é usado como um apoio para agente de nanopartículas com efeito antimicrobiano. São usados nanodiamante, cobre, titânio, zinco e, na maioria das vezes, prata e cobre (Wang et al., 2012). Os seus benefícios são baixo custo, e fácil aplicação e pode ser aplicado de várias formas.

Foram usados fungos filamentosos na síntese de Bio-AgNPs com potencial agente antifúngico para prevenção de infecções fúngicas cutâneas superficiais (Pereira et al., 2014).

Um estudo realizado na República Checa com recolha de fungos na cidade de Litvinov confirmou a existência de fungos do género *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Culvularia*, *Epiccocum*, *Penicillium* e *Pithomyces*. Com a identificação dos fungos selecionaram as espécies mais frequentes *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* e em placas de Petri compararam o efeito de nanofibras de poli (álcool vinílico) (PVA) com adição de iões de prata e cobre (Ráková et al., 2013).

Na Figura 1-9 apresenta-se a evolução do crescimento dos fungos em placas de Petri com meio agar onde foram colocados discos de nanofibras de PVA e foi pulverizado *Aspergillus terreus* (Ráková et al., 2013).

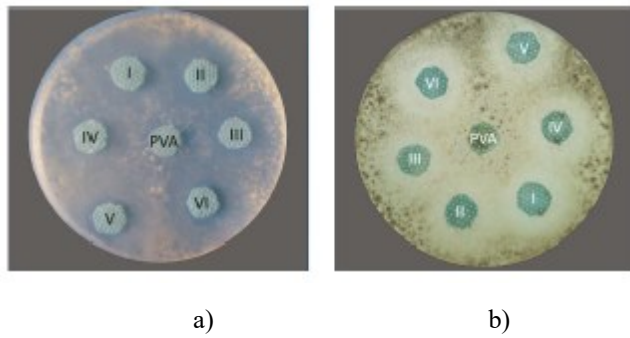


Figura 1-9 – Evolução do crescimento de fungos em nanofibras PVA com iões de cobre. a) aos dois dias; b) aos 4 dias (retirado de Ráková et al. (2013).

Na Figura 1-10 vemos a evolução do crescimento dos fungos quatro dias após a aplicação (Ráková et al., 2013), em placas de Petri com meio agar de discos de nanofibras de PVA onde foi pulverizado *Aspergillus niger* com outros fungos.

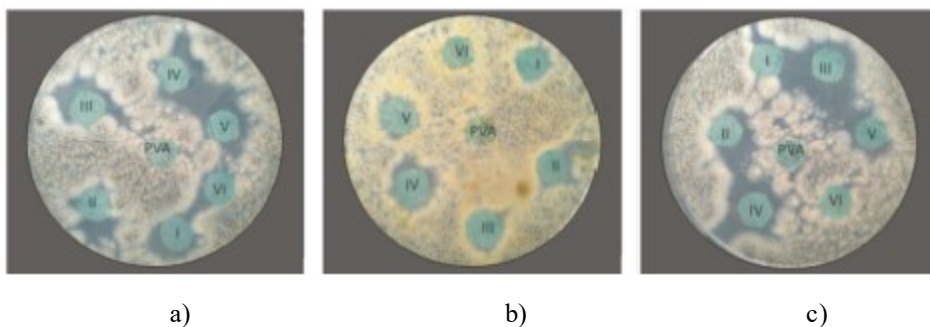


Figura 1-10 - Crescimento de fungos em nanofibras (PVA) com iões de prata aos 4 dias. a) *Aspergillus niger*; b) *Aspergillus niger* e *Penicillium*; c) *Aspergillus niger* e *Alternaria alternata* retirado de (Ráková et al. 2013).

A nanotecnologia é útil para a proteção contra os fungos existentes em edifícios. As maiores vantagens são seu baixo custo e a sua fácil aplicação na superfície. Através de resultados experimentais com as nanofibras, que podem ser aplicadas no local onde aparecem os fungos, ou nos locais onde é previsível o aparecimento, verifica-se que com a adição de prata e cobre conseguem-se bons resultados para a proteção antifúngica, sendo um método útil de proteção dos edifícios contra a deterioração biológica em alternativa aos métodos clássicos (pulverização de biocidas e tintas) (Ráková et al., 2013).

Os materiais antimicrobianos inorgânicos são geralmente constituídos por íons metálicos com ação biocida e um substrato. O cobre e a prata são conhecidos como uma das nanopartículas inorgânicas multifuncionais com atividade antibacteriana (Ortan et al., 2015). Entre os substratos, um dos fosfatos de cálcio, hidroxiapatita sintética (HAP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é o mais promissor, principalmente devido à sua alta afinidade pelos microrganismos patogênicos. Estes materiais podem ser viáveis para múltiplas aplicações (em novos edifícios, hospitais e na reabilitação de construções de património cultural). Também para a proteção de artefatos de pedra contra fatores ambientais (chuva ácida) e biodeterioração, são uma opção para diminuir o uso substâncias tóxicas (Ion et al., 2015).

Na área da medicina e farmácia existem estudos de desenvolvimento de formas farmacêuticas de ação tópica com potencial antifúngico de derivados da cortiça. Em particular, sobre um subproduto da indústria corticeira, granulado de cortiça. Considerando a ação terapêutica já comprovada deste antifúngico, os alvos da formulação são a pele e unhas. Atualmente a capacidade antioxidante apresentada por alguns compostos existentes na cortiça tem atraído a indústria farmacêutica. Para além disso, os compostos antioxidantes de origem natural podem tornar-se menos onerosos e/ou menos tóxicos do que os compostos sintéticos o que é promissor no desenvolvimento de novas terapias (Mendes, 2013). Será um material que poderá ter interesse na área da construção.

Algumas propostas referem-se a revestimentos fotocatalíticos, nanopartículas de prata e de sílica entre outras para uma redução dos microrganismos nos edifícios (Gaylarde et al., 2011).

Com a conexão entre a biotecnologia, a engenharia civil e a nanotecnologia será possível desenvolver soluções que permitam a prevenção e remoção de fungos em paredes e tetos.

1.7 Indústria da cortiça

De acordo com a Associação Portuguesa da Cortiça, em 2015 Portugal é o principal produtor com 49% da produção mundial e 25% das exportações de cortiça referem-se a materiais de construção e decoração (APCOR, 2015).

A indústria corticeira gere diversos tipos de resíduos em toda a linha de produção, aqui apenas interessa abordar o pó de cortiça.

Anualmente a indústria corticeira mundial processa mais de 280.000 toneladas de cortiça, no entanto cerca de 25% da matéria-prima é rejeitada, principalmente como pó de cortiça (SECIL, 2011). Em todas as fases do processo industrial é gerado pó de cortiça com dimensões e características diferentes (Matos et al., 2015). O pó de cortiça é composto essencialmente por fragmentos de cortiça entre 10 a 500 μm e uma fração muito reduzida de minerais micrométricos (Valentim et al., 2015).

Atualmente o pó de cortiça é usado essencialmente como combustível gerando cinza e emissões gasosas (Vassilev et al., 2010), não existindo elementos e dados sobre os impactos que estes resíduos geram.

2 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES FÚNGICAS EXISTENTES EM EDIFÍCIOS DE HABITAÇÃO NA ZONA NORTE DE PORTUGAL

2.1 Introdução

A identificação das espécies fúngicas existentes em edifícios de habitação na zona norte de Portugal serviu para as caracterizar e escolher a espécie mais representativa/adaptada que será pulverizada nos suportes que pretendem simular os materiais característicos de paredes e tetos que foram colocados na câmara climática nas condições ideais para acelerar o seu crescimento.

Em todas as regiões do mundo existem fungos no interior dos edifícios. Em climas moderados a húmidos as comunidades fúngicas são dominadas pelos géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, entre outras (Sterflinger, 2010). Os fungos desenvolvem-se à superfície, no interior de poros e fissuras das paredes e tetos e têm um papel muito importante na degradação da qualidade dos edifícios e do seu ambiente interior.

Apesar da colonização fúngica de paredes e tetos de edifícios ser reconhecida por todos os intervenientes na construção e utilização de edifícios, assim como o seu contributo para o aumento de patologias, a composição das comunidades fúngicas tem sido caracterizada de forma muito simplificada e na sua maioria as análises referem-se a monumentos e edifícios antigos (Hallmann et al., 2011).

No interior dos edifícios o crescimento de fungos em áreas húmidas, além dos problemas de higiene e estéticos pode causar também problemas de alergia respiratória. Os sintomas mais comuns são dores de garganta, rinite, tosse entre outros. No País de Gales verificou-se que 30 a 40% de ocupantes de habitações “contaminadas” com fungos sofrem de asma. *Penicillium* e *Cladosporium* são os fungos predominantes no interior das habitações (Arthur et al., 2006). Num estudo realizado nas cidades de São Paulo e São Bernardo do Campo no Brasil verificou-se que *Cladosporium* foi o género mais frequente, seguido pelos *Penicillium* e *Aspergillus* (Shirakawa, 1999).

Em Portugal não existem dados na literatura sobre os fungos mais frequentes nos edifícios. Encontram-se alguns estudos de identificação de espécies fúngicas em monumentos, mas no exterior do edifício, por exemplo na Sé de Lamego (Machado, 2012). Para identificar e discriminar microrganismos (géneros, espécies e estirpes) existem métodos fenotípicos, que consideram as características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas e métodos genotípicos que utilizam ferramentas moleculares baseadas na análise total, ou de segmentos do genoma. Os métodos fenotípicos baseiam-se em características bioquímicas, fisiológicas e biológicas, enquanto os métodos genotípicos detetam polimorfismos ao nível dos ácidos nucleicos (em especial do ADN), ou variação alélica ao nível dos genes (Alves et al., 2003).

Na Figura 2-1 encontra-se um fluxograma do procedimento para a caracterização morfológica e molecular de fungos.

2.2 Recolha das amostras

As amostras para a visualização e isolamento de fungos foram recolhidas em vários dias, por raspagem direta e pontual, utilizando-se lâminas esterilizadas. O material amostrado foi colocado em folhas de alumínio, que foram imediatamente isoladas. No total foram recolhidas 12 amostras.

Selecionaram-se vários locais na zona norte para recolha de amostras de fungos existentes em paredes e tetos de diversas construções (Figura 2-2).

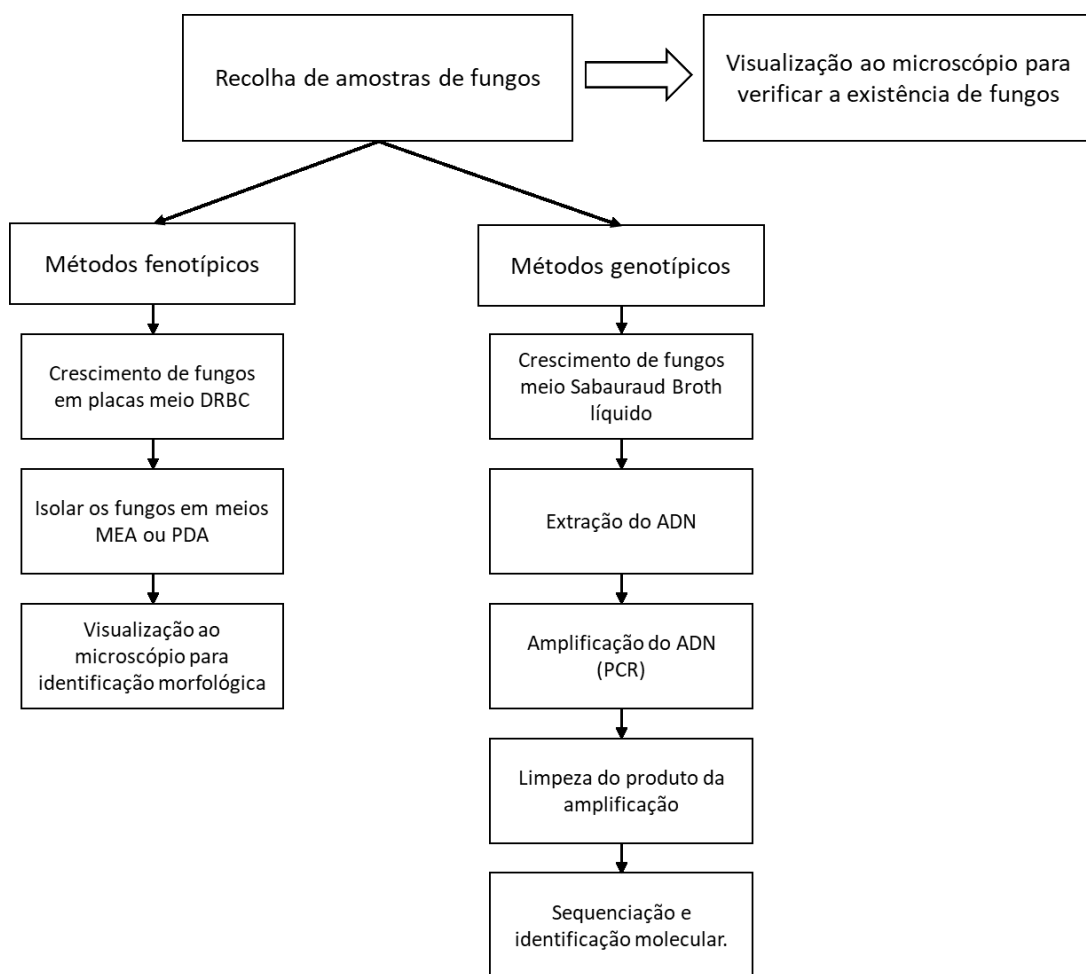


Figura 2-1 - Fluxograma usado na identificação dos fungos.

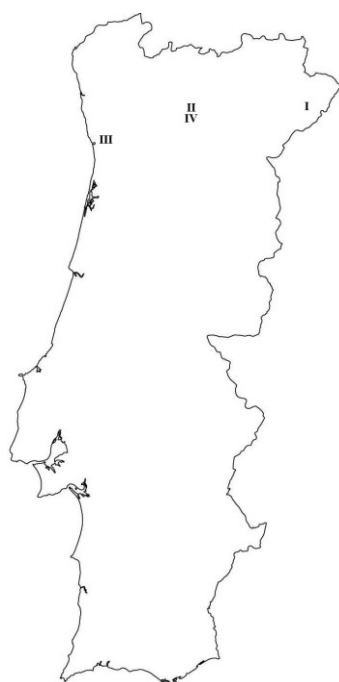


Figura 2-2 - Locais de recolha de amostras de fungos.

Na Tabela 2-1 encontra-se um resumo das características dos locais onde foi feita a recolha dos fungos e a data de recolha das amostras. Na Figura 2-3 temos uma fotografia com o estado da parede onde foram efetuadas recolhas de amostras de fungos.

Tabela 2-1 - Locais de recolha dos fungos.

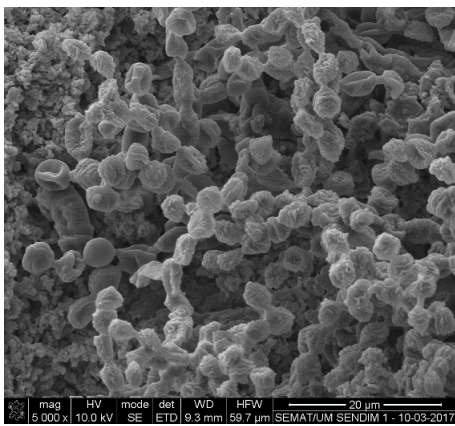
Nº AMOSTRA	LOCAL	COORD. GEO.	RECOLHA	CARACTERÍSTICAS	AMBIENTE
1	I SENDIM	41°23'14.16"N; -6°25'48.75"O	10.03.2017	Construção com mais de 35 anos. Casa não habitada desde 2005, rebocada, areada e pintada com tinta de água.	Teto da cozinha
2					Parede da cozinha
3					Parede do quarto
4	II VILA REAL	41°17'28.07"N; -7°43'33.38"O	11.03.2017	Construção com cerca de 20 anos. Apartamento último piso, paredes e tetos em gesso projetado e pintada com tinta acrílica.	Teto do quarto
5					Teto do quarto (armário)
6					Teto sótão
7	III PORTO	41°02'14.28"N; -8°32'46.73"O	11.03.2017	Construção de 2006. Habitação unifamiliar tetos em gesso cartonado e pintura acrílica com protecção anti-insectos.	Teto WC
8					Teto do corredor
9					Teto quarto
10	IV VILA REAL	41°18'01.97"N; -7°45'01.30"O	11.03.2017	Construção com cerca de 25 anos. Teto em reboco estanhado, local já foi pintado várias vezes com pintura anti fungos.	Teto WC
11					
12					



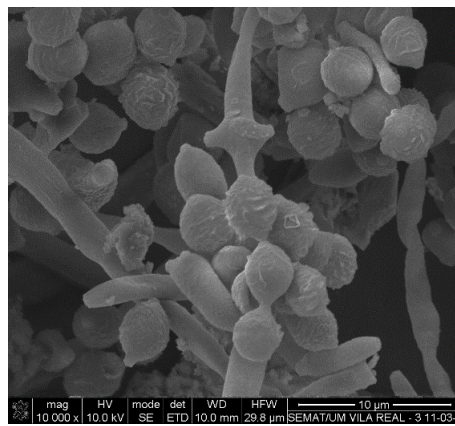
Figura 2-3 - Parede e teto do quarto: local de recolha de amostras de fungos na moradia em Sendim.

2.3 Análise ao microscópio eletrónico de varrimento

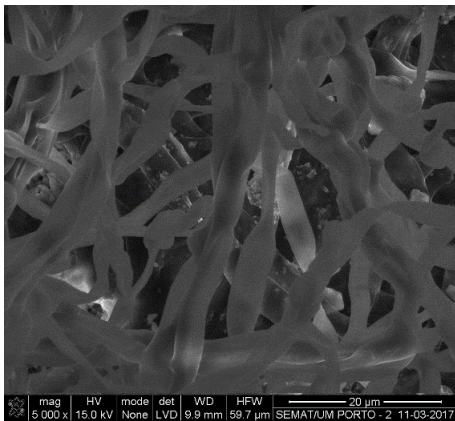
Com recurso ao microscópio eletrónico de varrimento (MEV) existente no Laboratório de Serviços de Caracterização de Materiais (SEMAT) da Universidade do Minho foram analisadas as amostras recolhidas. Com essa visualização verificámos a existência de fungos. Na Figura 2-4 apresentam-se como exemplo algumas imagens obtidas no MEV. Através da espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS), foi efetuada a análise elementar nos pontos Z1, Z2 de cada uma das amostras recolhidas, na Figura 2-5 estão identificados os pontos Z1 e Z2 na amostra recolhida no Porto.



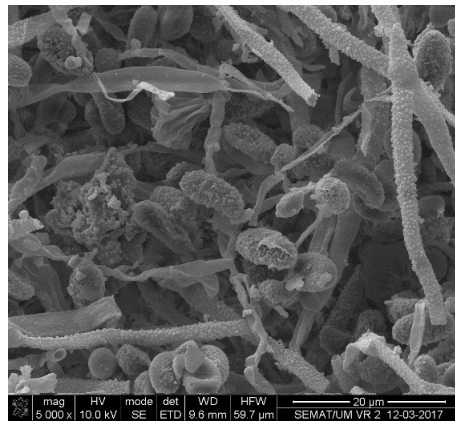
a)



b)



c)



d)

Figura 2-4 – Imagens obtidas no microscópio eletrónico de varrimento (ampliação 5000 x) a), c) e d) e 10.000 x b) - das amostras: a) edifício com mais de 35 anos; b) edifício com cerca de 20 anos; c) edifício com cerca de 10 anos; d) edifício com cerca de 25 anos

Nas Figura 2-6 e Figura 2-7, podemos verificar a composição química da amostra nos pontos Z1 e Z2, os elementos carbono (C), cálcio (Ca), oxigênio (O) e enxofre (S) são que se destacam mais. Esta análise confirma a existência de fungos nas amostras recolhidas.

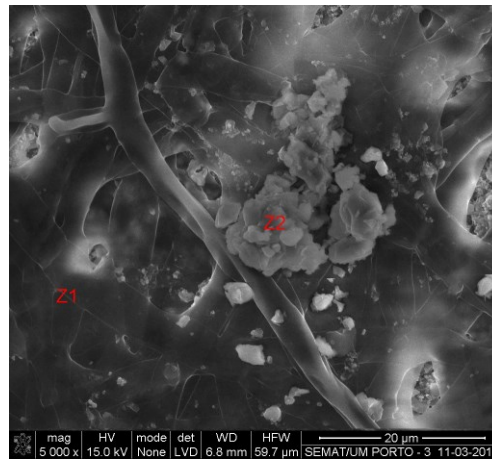


Figura 2-5 – Análise EDS nos pontos Z1 e Z2.

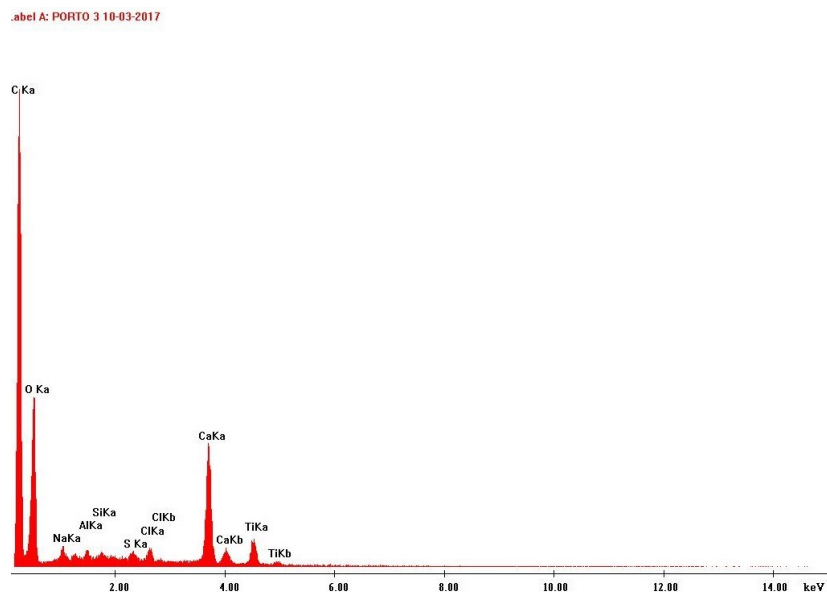


Figura 2-6 - Espectro EDS no ponto Z1.

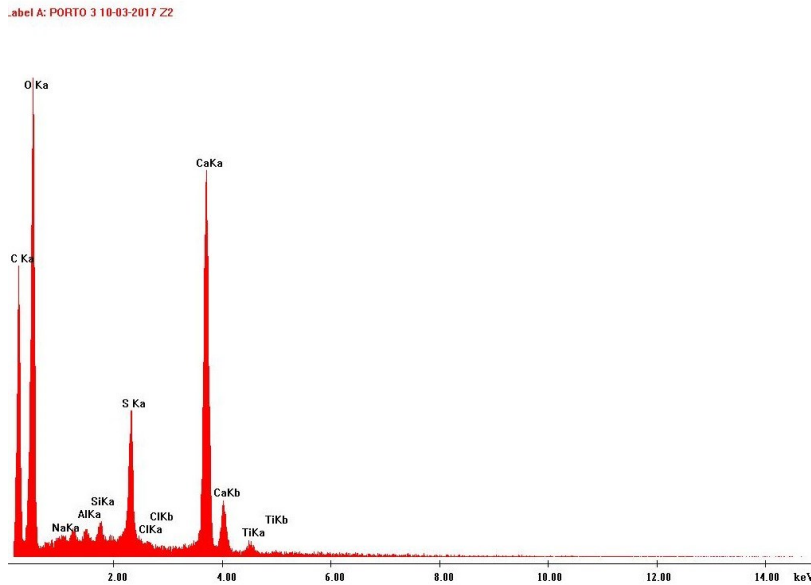


Figura 2-7 – Espectro EDS no ponto Z2.

2.4 Caracterização morfológica de fungos isolados

Após amostragem, procedeu-se ao isolamento das espécies fúngicas no Laboratório de Micologia Aplicada do Centro de Engenharia Biológica em colaboração com a Micoteca da Universidade do Minho. Para poder determinar a identificação ao nível do género do fungo e efetuar a sua caracterização morfológica, foi feita numa primeira fase a inoculação em meio de cultura DRBC (Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base).

Sempre que necessário, devido ao aparecimento de contaminações, as amostras foram repicadas para novo meio de cultura. A obtenção dos isolamentos demorou em média 3 a 5 dias em estufa a 25 °C e no escuro. Após a obtenção das culturas puras os isolamentos foram mantidos em meio PDA (Potato Dextrose Agar).

Na Figura 2-8, apresenta-se um esquema do processo de inoculação das placas em meio de cultura. Parte do material obtido da coleta será colocado a crescer em 4 placas com meio DRBC, a 25 °C no escuro, durante 3 a 5 dias. O restante material será guardado para ser utilizado posteriormente na análise genómica. Foram preparadas 12 amostras x 4 placas= 48

placas + 2 para controlo. Posteriormente isolaram-se os fungos crescidos para placas de 45 mm num meio de cultura diferente: MEA (Malt Extract Agar) e PDA. A preparação dos meios de cultura é apresentada na Tabela 2-2.

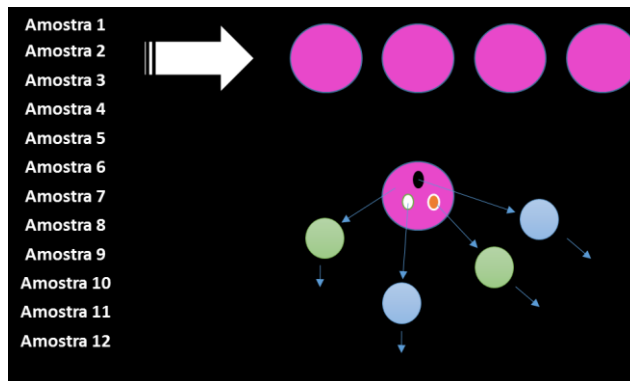


Figura 2-8 – Esquema da inoculação de placas em meio de cultura.

Tabela 2-2 - Preparação dos meios de cultura.

DRBC (Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base) (500 ml)	Dissolver 15,75 g de meio DRBC e adicionar 500 ml de água destilada (Figura 2-9);
	Hidratar uma ampola de Chloramphenicol e adicionar ao meio;
	Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos;
	Após o ciclo de esterilização deixar arrefecer e verter em placas de 90 mm.
MEA (malt extract agar)	20 g extracto de malte; 1 g peptona; 20 g glucose; 20 g agar
	Água destilada até 1000 ml
	Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.
PDA (Potato Dextrose Agar)	Dissolver 39 g em 1000 ml de água destilada;
	Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.



Figura 2-9 – Exemplo de preparação do meio de cultura DRBC.



Figura 2-10 - Crescimento dos fungos em meio DRBC - 3º dia – amostra 10 (edifício local IV)



Figura 2-11 - Crescimento de fungos em meio DRBC - 3º dia - amostra 11 (edifício local IV)



Figura 2-12 - Crescimento dos fungos em meio MEA - 6º dia - amostra 10 (edifício local IV)



Figura 2-13 - Crescimento dos fungos em meio MEA - 6º dia - amostra 5 (edifício local II)

Nas Figura 2-10 a 2-13, podemos verificar o crescimento dos fungos isolados em meios de cultura DRBC e MEA.

O exame direto dos isolados permite a determinação da cor da colónia e outras características, como a quantidade de esporos, a presença ou ausência de esclerócios e o tipo de estruturas reprodutivas. Para determinar o género a que pertence o fungo isolado, é necessário observar microscopicamente.

A preparação de lâminas para observar ao microscópio segue os seguintes passos:

1. Retirar uma amostra do fungo com uma agulha e colocar na lâmina;
2. Deitar uma gota de álcool e retirar os esporos batendo a agulha na amostra, escorrer e repetir as vezes necessárias;
3. Corar com uma gota do corante de azul de algodão;
4. Colocar a lamela por cima da amostra e observar ao microscópio.

Na Figura 2-14 podemos observar um esquema da preparação de lâminas para observação ao microscópio:

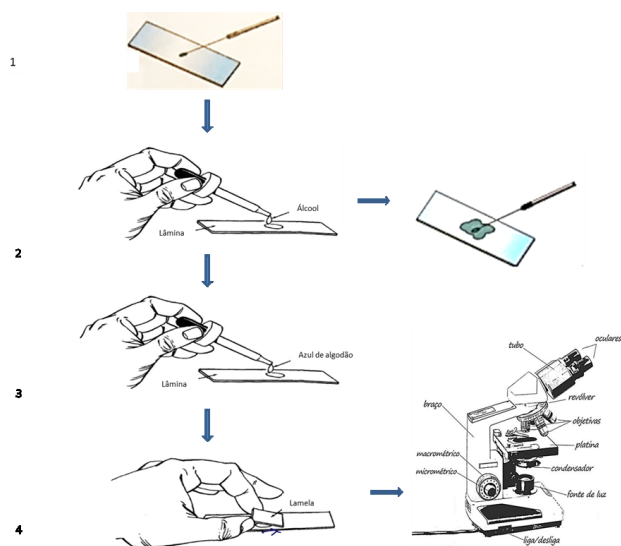


Figura 2-14 - Esquema de preparação de lâminas com amostras dos fungos e sua observação ao microscópio

Algumas das estruturas podem ser observadas nas figuras 3-15 a 3-18.

Através do método fenotípico, foram isolados fungos do género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria*. Houve fungos que foram isolados e não foi possível identificação através deste método.

Assim podemos afirmar que fungos do género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria*, existem em paredes e tetos contaminados em habitações da zona norte de Portugal. As amostras foram recolhidas em habitações com idades entre 10 e 35 anos localizadas em Sendim, Vila Real e Porto, cujos materiais usados nos rebocos foram o gesso, gesso cartonado, reboco e reboco estanhado.



Figura 2-15 - Estrutura de fungo do género *Aspergillus*.

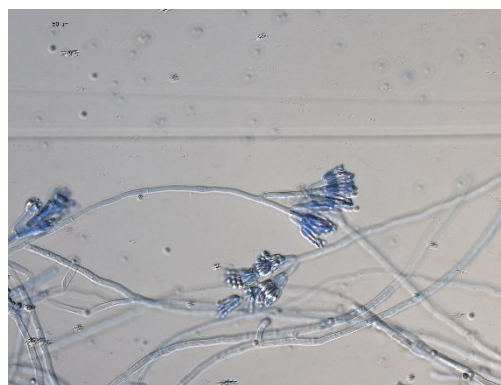


Figura 2-16 - Estrutura de fungo do género *Penicillium*.



Figura 2-17 - Estrutura de fungo do género *Cladosporium*.



Figura 2-18 - Estrutura de fungo do género *Alternaria*.

2.5 Caracterização molecular de fungos

Para a extração de ácido desoxirribonucleico (ADN) das espécies fúngicas foi usado o homogeneizador FastPrep-24 Classic Instrument (Figura 2-19) que oferece a máxima velocidade e desempenho para a lise de amostras biológicas. O homogeneizador inclui kit Fast ADN, que rápida e eficazmente extrai o ADN genómico. O kit Fast ADN é constituído por vários componentes e materiais indicados na Tabela 2-3 que são utilizados no isolamento do ADN genómico dos fungos, foram analisadas as amostras 2B, 5B, 6B e 12B.



Figura 2-19 - Homogeneizador FastPrep-24™ Classic Instrument

Tabela 2-3 – Componentes e materiais incluídos no kit Fast ADN

Lysing Matrix A 100	tubos de 2.0 ml
1/4 Ceramic Spheres	esferas cerâmicas
Binding Matrix	É uma suspensão de sílica que liga o DNA a partir de lisados para posterior purificação.
Concentrated SEWS-M	É uma solução de EtOH-base usada na extração de DNA para remover impurezas uma vez que o DNA está ligado ao Binding Matrix.
DES	Dnase-free water
CLS-Y	CLS-Y (cell lysis solution) é uma solução de lise celular usada para o isolamento de genoma de ADN de fermento, algas e fungos.
SPIN Modules and Recovery Tubes	O Módulo Spin oferece separações mais rápidas e limpas do que métodos tradicionais, tais como colunas, filtros ou centrifugação simples.

A extração de ADN das espécies fúngicas baseou-se no protocolo seguinte:

1. Colocar até 200 mg de células (obtidas através das amostras que estavam a crescer em meio líquido durante 7 dias, nos tubos Lysing Matrix).
2. Adicionar 1 ml de solução de lisado CLS-Y. Ter cuidado para garantir que os vários tubos têm igual peso final em pares para os colocar de forma equilibrada no homogeneizador Fast Prep e na balança, caso necessário acertar o peso com CLS-Y.
3. Homogeneizar no Fast Prep durante 40 seg à velocidade de 6.0 m/s Ter cuidado ao colocar os tubos e assegurar que o suporte fica sobre as tampas.

-
4. Centrifugar a 14.000 x g durante 10 min para precipitar o pellet.
 5. Transferir o sobrenadante (700 µl) para um tubo de 2 ml e adicionar o mesmo volume de Binding Matrix. Misturar por inversão.
 6. Incubar à temperatura ambiente durante 5 minutos com agitação ligeira. Colocar no rotador a baixa velocidade.
 7. Transferir metade do volume (700 µl) da suspensão para um Spin Filter e centrifugar a 14.000 x g durante 1 min. Esvaziar o tubo de recolha. Adicionar o volume restante da suspensão ao Spin Filter e centrifugar como antes. Esvaziar o tubo de recolha.
 8. Adicionar 500 µl de SEWS-M e ressuspender o pellet. Este passo deve ser feito cuidadosamente para não danificar o filtro da coluna. Utilizar a força do líquido a sair da pipeta para ressuspender. Confirmar se se adicionou etanol ao SEWS-M concentrado.
 9. Centrifugar a 14.000 x g durante 1 min. Esvaziar o tubo de recolha.
 10. Voltar a centrifugar a 14.000 x g durante 2 min., para assegurar que todo o etanol foi diluído. Substituir o tubo de recolha por um novo.
 11. Para eluir o ADN, ressuspender a Matrix no Spin Filter com 100 µl de DES. Fechar o tubo e incubar a 55 °C durante 5 min. A ressuspensão deve ser cuidadosa já que se forma bastante espuma. Incubar no Thermoblock (incubador digital).
 12. Centrifugar a 14.000 x g durante 1 min. Para recuperar o ADN eluído. Descartar o Spin Filter. Guardar o ADN a 4 °C (até uma semana) ou a -20 °C.

Após a obtenção do ADN usamos a técnica PCR (reação em cadeia da polimerase) para amplificar uma cópia do ADN. O PCR é uma técnica comum e frequentemente indispensável usada em laboratórios clínicos e de pesquisa, para uma ampla variedade de aplicações (Erlich, 1989). O PCR é um método muito sensível de análise e por isso é necessário muito cuidado na sua realização para evitar contaminações, que possam inviabilizar o resultado. O processo consiste basicamente em usar mecanismos de replicação *in vitro*. Os processos de

polimerização das moléculas foram simplificados e existem equipamentos cada vez mais sofisticados e de fácil utilização.

Depois de extrair o ADN, a este é adicionada uma mistura, conhecida como pré-mix, que são as bases nitrogenadas ligadas com os iniciadores (também chamados primers). Esta mistura é colocada no termociclador, o qual faz ciclos de temperatura pré-estabelecidos com tempos exatos e específicos para cada reação (fragmento a ser amplificado) (Rapley, 1996).

O produto da PCR foi depois visualizado após eletroforese em gel de agarose (Figura 2-20).

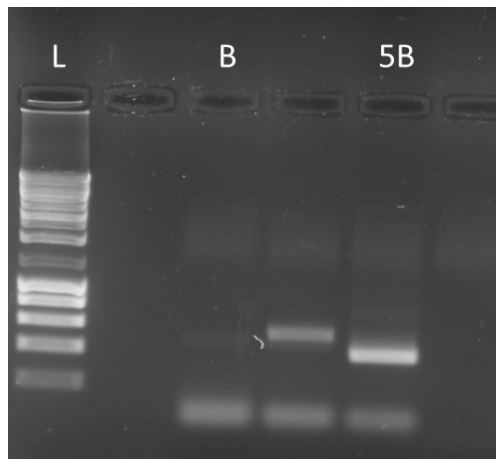


Figura 2-20 –Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 5B- *Cladosporium halotolerans*.

O produto da PCR foi enviado para o laboratório externo STAB Vida em Lisboa onde foi obtida a sequenciação para a amostra em estudo (Figura 2-21).

**AAATCGGTGCTGCTTTCTGGCAGACCATCTCCGGCGAGCATGGCCTCGACGGTCCGGcGTGTATGTTT
ACaCCCaTcgAaCGCAAGAAAGACTCATCTGACGCgTATCAGGTACAATGGCACgTCTGACCTCCAGCT
CGAGcGCATGAACGTCTACTTCAACGaGGTACGAGCCACTCAGGCAGCCGCATACGCACGACCCGAGA
GCATGCACTGACCACATGCCACCACAGGCCTCTGGCAACAAGTACGTCCCGCGCGCCGTCCTCGTCG
AcTTGGAGCCCGGCACCATGGACGCTGTCCGTGCCGGTCCCTTCGGC**

Figura 2-21 - Sequenciação obtida para a amostra 5B - *Cladosporium halotolerans*.

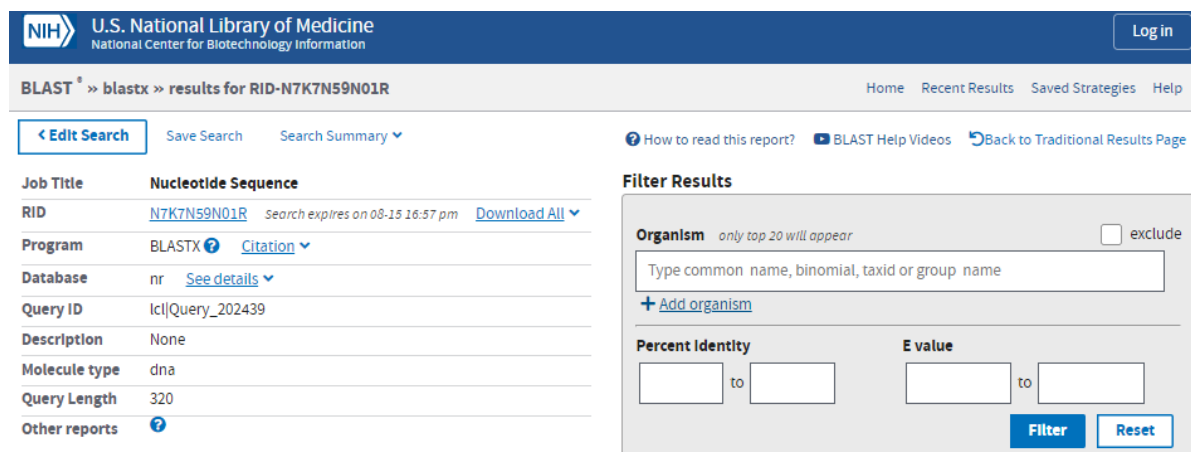
Com a sequenciação obtida e através do programa BLAST em inglês: Basic Local Alignment Search Tool, que significa: Ferramenta básica de pesquisa de alinhamento local), foi possível identificar o tipo de fungo em estudo. O programa BLAST é um algoritmo para comparar

informações de sequências biológicas primárias, tais como sequências de de diferentes proteínas ou nucleotídeos de sequências de ADN.

Uma pesquisa BLAST permite comparar uma sequência fornecida numa consulta com uma biblioteca ou base de dados de sequências e identificar as bibliotecas de sequências que se assemelham à sequência consultada e que estejam acima de um certo grau de semelhança.

O programa BLAST foi desenvolvido por Eugene Myers, Stephen Altschul, Warren Gish, David J. Lipman e Webb Miller no National Institutes of Health cuja página oficial é: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

No site BLAST e após a introdução da sequenciação conseguimos obter diversos resultados (Figura 2-22). Obtemos uma lista de sequências com os alinhamentos mais significativos (Figura 2-23), podemos também consultar cada um desses alinhamentos e efetuar a comparação com a nossa sequenciação (Figura 2-24).



The screenshot displays the BLAST search results interface. At the top, the NIH logo and 'U.S. National Library of Medicine' are visible. The search results are for 'BLAST >> blastx >> results for RID-N7K7N59N01R'. The search parameters are listed on the left, including Job Title (Nucleotide Sequence), RID (N7K7N59N01R), Program (BLASTX), Database (nr), Query ID (Ic|Query_202439), and Molecule type (dna). On the right, the 'Filter Results' section is active, showing options to filter by Organism, Percent Identity, and E value. The Organism filter is currently empty, and the Percent Identity and E value filters are also empty. The 'Filter' and 'Reset' buttons are visible at the bottom of the filter section.

Figura 2-22 - BLAST com os resultados da pesquisa após a introdução da sequência da amostra 5B

Sequences producing significant alignments							Download	Manage Columns	Show	100		
							GenPept	Graphics				
							Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	beta-tubulin [Cladosporium sp.]					87.0	129	99%	6e-20	50.47%	AWW01210.1	
<input type="checkbox"/>	beta-tubulin [Cladosporium halotolerans]					87.8	130	99%	1e-19	50.47%	ABQ53020.1	
<input type="checkbox"/>	beta-tubulin [Cladosporium sp. UBQCC-A-112083]					87.8	130	99%	1e-19	50.47%	AJD87734.1	
<input type="checkbox"/>	beta-tubulin [Cladosporium salinae]					87.8	130	99%	1e-19	50.47%	ABQ52992.1	
<input type="checkbox"/>	beta-tubulin [Cladosporium salinae]					87.4	129	99%	2e-19	50.47%	ABQ52990.1	

Figura 2-23 - Sequências com alinhamentos significativos.

beta-tubulin, partial [Cladosporium halotolerans]							Download	GenPept	Graphics	Sort by:	E value	Next	Previous	Descriptions	
Sequence ID: ABQ53020.1 Length: 137 Number of Matches: 2															
Range 1: 1 to 67 GenPept Graphics							▼ Next Match ▲ Previous Match								
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame									
87.8 bits(216)	1e-19	Compositional matrix adjust.	54/107(50%)	57/107(53%)	41/107(38%)	+3									
Query	3	IGAAFWQTIISGEHGLDGSVYVYTHRTQ-ERLI*RVSGTHARLtsssa*ststRYEPL	179												
Sbjct	1	IGAAFWQTIISGEHGLDGSVY T Q ER+	32												
Query	180	RQPHTHDPRACDHPMPQASGNKYVPRAVLVDLEPGTMDAVRAGPFG	320												
Sbjct	33	-----NVYFNEASGNKYVPRAVLVDLEPGTMDAVRAGPFG	67												
Range 2: 21 to 43 GenPept Graphics							▼ Next Match ▲ Previous Match ▲ First Match								
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame									
42.4 bits(98)	0.028	Compositional matrix adjust.	18/23(78%)	19/23(82%)	0/23(0%)	+2									
Query	113	YNGTSDLQLERMNVYFNEVRATQ	181												
Sbjct	21	YNGTSDLQLERMNVYFNE +	43												

Figura 2-24 - Alinhamento com o *Cladosporium halotolerans*.

Para os fungos dos géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Alternaria* isolados repetimos o procedimento anterior para efetuar também a identificação molecular.

Podemos visualizar na Figura 2-25 a PCR referente à amostra 2B e na Figura 2-26 a sequenciação obtida que permitiu identificar como *Aspergillus jensenii* a amostra 2B.

Na Figura 2-27 visualizamos a PCR referente à amostra 6B e na Figura 2-28 a sequenciação obtida que permitiu identificar como *Penicillium chrysogenum* a amostra 6B.

Para o último fungo identificado vemos na Figura 2-29 a PCR referente à amostra 12B e na Figura 2-30 a sequenciação obtida que permitiu identificar como *Alternaria sect. Alternaria* a amostra 12B.

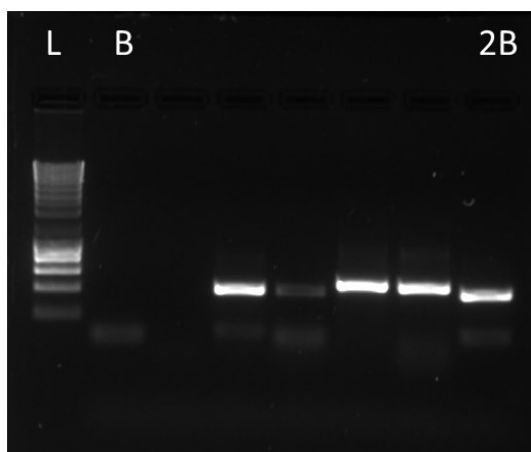


Figura 2-25 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 2B – *Aspergillus jensenii*

**GGTGCTGCTTTCTGGTGCCTCGAAAATTCATCCATTCAGATGGTATCTCTTTTCGTGCTTTTTGCTAA
 CGACTCTATAGGCAGACCATCTCCGGTGAGCACGGCCTCGATGGCTCCGGTGTGTGAGTACAACCCGT
 CCAGGACTCGATCAAACACGAGACAGAACACATCCCCTGATATAATGCAGTTACAATGGTACCTCCGA
 CCTCCAGCTCGAGCGTATGAACGTCTACTTCAACGAGGCCAGCGGCAACAAGTACGTTCCCTCGTGCCG
 TCCTCGTCGATCTCGAGCCCGGTACCATGGACGCTGTCCGTGCCGGTCCCTTCGGTCAGCTTTTCGGT
 CCCGACAA**

Figura 2-26 - Sequenciação obtida para a amostra 2B – *Aspergillus jensenii*

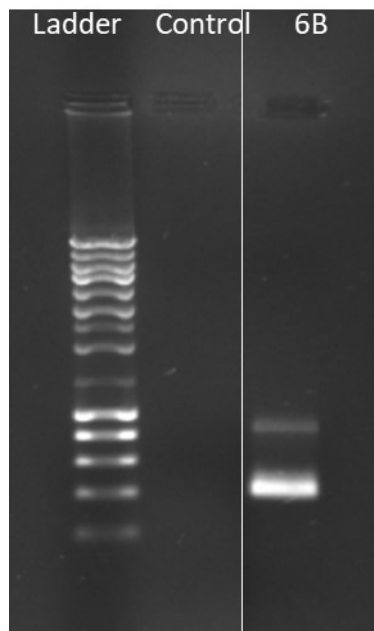


Figura 2-27 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 6B – *Penicillium chrysogenum*

**GTTGTCGGGGCGGAAAAGCTTGCCGAAGGGACCGGAGCGGACAGCGTCCATGGTACCGGGCTCCAAT
 CGACCAGAACGGCACGGGGAACGTACTTGTACCGCTGGCCTAGATTGTCAAAGAAAAACGCCCGATC
 AGATGATGCACAATTAAGATTCCAGTCATTGTACTCACATGGTTGAAGTAGACGTTTCATACGCTCGAG
 CTGGAGGTCGGAGGTACCATTGTACCTAGCAAGATATCAGACGTGTGATCCACCAGAATCCCATCACT
 GTTAAACTTACTGTCCATCGCCATCGAGACCGTGCTCGCCAGAGATGGTTTGCCTGTAATCCAGTTAGC
 AACTTGTCAATTGATACCCAACGGCAAAAAAAAAAACTCCGAGACTTACCA**

Figura 2-28 - Sequenciação obtida para a amostra 6B – *Penicillium chrysogenum*

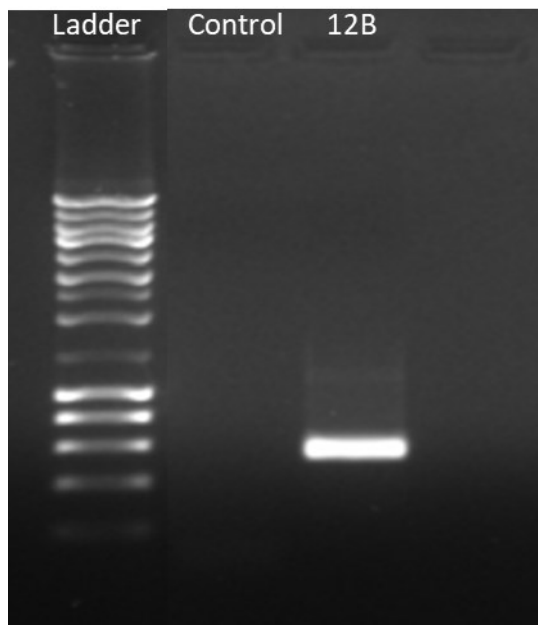


Figura 2-29 - Beta tubulin PCR (Bt2a-Bt2b) 12B – *Alternaria sect. Alternaria*

**GAGGTCAAAGTTGAAAAAAGGCTTAATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTGCTGC
GCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAAGAC
GCCAACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATACCAAAG
GGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCGCATTTCGC
TGC GTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAATTTGTTACTGAC
GCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGGGCGAACCCACCAAGGAAACAAGAAGTA
CGAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCATATTT
GTGTAATGATCCCTCCGCAGG**

Figura 2-30 - Sequenciação obtida para a amostra 12B – *Alternaria sect. Alternaria*

Com a conclusão das etapas descritas na Figura 2-31 foi possível obter a identificação molecular dos fungos isolados e confirmar a sua identificação morfológica.

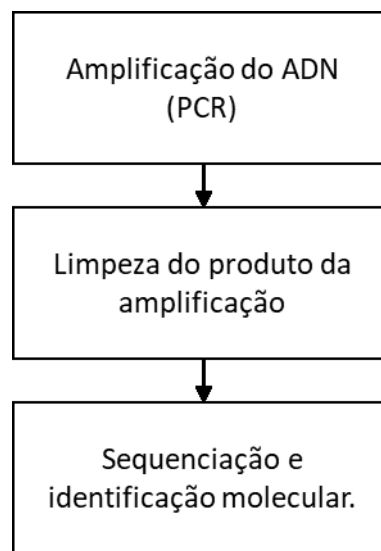


Figura 2-31 – Etapas da identificação molecular de fungos.

O fungo identificado *C. halotolerans* existente nos edifícios (Figura 2-32), será o fungo isolado utilizado nos ensaios de crescimento acelerado em laboratório, em argamassas de cal nano aditivadas com TiO_2 e micro cortiça, e assim poder avaliar a variação temporal do crescimento de fungos em materiais de construção. A opção recaiu pelo fungo *C. halotolerans* devido às suas características agressivas e de rápido desenvolvimento pois é um fungo que podemos designar como dominante.

Investigadores efetuaram a comparação de diversos métodos para avaliar a variação temporal do crescimento de fungos em materiais de construção, tendo obtido variação de resultados entre eles. Deve ser encorajado o uso de vários métodos para obter informações sobre o número de células vivas, bem como a biomassa fúngica total em superfícies de materiais de construção (Mensah-Attipoe et al., 2016).

Neste estudo a avaliação temporal do crescimento de fungos foi efetuada visualmente e com recurso a microscopia eletrónica. Por fragmento de cada amostra foram efetuadas entre 5 a 10 visualizações. O registo foi anotado numa escala de 0 a 10 em que 0 significa que a área observada não contém vestígio do desenvolvimento de fungos (0% de área contaminada) e 10 significa que a área visualizada está toda contaminada (100% de área contaminada), isto é que o fungo se desenvolveu e ocupou a superfície observada na sua totalidade.

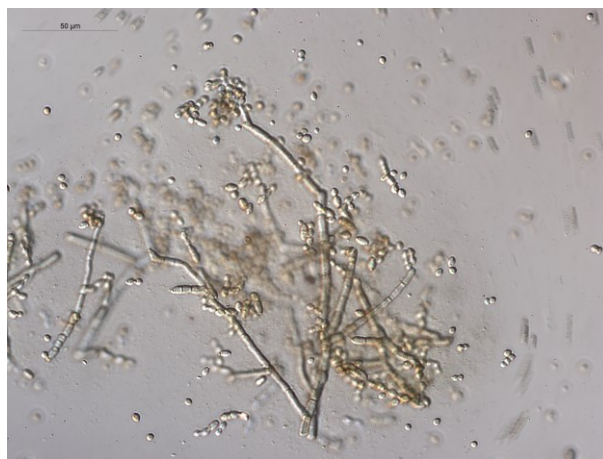


Figura 2-32 - Estrutura de fungo do género *C. halotolerans*.

3 PROCEDIMENTOS DE ENSAIO E MATERIAIS UTILIZADOS

3.1 Introdução

Um dos principais problemas existentes no interior dos edifícios é o aparecimento de fungos. Assim a sua prevenção ou eliminação fazem parte de diversos estudos na comunidade científica.

O uso de materiais com propriedades antifúngicas torna-se assim essencial e extremamente importante tanto na construção nova como na reabilitação de edifícios.

No presente capítulo, apresentam-se os procedimentos de ensaio e as matérias-primas usados neste trabalho.

3.2 Procedimentos de ensaio

Os ensaios de microscopia eletrónica e difração de raios X foram realizados no Laboratório de Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho (SEMAT/UM). Os ensaios de espectroscopia de raios X por dispersão em energia foram realizados nos laboratórios de Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho (SEMAT/UM) e Laboratório de Micologia Aplicada do Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho. Os ensaios de porosimetria de mercúrio e porosimetria a Hélio, foram realizados no Laboratório de Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. A espectrometria de difração laser foi realizada nos Laboratórios de Engenharia Mecânica da Universidade do Minho.

A identificação e caracterização dos fungos foram realizadas no Laboratório de Micologia Aplicada e na Micoteca da Universidade do Minho (MUM) no Centro de Engenharia Biológica (CEB/UM).

Os ensaios de trabalhabilidade e resistências mecânicas foram realizados no Laboratório de Materiais de Construção do Departamento de Engenharia Civil da Universidade do Minho.

O crescimento acelerado dos fungos foi realizado em câmara climática no Laboratório de Estruturas do Departamento de Engenharia Civil da Universidade do Minho.

3.2.1 Caracterização das matérias-primas

A caracterização das matérias-primas foi baseada essencialmente na determinação da análise granulométrica, espectrometria de difração laser, difração de raios X (XRD) e observações microscópicas. Os valores fornecidos pelos fabricantes para algumas propriedades também foram indicados.

3.2.1.1 *Análise granulométrica*

O ensaio de determinação da curva granulométrica do agregado foi realizado com base na norma portuguesa NP EN 933-1 (IPQ, 2000). O ensaio consiste na separação através da peneiração de uma amostra de material em diversas classes granulométricas.

Inicialmente uma amostra de agregado foi colocada em estufa a uma temperatura de 110 ± 5 °C até atingir a massa constante. Posteriormente, a amostra de areia foi colocada na coluna de peneiros, começando pelo peneiro de maior abertura e agitando os vários peneiros sem risco de perda de material. Foi registada a massa de material retido em cada peneiro.

3.2.1.2 *Espectrometria de difração laser*

A espectrometria de difração laser é uma técnica que permite analisar a distribuição de tamanhos de partícula de uma amostra. Esta técnica baseia-se na medição da variação angular na intensidade da luz difundida à medida que um feixe de laser interage com as partículas dispersas da amostra. Normalmente as partículas grandes tendem a dispersar a luz em pequenos ângulos e as partículas pequenas em ângulos grandes. Através da análise

dos diferentes padrões de dispersão angular e tendo por base a teoria de difusão da luz de Mie é assim possível calcular o tamanho das partículas presentes (Lab19).

3.2.1.3 Porosimetria por intrusão de mercúrio (MIP)

A porosimetria por intrusão de mercúrio (MIP) é uma técnica que permite quantificar a percentagem e a distribuição de poros abertos em uma dada amostra sólida. Esta técnica baseia-se em fenómenos capilares a pressões controladas, em que o poro é assumido como capilar, e na pressão necessária para aplicar o mercúrio a ser intrudido e preencher os poros presentes em função do seu tamanho, permitindo assim o cálculo de a distribuição de poros abertos. Permite analisar um conjunto de parâmetros relacionados com a porosidade aberta dos materiais e produtos, como a distribuição do tamanho dos poros e o diâmetro médio e o volume total de poros (Lab19).

A utilização da intrusão de mercúrio para obter informação sobre a estrutura porosa dos materiais, nomeadamente a distribuição de tamanhos de poros, a área de superfície, a densidade e a porosidade, remonta aos anos vinte e foi da autoria de Washburn (Webb et al., 1997)

3.2.1.4 Picnómetro de gás hélio

O picnómetro de gás determina o volume verdadeiro de um sólido, mesmo que poroso, por variação da pressão de gás numa câmara de volume conhecido (Webb et al., 1997). Normalmente utiliza-se hélio porque este gás, além de inerte, penetra facilmente nos poros (acessíveis) da amostra, devido ao pequeno tamanho dos seus átomos, permitindo, assim, determinar o volume do sólido com mais rigor.

O picnómetro de hélio é constituído por duas câmaras de volumes conhecidos (por calibração prévia): a câmara onde se coloca a amostra e a câmara de expansão, ligadas por uma válvula (válvula de expansão).

3.2.1.5 Observações microscópicas

As observações microscópicas dos fungos e da sua evolução nos materiais foram efetuadas com recurso a microscópios eletrónicos.

Na Figura 3-1, pode ver-se o equipamento existente no Laboratório de Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho (SEMAT/UM) que possui um sistema integrado de microanálise por raios X (EDS energy dispersive spectrometer - espectrómetro de energia dispersiva) e um sistema de deteção e análise de padrões de difração de eletrões retrodifundidos (EBSD Electron Backscatter Diffraction- Difração de Retroespalhamento de Elétrons) de marca EDAX modelo Pegasus X4M com as seguintes características (Semat, 2019):

Características do sistema EDS

- Detetor de Si (Li) tipo SEM de janela ultra fina (SUTW);
- Aquisição e análise de espectros de raios X (B-U) - qualitativo e quantitativo com correção de matriz ZAF e FIROZ;
- Captura digital de imagem SEM e seleção do ponto/região de análise;
- Mapas de perfis de raios X – por elementos, espectro integral e quantitativos;
- Automação da aquisição de mapas de raios X em regiões múltiplas;
- Análise sequencial automática de partículas e de regiões/campos múltiplos.

Características do sistema EBSD

- Unidade de deteção de EBSD com Câmara DigiView III e detector “Forward Scatter Detector System”;
- Software para registo e análise de padrões de difração de eletrões retrodifundidos;
- Software para registo, processamento e análise de OIM;
- “Software Delphi” de identificação de fases combinando resultados de análise EDS e EBSD (Base de Dados ICDD - Versão Académica).



Figura 3-1 - Microscópio eletrónico no SEMAT

No Laboratório de Micologia Aplicada da Universidade do Minho o microscópio de varredura usado para observação dos fungos foi um Phenom ProX (Figura 3-2), com as seguintes características (Paralab, 2019):

- Gama de magnificação: 80 - 150.000x
- Resolução: $\leq 8\text{nm}$
- Gama de elementos detetáveis: B5– Am95
- Fonte de cristais de estado sólido de longa duração e alto brilho (CeB6)
- Gama de aceleração: 5, 10 e 15 kV - modo avançado na gama entre 4,8 kV e 15 kV com passos de 0.1kV
- Obtenção de imagem SEM após carregamento da amostra: <30 segundos
- Câmara a cores para navegação de amostra: zoom de 20 a 120x com possibilidade de operar em campo claro e escuro.
- Pro Suite incluído
- Baixo consumo de energia



Figura 3-2 - Microscópio eletrônico idêntico ao do Laboratório de Micologia Aplicada da Micoteca da Universidade do Minho (Paralab, 2019)

3.2.1.6 *Difração de raios X (XRD)*

A análise por difração de raios X (XRD – do inglês: x-ray diffraction) permite a identificação do material através da caracterização de sua estrutura cristalina e é uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos. Na Figura 3-3 encontra-se o equipamento usado no Laboratório de Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho (SEMAT/UM) que possui as seguintes características técnicas (Semat, 2019):

- Gerador de raios-X com potência máxima de 3 kW;
- Voltagem do gerador de raios-X: 20-60 kV, ajustável em passos de 1 kV;
- Corrente do gerador de raios-X: 10-60 mA, ajustável em passos de 1 mA;
- Configuração do goniómetro: Theta/2Theta ou Theta/Theta;
- Passo do goniómetro (Theta/2Theta): 0.0001°;
- Variação angular: - 110° a 168°;
- Ampola de raios-X (ânodo) de cobre com focagem longa e fina (alta resolução);
- Espelho de raios-X (tipo Göbel) de alto ganho para o feixe incidente, com um comprimento mínimo de 40 mm e uma divergência de feixe menor que 0.03°;

-
- Aborsor automático/motorizado para atenuação do feixe com coeficientes até 1:10,000, e 1:1 para a radiação de cobre;
 - Colimador tipo “Knife edge” para reflectometria;
 - Conjunto de micro-fendas: 0.3, 0.5, 1, 1.2 e 2 mm de diâmetro e 1 mm de diagonal;
 - Filtro de níquel para a radiação Cu-K β ;
 - Fendas Soller para feixe paralelo com uma resolução angular entre 0.2 e 0.3°;
 - Detector de cintilação com uma taxa máxima de contagem superior a 106 cps;
 - Detector linear ultra-rápido para difracção de raios-X (LynxEye);
 - Eulerian Cradle integradora de rotações Chi e Phi bem como translações X-Y-Z;
 - Câmara de difracção não ambiental para difractometria numa gama alargada de temperaturas desde -190 a 1200 °C;
 - Pacote informático de software que contempla a interface com o goniómetro, tratamento de dados, análise completa de identificação de fases, quantificação Rietveld, análise de textura, elaboração de figuras polares, determinação de tensões residuais, ajuste dos perfis de reflectometria (materiais compósitos, filmes finos e multicamadas);
 - Base de dados ICDD/JCPDS compatível com a interface analítica do difractómetro.

Este equipamento, permite-nos efetuar os seguintes tipos de análise:

- Difractometria de raios-x convencional de elevada resolução em amostras volumétricas, filmes finos ou pós;
- Análise de fases;
- Difractometria ambiental, desde -190 °C a 1200 °C;
- Incidência rasante (GIXD):
- Avaliação das tensões residuais ($\sin^2 \psi$);
- Reflectometria

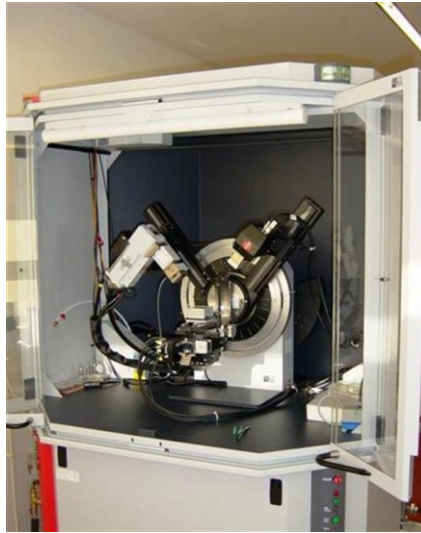


Figura 3-3 - Difração de raios X (XRD) (Semat, 2019)

3.2.1.7 Espectroscopia de raios X (EDS)

A espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS - do inglês: Energy Dispersion Spectroscopy) é uma técnica de microanálise de raios-X qualitativa e quantitativa que pode fornecer informações sobre a composição química de uma amostra para os elementos com número atômico.

3.2.2 Propriedades físicas das argamassas

3.2.2.1 Trabalhabilidade

A consistência das argamassas permite avaliar rapidamente a sua trabalhabilidade, sendo esta uma característica fundamental para garantir uma boa aplicação em obra e conseqüentemente a sua aceitação no mercado. Assim, foram realizados ensaios de determinação do diâmetro de espalhamento (Figura 3-4) com o objetivo de conferir uma trabalhabilidade adequada ao manuseio das argamassas desenvolvidas, tendo sido realizados com base no método da mesa de espalhamento, especificado pela norma europeia EN 1015-3 (CEN, 1999).

O ensaio consiste em preencher um molde troncocónico com a argamassa, sendo esta colocada em duas camadas, compactando cada uma com 10 pancadas. Após a colocação da segunda camada é necessário retirar o excesso de material na superfície do molde, extraindo o mesmo e aplicando 15 pancadas, na velocidade ideal de uma pancada por segundo. Por último, efetua-se o registo do valor de espalhamento obtido, em duas direções perpendiculares entre si. O valor de espalhamento é obtido calculando o valor médio das duas medições.



Figura 3-4 – Ensaio de trabalhabilidade

3.2.2.2 Massa volúmica

A massa volúmica das argamassas foi determinada tendo em consideração a sua massa e volume, segundo a expressão (3-1):

$$\gamma = \frac{m}{v} \tag{3-1}$$

Em que:

- γ – Massa volúmica da argamassa (kg/m^3);
- m – Massa da argamassa (kg);
- v – Volume da argamassa (m^3).

3.2.3 Propriedades mecânicas das argamassas

Nesta investigação foram determinadas várias propriedades mecânicas das argamassas, tais como a resistência à flexão e resistência à compressão.

3.2.3.1 Resistência à flexão

Para a determinação da resistência à flexão foram moldados 3 provetes prismáticos, com dimensões de 40x40x160 mm³. O processo de mistura e fabrico dos provetes foi efetuado de acordo com norma EN 1015-11 (CEN, 1999). Após o seu fabrico, todos os provetes foram conservados durante 7 dias em sacos de polietileno, sendo posteriormente colocados em laboratório à temperatura ambiente (cerca de 22 °C) durante 21 dias.

A determinação da resistência à flexão foi efetuada com controlo de força (Figura 3-5), a uma velocidade de 50N/s. A grandeza foi determinada com base na expressão (3-2):

$$R_f = 1,5 \times \frac{F \times L}{b \times d^2} \quad (3-2)$$

Em que:

- R_f – Resistência à flexão (MPa);
- F – Carga de rotura (N);
- L – Distância entre apoios (mm);
- b, d – Altura e largura da base do provete (mm).

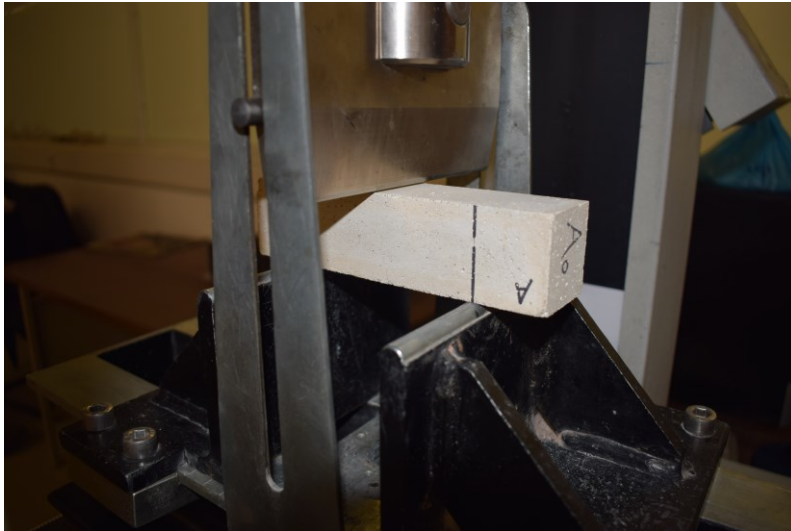


Figura 3-5 - Ensaio à flexão

3.2.3.2 Resistência à compressão

O ensaio de determinação da resistência à compressão (Figura 3-6) foi realizado com as metades resultantes dos ensaios de flexão.

O comportamento em compressão foi avaliado com controlo de força, efetuando a aplicação da carga no provete a uma velocidade de 150N/s, com recurso a uma peça metálica, suficientemente rígida para uniformizar a carga vertical (CEN, 1999). A resistência à compressão foi determinada com base na expressão (3-3):

$$R_c = \frac{F}{A} \quad (3-3)$$

Em que:

R_c – Resistência à compressão (MPa);

F – Carga de rotura (N);

A – Área de teste (mm²).

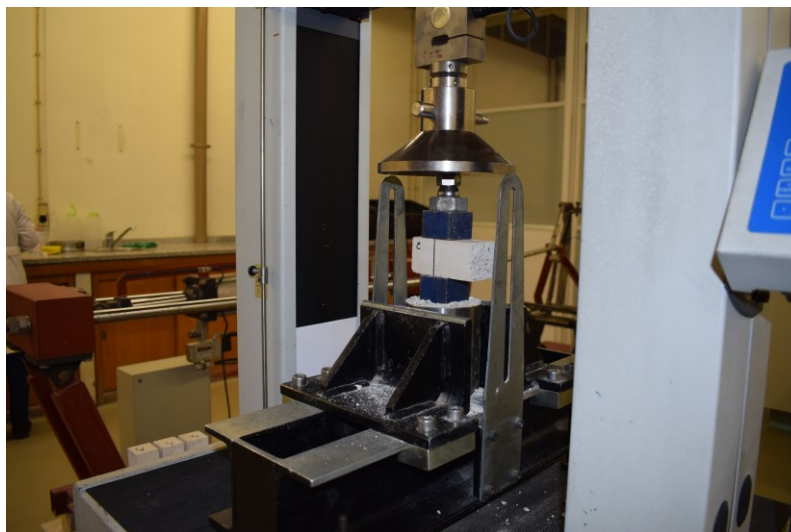


Figura 3-6 - Ensaio à compressão

3.3 Materiais usados na investigação

As matérias-primas utilizadas foram a cal hidráulica, areia, superplastificante, nano TiO_2 e micro grânulos de cortiça.

3.3.1.1 Caracterização do ligante

O resultado obtido da massa volúmica real para a cal hidráulica é de 2550 kg/m^3 (LNEC, 1979). Através da ficha técnica do produto verificamos que a composição química de cal disponível Ca(OH)_2 é igual ou superior a 15% e o sulfato é igual ou inferior a 2%.

3.3.1.2 Caracterização dos agregados

A caracterização dos agregados utilizados é um fator de extrema importância, uma vez que estes influenciam muitas propriedades das argamassas no estado fresco e endurecido. Nesta investigação foi usada areia do rio. Em laboratório foi determinada a massa volúmica da areia que apresentou um valor de 2569 kg/m^3 .

O conhecimento da distribuição granulométrica das partículas do agregado é de extrema importância, uma vez que pode influenciar algumas propriedades das argamassas, tais como a porosidade, permeabilidade e resistências mecânicas.

A Figura 3-7 apresenta a distribuição granulométrica da areia, tendo sido possível observar uma distribuição de partículas entre 0,125 mm e 8 mm, sendo que D10 corresponde a 162,5 μ m, D50 corresponde a 0,7 mm e D90 corresponde a 2,8 mm. Apresentando um tamanho médio de partícula de 0,762 mm.

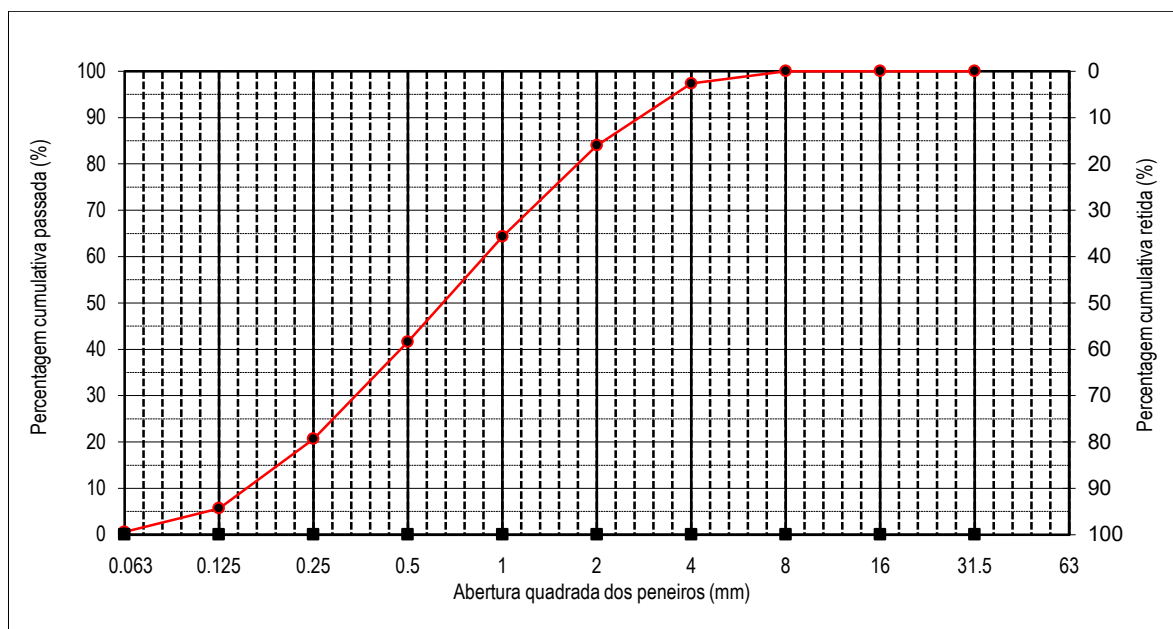


Figura 3-7 - Curva granulométrica da areia.

3.3.1.3 Caracterização do superplastificante

Nesta investigação utilizou-se o superplastificante produzido pela BASF, comercialmente designado por MasterGlenium SKY 617. O seu principal objetivo de aplicação deveu-se à diminuição da trabalhabilidade das argamassas com a adição de nano e micro aditivos e assim permitir manter uma boa trabalhabilidade às mesmas. O material é um polímero baseado em poliácrlato e com uma densidade de 1050 kg/m³.

3.3.1.4 Caracterização do nano TiO_2

O nano TiO_2 usado nesta investigação comercializado pela Evonik Degussa é o Aeroxide TiO_2 - P25. O material é constituído por Anatase e Rutilo, com uma densidade de 3800 kg/m^3 . A relação peso de Anatase e Rutilo é de aproximadamente 80/20. O diâmetro médio das partículas é de $\approx 21 \text{ nm}$.

O difratograma de raios X (XRD) do TiO_2 - P25 é apresentado na Figura 3-8. Notam-se os picos com pequeno alargamento e elevada intensidade indicando o perfil cristalino.

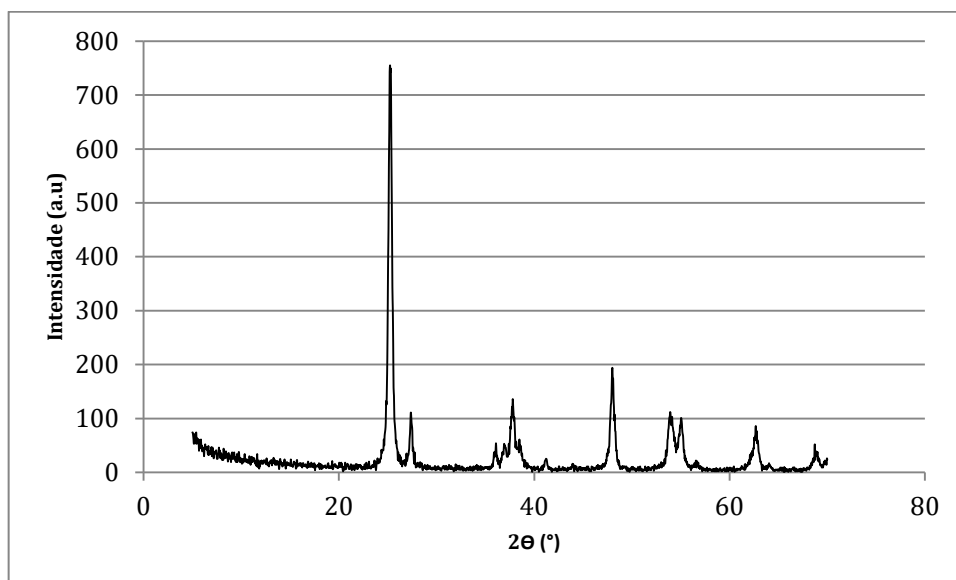


Figura 3-8 - Difratograma de raio X (XRD) da amostra de TiO_2 - P25 fornecida pela Evonik.

3.3.1.5 Caracterização dos micro grânulos de cortiça

Os micro grânulos de cortiça foram fornecidos pela empresa Amorim Cork Composites não sendo até à data um material comercializado com a referência MF8.

Na Figura 3-9 vemos a espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da amostra de micro grânulos de cortiça, a sua composição e análise química no ponto + está identificada na Figura 3-10 e na Tabela 3-1. A micro cortiça é essencialmente composta por Carbono (71,48%), é composta também por Oxigénio, Potássio, Cloro, Cálcio e Fósforo estes elementos em menores quantidades.

O difratograma de raios X (XRD) da amostra micro grânulos de cortiça é apresentado na Figura 3-11.

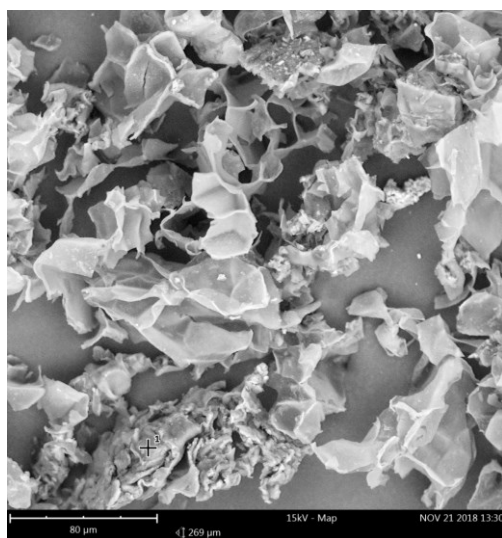


Figura 3-9 – Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da amostra de cortiça em (+)

Tabela 3-1 - Identificação química da amostra de cortiça no ponto (+).

Elemento n°	Símbolo	Nome	Concentração atômica (%)	Peso (%)
6	C	Carbono	77,36	71,48
8	O	Oxigénio	22,25	27,39
19	K	Potássio	0,24	0,71
17	Cl	Cloro	0,08	0,23
20	Ca	Cálcio	0,05	0,14
15	P	Fósforo	0,02	0,05

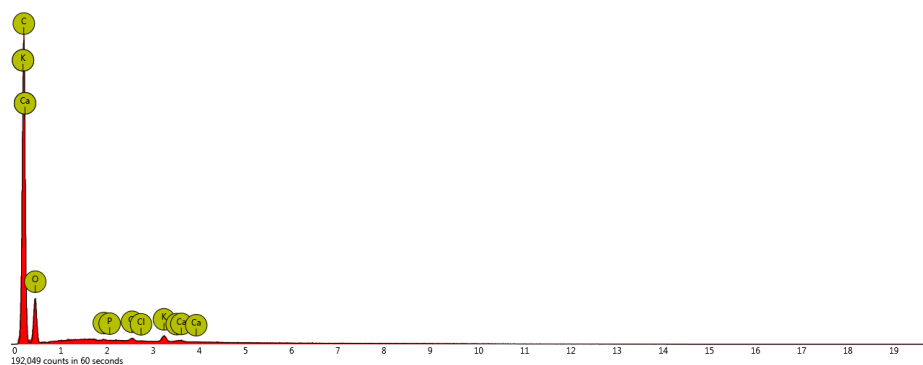


Figura 3-10 - Análise química da amostra de cortiça no ponto (+).

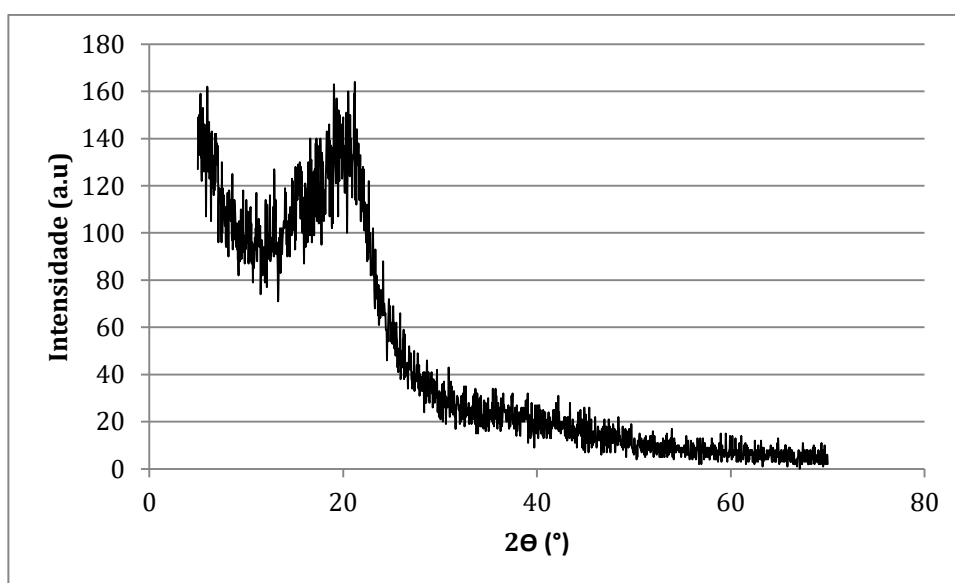


Figura 3-11 - Difratoograma de raios X (XRD) da amostra de micro grânulos de cortiça.

Realizou-se também a análise granulométrica por difração laser para a amostra de grânulos de cortiça. Utilizou-se nesta análise o equipamento Marvern series 2600 droplet and particle size analyzer (Malvern Instruments). A amostra não sofreu qualquer tratamento prévio (dispersão química ou mecânica) e as condições de análise são as apresentadas na Tabela 3-2. O valor de D [4,3] é de 56,51 μm , para D[3,2] obteve-se 40,21 μm , o D90 corresponde a 98,54 μm , o D10 é 23,79 μm e D50 é 51,75 μm . Na Tabela 3-3 é apresentada a listagem de resultados obtidos dos diâmetros e percentagem acumulada das partículas, o respetivo gráfico é apresentado na Figura 3-12.

Tabela 3-2 – Condições técnicas dos ensaios realizados.

Comprimento focal	63mm
Comprimento do feixe	50mm
Obturação	0,1487
Velocidade de agitação e circulação	2600rpm

Tabela 3-3 - Análise granulométrica da amostra de cortiça.

Diâmetro (μm)	Concentração (%)	Valor cumulativo (%)	Diâmetro (μm)	Concentração (%)	Valor cumulativo (%)
1,22	0,00	0,00	12,50	0,40	2,20
1,31	0,00	0,00	13,40	0,40	2,60
1,41	0,00	0,00	14,40	0,50	3,10
1,51	0,00	0,00	15,50	0,60	3,70
1,63	0,00	0,00	16,70	0,70	4,40
1,75	0,00	0,00	17,90	0,80	5,20
1,88	0,00	0,00	19,30	1,00	6,20
2,09	0,00	0,00	20,70	1,10	7,30
2,18	0,00	0,00	22,30	1,30	8,60
2,34	0,00	0,00	24,00	1,50	10,10
2,52	0,00	0,00	25,80	1,70	11,80
2,71	0,00	0,00	27,70	2,00	13,80
2,91	0,00	0,00	29,80	2,40	16,20
3,19	0,00	0,00	32,00	2,90	19,10
3,37	0,00	0,00	34,40	3,50	22,60
3,62	0,00	0,00	37,00	4,10	26,70
3,89	0,00	0,00	39,80	4,60	31,30
4,19	0,00	0,00	42,80	5,00	36,30
4,50	0,00	0,00	46,10	5,20	41,50
4,84	0,00	0,00	49,50	5,30	46,80
5,21	0,10	0,10	53,30	5,20	52,00
5,60	0,10	0,20	57,30	5,10	57,10
6,02	0,10	0,30	61,60	4,90	62,00
6,48	0,10	0,40	66,20	4,70	66,70
6,97	0,10	0,50	71,20	4,50	71,20
7,49	0,10	0,60	76,60	4,40	75,60
8,05	0,10	0,70	82,40	4,30	79,90
8,66	0,10	0,80	88,60	4,10	84,00
9,31	0,20	1,00	95,20	4,10	88,10

10,00	0,20	1,20	102,00	4,00	92,10
10,80	0,30	1,50	110,00	4,00	96,10
11,60	0,30	1,80	118,00	3,90	100,00

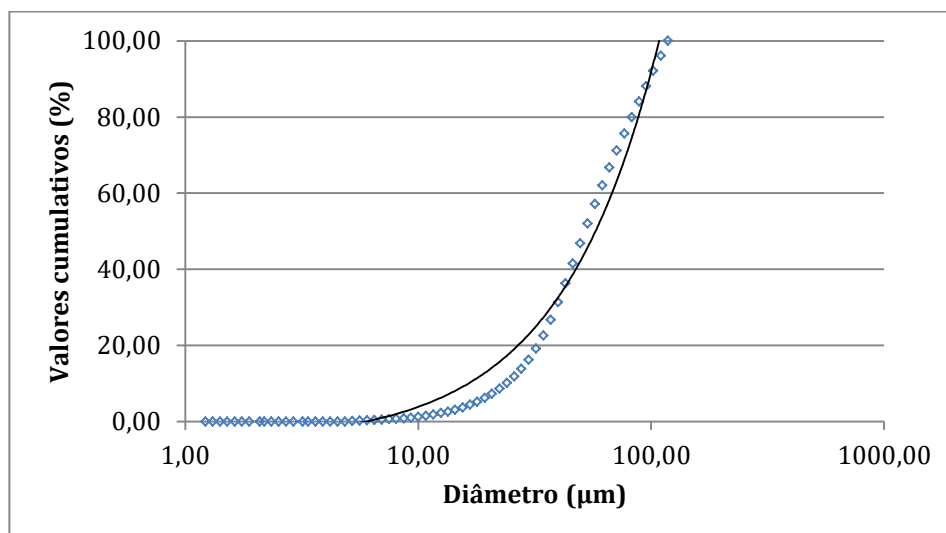


Figura 3-12 – Histograma da análise granulométrica da amostra de cortiça.

3.4 Considerações finais

Todos os procedimentos de ensaio foram selecionados tendo em consideração os objetivos gerais e específicos desta investigação. Em cada fase foram selecionados ensaios específicos de modo a obter as características definidas. Todos os ensaios foram baseados em normas devidamente identificadas, com o objetivo de permitir a sua comparação com outros trabalhos experimentais. Devido à especificidade dos materiais utilizados, foi necessário efetuar algumas adaptações nos referidos procedimentos de ensaio, tendo sido estes referidos sempre que necessário. A seleção e caracterização das matérias-primas utilizadas foram realizadas de forma rigorosa, com base em vários ensaios específicos.

4 ARGAMASSAS DE CAL COM INCORPORAÇÃO DE NANO TiO₂

4.1 Introdução

A reabilitação de edifícios associada às questões ambientais fazem que na construção se procurem soluções alternativas às aplicações de biocidas ou materiais hidrófugos.

O estudo de argamassas com propriedades antifúngicas não tem tido o devido interesse pela comunidade científica. Torna-se urgente encontrar e desenvolver tecnologias construtivas que nos permitam prevenir e controlar o desenvolvimento de fungos nos edifícios.

Neste capítulo são apresentados vários estudos efetuados, abordando várias temáticas e problemáticas deste tipo de argamassas. A nano TiO_2 tem sido usada em diversos estudos onde se aproveitam as suas propriedades fotocatalíticas, neste estudo usou-se a nanotecnologia de maneira a aproveitar as características nano do TiO_2 já amplamente estudadas.

O termo fotocatalise é a aceleração de uma fotorreação na presença de um catalisador. De uma maneira geral o processo é baseado na irradiação de um fotocatalisador (semicondutor inorgânico), neste caso o TiO_2 , que absorve a energia do fóton (luz UV), maior ou igual à energia do “band gap” (quantidade mínima de energia para excitar o eletrão) do semicondutor para provocar a transição eletrónica (Figura 4-1). O eletrão, sob irradiação, é promovido da banda de valência para a banda de condução, oxidando compostos orgânicos e reduzindo metais dissolvidos ou outras espécies (Ziulli et al., 1998).

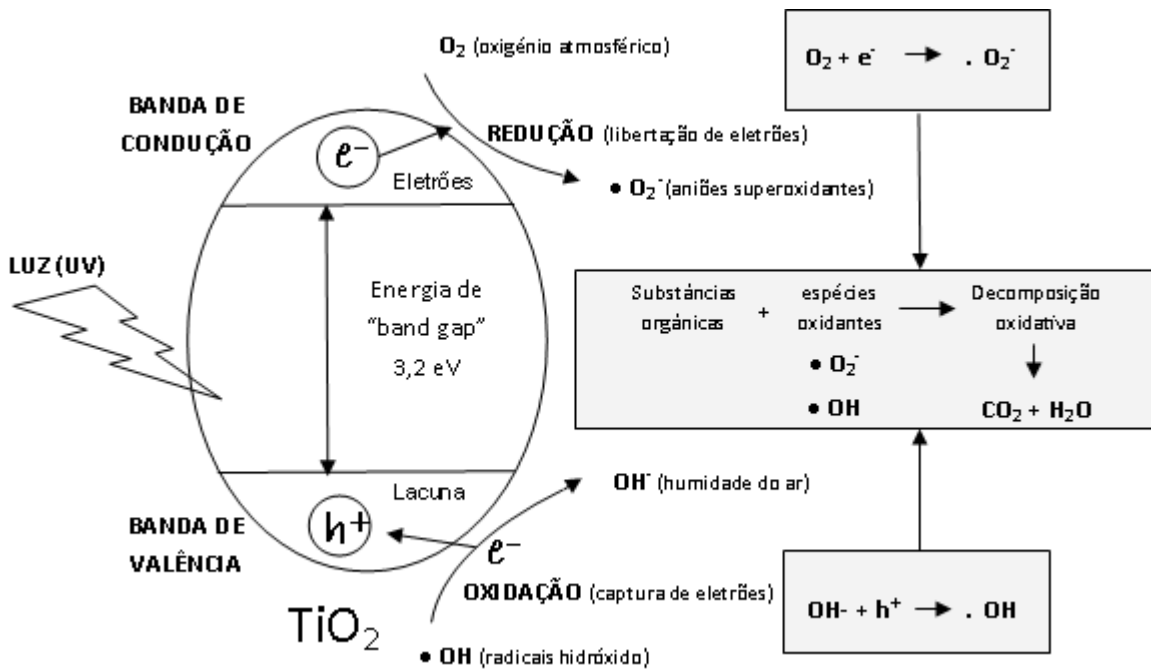


Figura 4-1 – Esquema simplificado da fotocatalise heterogenea do TiO_2 adaptado de (Ferreira, 2005)

No que diz respeito às propriedades físicas e mecânicas das argamassas foi realizado um estudo no seu estado fresco e endurecido. Assim, serão apresentadas diferentes propriedades tais como: trabalhabilidade, comportamento à flexão, comportamento à compressão, crescimento acelerado de fungos, análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e a gás hélio e observação ao microscópio do crescimento de fungos.

Nesta investigação usou-se a cal hidráulica (NHL 5) como ligante, a areia de rio, superplastificante (SP) e por último, o nano TiO_2 estes materiais já foram descritos no capítulo 3.

4.2 Composição e fabricação

Foram desenvolvidas 4 formulações distintas, as quais se apresentam na Tabela 4-1. As formulações em estudo são constituídas por diferentes percentagens de TiO_2 (2, 4 e 6%), existindo sempre uma composição de referência, ou seja sem adição de nano TiO_2 . O processo de mistura e fabrico dos provetes para a determinação da resistência à compressão

e flexão foi efetuado de acordo com norma EN 1015-11. Para cada composição, foram moldados 3 provetes prismáticos com 40x40x160 mm³.

Tabela 4-1- Formulação das argamassas (kg/m³).

COMPOSIÇÃO	LIGANTE	AREIA	SP	TiO ₂	ÁGUA
A0 - 0% TiO ₂	500,00	1407,52	1,00	0,00	292,56
A1 - 2% TiO ₂	500,00	1399,13	1,50	10,00	292,56
A2 - 4% TiO ₂	500,00	1390,74	2,00	20,00	292,56
A3 - 6% TiO ₂	500,00	1382,35	2,50	30,00	292,56

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e de gás hélio

O tamanho dos poros e a distribuição nas argamassas foram analisados usando o instrumento de porosimetria por intrusão de mercúrio (MIP), usando uma faixa de pressão de 0,2396 a 413 MPa, o que permitiu a medição do tamanho de poro de 10,64 μm a 3,5 nm. Foram usados na análise, um ângulo de contato avançado/recuando, de mercúrio de 140 ° e tensão superficial de 0,480 N/m.

A porosidade teórica foi determinada usando porosímetro a hélio do laboratório de Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

Na Figura 4-2 observa-se que para as amostras A1_{2%TiO₂} e A2_{4%TiO₂} a percentagem maior de poros está entre os diâmetros 1 e 10 μm (60%) e 40% dos poros é de menor dimensão. E nas amostras A0_{0%TiO₂} e A3_{6%TiO₂} a percentagem menor de poros está entre os diâmetros 1 e 10 μm (30%) e 70% dos poros é de menor dimensão.

Na Figura 4-3 verificamos que a maioria das amostras em estudo apresentam a quantidade de poros de maior dimensão entre 7 a 8 μm de diâmetro e poros de menor dimensão entre os 0,05 e 0,1 μm. Pela Figura 4-3, observa-se também que a crescente introdução de TiO₂,

implica o aumento da percentagem de poros de maior dimensão com 7 a 8 μm de diâmetro e diminui a percentagem de poros de menor dimensão.

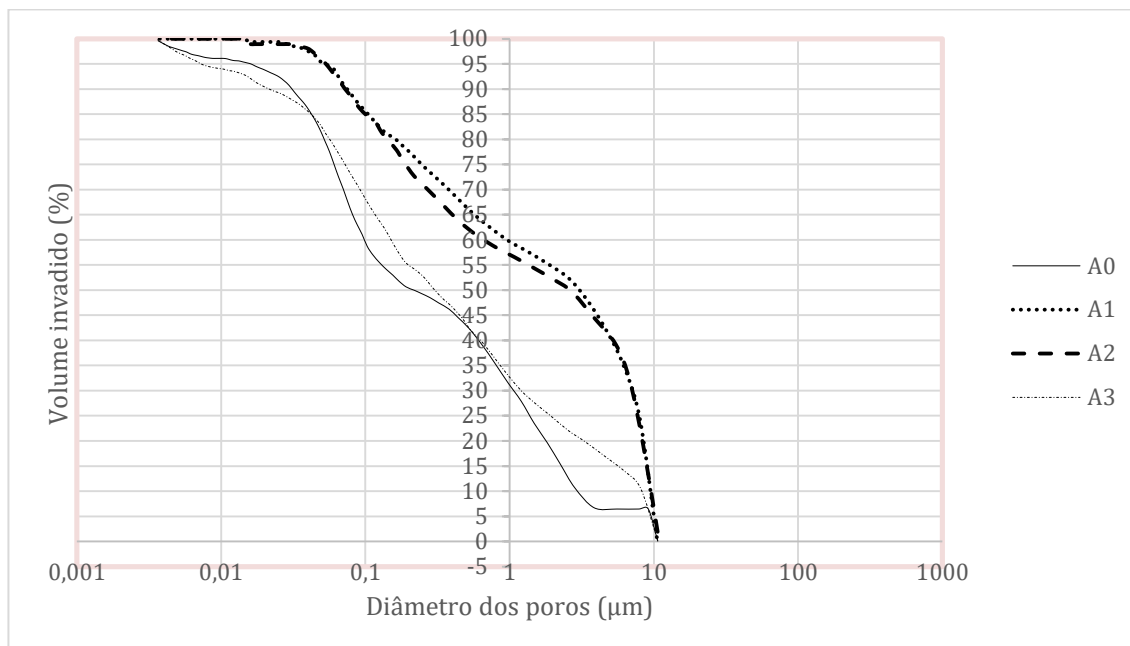


Figura 4-2 - Percentagem de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias

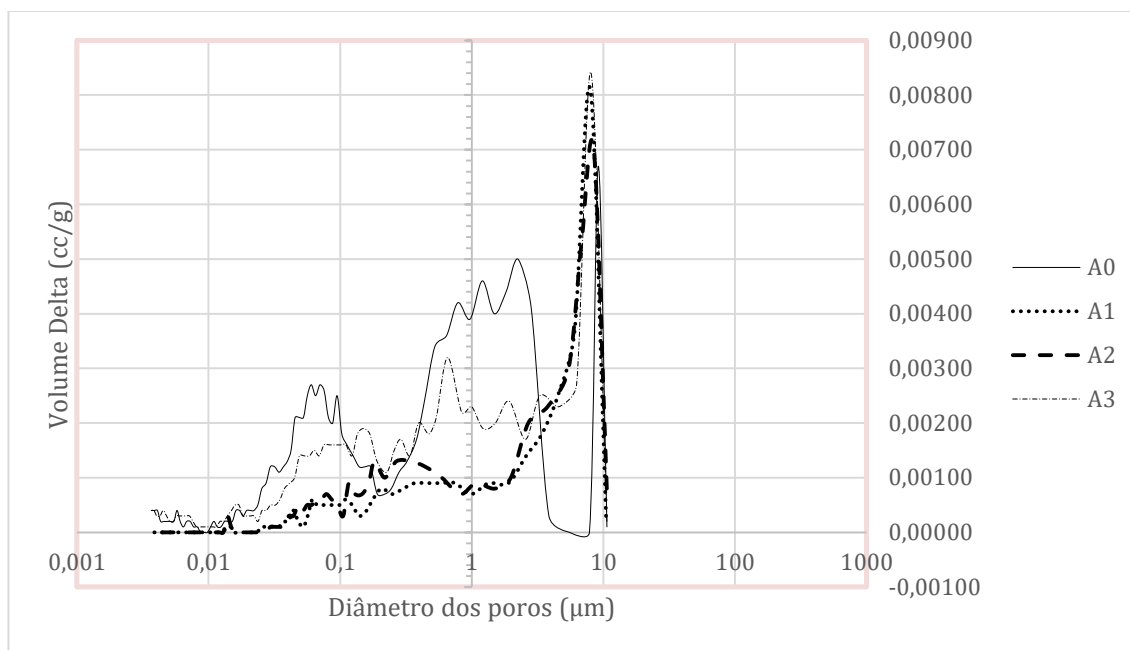


Figura 4-3 – Quantidade de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias

A porosidade total é obtida através da soma entre a porosidade interpartículas e a porosidade intrapartículas, conforme representado esquematicamente na Figura 4-4.

O gás hélio é usado para medir a “densidade real” e a “verdadeira porosidade” com a suposição de que o hélio, sendo o menor átomo, deve ser capaz de penetrar no menor poro, enquanto outros fluidos não. Pequenos átomos de hélio são capazes de penetrar nos poros microscópicos das amostras (Schobert, 2013). Essa determinação mede a porosidade das amostras mais efetivamente (Glover, 2014).

No entanto através do ensaio de porosimetria de mercúrio observamos que apesar da porosidade interpartículas ser mais baixa nas amostras $A1_{2\% TiO_2}$ e $A3_{6\% TiO_2}$, verifica-se que a porosidade intrapartículas, total e teórica (esta obtida através de porosimetria a hélio), são bastante mais elevadas em relação às amostras $A1_{2\% TiO_2}$ e $A2_{4\% TiO_2}$.

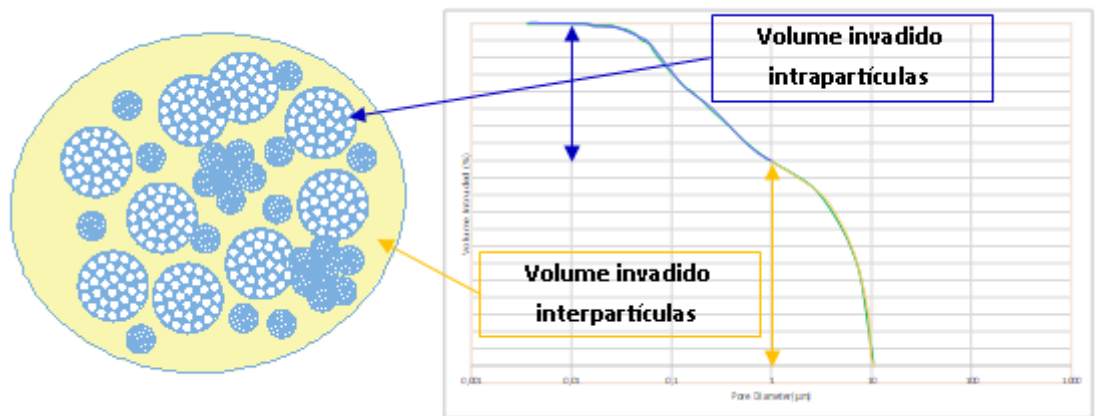


Figura 4-4 – Sumário de porosidade (Jerónimo et al., 2019)

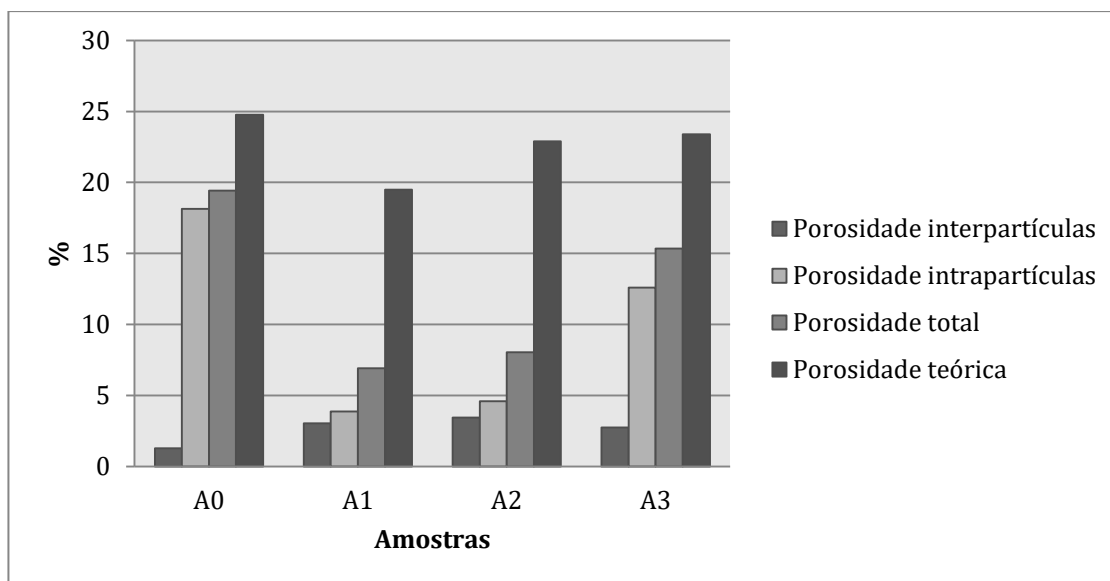


Figura 4-5 - Porosidade das argamassas aos 180 dias (Jerónimo et al., 2018)

As amostras A1_{2%TiO₂} e A2_{4%TiO₂} têm uma estrutura de poros muito próxima e na sua globalidade podemos afirmar que são muito menos porosas que a amostra A0_{0%TiO₂}, tendo esta amostra uma estrutura mais próxima da amostra A3_{6%TiO₂}, como se verifica pela Figura 4-5 e na Tabela 4-2.

A introdução de TiO₂ proporcionou uma maior homogeneidade das amostras principalmente a A1_{2%TiO₂} e A2_{4%TiO₂} com uma redução significativa da porosidade. No caso da amostra A3_{6%TiO₂} apesar da porosidade interpartículas ser baixa houve um grande aumento da porosidade intrapartículas que se justifica devido ao aumento das partículas finas e a sua dificuldade de mistura na argamassa.

Tabela 4-2 - Resultados de porosidade das argamassas

Código	Amostras	Diâmetro médio do poro (nm)	Porosidade Interpartículas (%)	Porosidade Intrapartículas (%)	Porosidade Total (%)	Porosidade Teórica (%)
A0	0% TiO ₂	56,60	1,27	18,15	19,42	24,75
A1	2% TiO ₂	247,40	3,04	3,87	6,91	19,49
A2	4% TiO ₂	237,00	3,45	4,59	8,03	22,90
A3	6% TiO ₂	50,17	2,75	12,58	15,33	23,40

Com a incorporação de TiO_2 , o diâmetro médio dos poros aumenta. No entanto à medida que a percentagem de TiO_2 aumenta o diâmetro médios dos poros diminui. Isto deve-se ao efeito conjugado do SP e do empacotamento causado pela finura elevada do TiO_2 .

4.3.2 Trabalhabilidade

Os ensaios de trabalhabilidade foram realizados com o objetivo de conferir uma trabalhabilidade adequada ao manuseio das argamassas desenvolvidas, tendo sido realizados com base no método da mesa de espalhamento, especificado pela norma europeia EN 1015-3 (CEN, 1999). O valor resultante do ensaio apenas foi considerado, quando compreendido entre 160-180 mm. Com o aumento da percentagem de nano TiO_2 verificou-se que a trabalhabilidade da argamassa diminui e para conseguir manter a trabalhabilidade dentro dos valores definidos foi usado SP. Assim na Figura 4-6 podemos verificar a percentagem de SP em função da quantidade de nano TiO_2 . Nas amostras com 0%, 2%, 4% e 6% de TiO_2 foi usado 0,2%, 0,3%, 0,4% e 0,5% de SP respectivamente. Assim manteve-se a trabalhabilidade das argamassas formuladas nos parâmetros estabelecidos, pois verificou-se que a introdução de nano partículas em substituição da areia diminui a trabalhabilidade das argamassas devido à sua finura, justificando assim o uso do SP como forma de manter essa característica nos parâmetros pré-definidos.

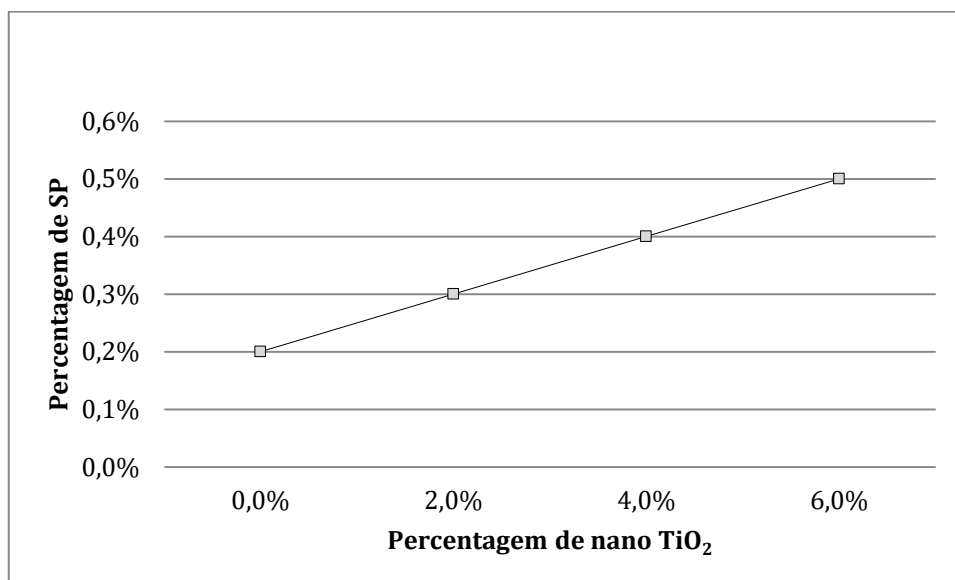


Figura 4-6 - Percentagem de superplastificante em função da percentagem de nano TiO₂.

4.3.3 Comportamento à flexão e à compressão

A avaliação da resistência à flexão e compressão foi efetuada com base na norma europeia EN 1015-11 (CEN, 1999), aos 28 dias de idade dos elementos de ensaio. Para o comportamento em flexão foram utilizados provetes com dimensões de 40x40x160mm³. Os ensaios foram realizados com controlo de força, a uma velocidade de 50N/s. O comportamento em compressão foi avaliado efetuando a aplicação da carga no provete com recurso a uma peça metálica, suficientemente rígida para uniformizar a carga vertical. Os provetes utilizados para o ensaio foram as metades resultantes dos ensaios de flexão. Os ensaios foram realizados com controlo de força, a uma velocidade de 150N/s.

De acordo com a Figura 4-7, foi possível observar que com a incorporação de 2% e 4% de TiO₂ houve um aumento da resistência à compressão, para 6% de TiO₂ verifica-se um ligeiro decréscimo em relação à incorporação de 4%. Na Figura 4-8, verifica-se um aumento da resistência à flexão, com a incorporação de 2% e 4% de TiO₂, para 6% de TiO₂ verifica-se um ligeiro decréscimo em relação à incorporação de 4%. Verifica-se que a pososidade total

diminui com a incorporação de TiO_2 . No entanto para 6% de incorporação a porosidade é maior que para 4%. Isso deve-se ao efeito de dispersão do SP.

De salientar o aumento de 19% da amostra $\text{A0}_{0\% \text{TiO}_2}$ para a $\text{A2}_{4\% \text{TiO}_2}$ em relação à compressão e de 14% da amostra $\text{A0}_{0\% \text{TiO}_2}$ para a $\text{A2}_{4\% \text{TiO}_2}$ em relação à flexão.

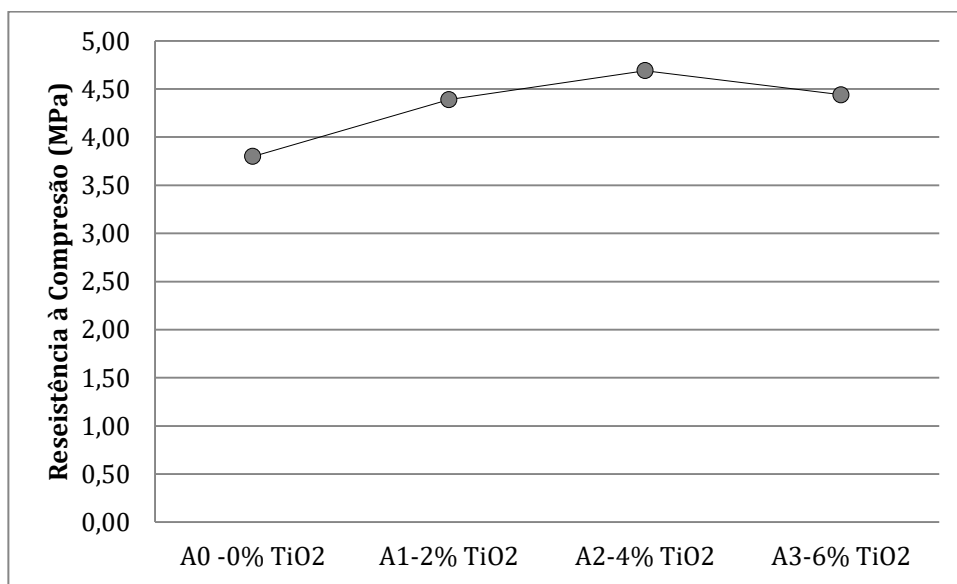


Figura 4-7 - Comportamento à compressão das argamassas aos 28 dias

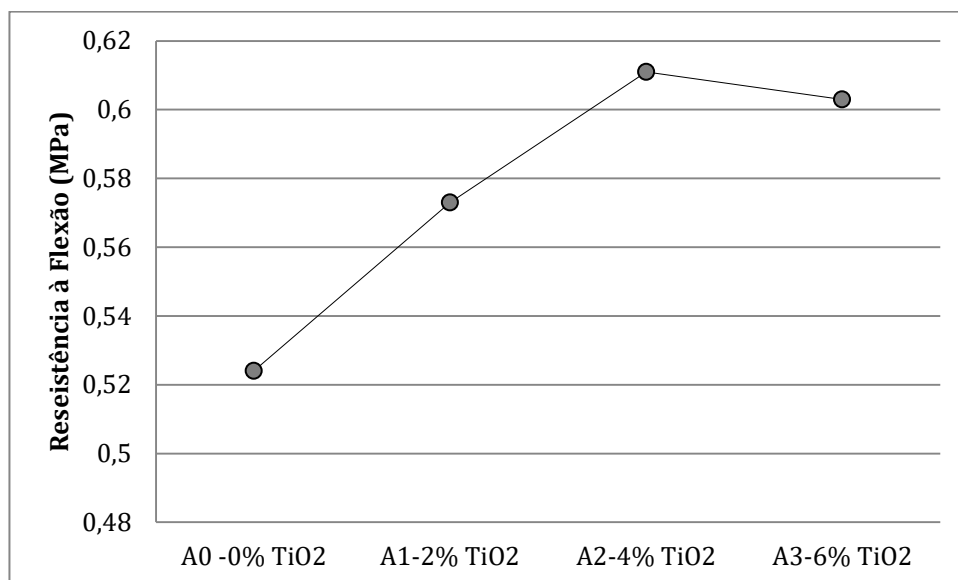


Figura 4-8 - Comportamento à flexão das argamassas aos 28 dias

De acordo com a norma NP EN 998-1 (IPQ, 2010), podemos classificar as argamassas de acordo com a Tabela 4-3. Na Tabela 4-4 verificamos que as argamassas desenvolvidas, classificam-se de CSII. Assim verifica-se que a incorporação de TiO₂ não prejudica a resistência à compressão das argamassas, contribuindo mesmo para um ligeiro aumento.

Tabela 4-3- Classificação das argamassas de acordo com a especificação NP EN 998-1:2010

CLASSIFICAÇÃO	RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO
CSI	0,4 a 2,5 MPa
CSII	1,5 a 5,0 MPa
CSIII	3,5 a 7,5 MPa
CSIV	≥ 6,0 MPa

Tabela 4-4- Classificação das argamassas segundo a resistência à compressão

CÓDIGO	AMOSTRA	RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO (MPa)	CLASSIFICAÇÃO
A0	0% TiO ₂	3,8	CSII
A1	2% TiO ₂	4,39	CSII
A2	4% TiO ₂	4,69	CSII
A3	6% TiO ₂	4,44	CSII

4.3.4 Crescimento acelerado de fungos

Para o crescimento acelerado de fungos foram preparadas amostras em tijolos de acordo com a Figura 4-9. As alvenarias de tijolo são amplamente usadas nas divisórias interiores dos edifícios em Portugal. Apesar das dificuldades de controlo em amostras de maiores dimensões é importante ter uma amostra com uma escala suficiente para validar os resultados obtidos. Depois de 28 dias em laboratório as amostras foram pulverizadas com esporos do fungo *C. halotolerans* diluídos em água peptonada com uma concentração de $1,26 \times 10^7$ (Figura 4-10 e Figura 4-11), aproximadamente 3×10^5 esporos/cm².

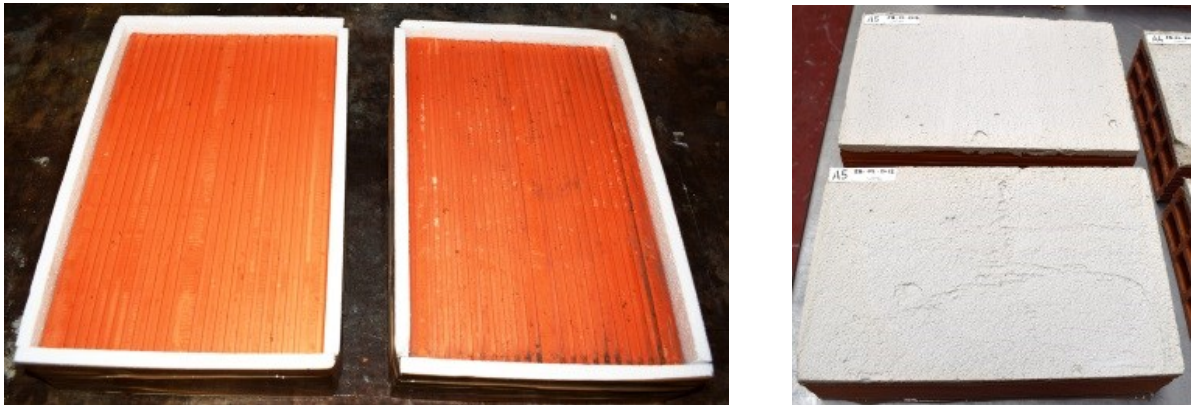


Figura 4-9 – Preparação das amostras (colocação das argamassas em tijolos)

As amostras foram colocadas em câmara climática a 25 °C e humidade relativa de 85% constante. Para cada amostra pulverizada com esporos (Figura 4-11) foi colocada uma amostra sem esporos (teste negativo). Colocaram-se três placas de Petri, na câmara com meio de cultura MEA (teste positivo) onde também foram pulverizados esporos. Aos 3 dias, nas placas Petri (Figura 4-12), já era visível o crescimento dos fungos o que confirma as condições ótimas para a sua evolução.

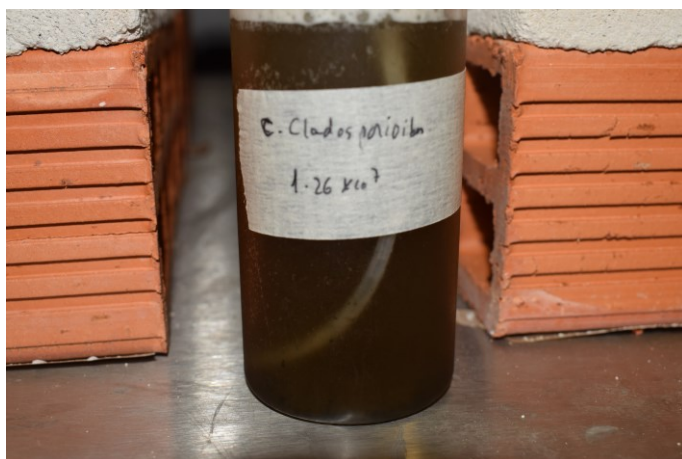


Figura 4-10 - Concentração de esporos *C. halotolerans*



Figura 4-11 - Pulverização dos esporos nas amostras



Figura 4-12 – Evolução do fungo *C. halotolerans* nas placas Petri aos 3 dias

Acompanhou-se a evolução dos fungos até aos 49 dias, data na qual se efetuou visualização ao microscópio. Foram colocadas duas lâmpadas de vapor de mercúrio que emitem radiação ultravioleta (UV). A distribuição de cor da energia espectral é apresentada na Figura 4-13. Neste caso o comprimento de onda da radiação emitida das lâmpadas tinha que ser superior a 280 nm, pois para comprimentos de onda entre 100-280 nm tem propriedades germicidas o que poderia afetar o crescimento dos fungos. As lâmpadas eram ligadas 4 horas por dia, para assim podemos simular compartimentos dos edifícios com menos luz solar, compartimentos onde a probabilidade de surgimento de fungos é maior. O afastamento das amostras foi de 30 cm.

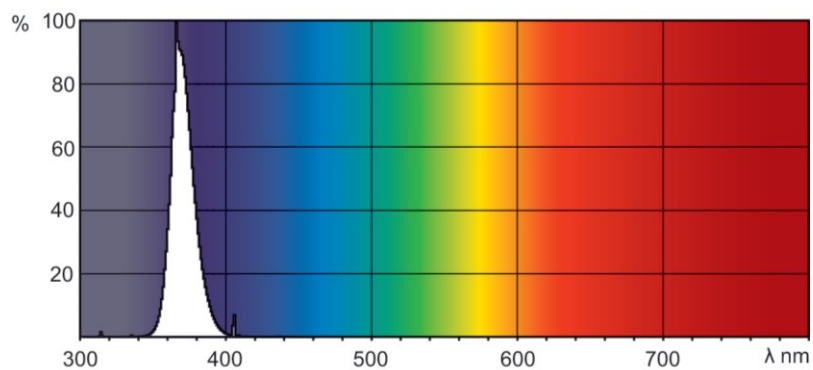


Figura 4-13 - Distribuição de cor da energia espectral das lâmpadas



Figura 4-14 - Amostras na câmara climática aos 49 dias

Aos 49 dias após colocação na câmara climática (Figura 4-14), na visualização ao microscópio eletrónico (SEM), a amostra onde a evolução do *C. halotolerans* é menor é na A2_{4%TiO2}, coincidindo com a amostra que teve melhores desempenhos físicos e mecânicos.

Na Figura 4-15 podemos verificar a evolução do crescimento do fungo *C. halotolerans* em todas as amostras numa ampliação de 3000x. Na amostra A0 0% TiO₂, verificamos que o fungo se encontra praticamente em toda a área, na amostra A3_{6%TiO2} verifica-se mais de 60% da imagem ocupada pelo fungo. Na amostra A1_{2%TiO2} o fungo começa a desenvolver-se e na amostra A2_{4%TiO2} o fungo praticamente ainda se encontra a germinar. Esta dificuldade de desenvolvimento dos fungos deve-se à baixa porosidade das amostras, mas o efeito fotocatalítico também influencia.

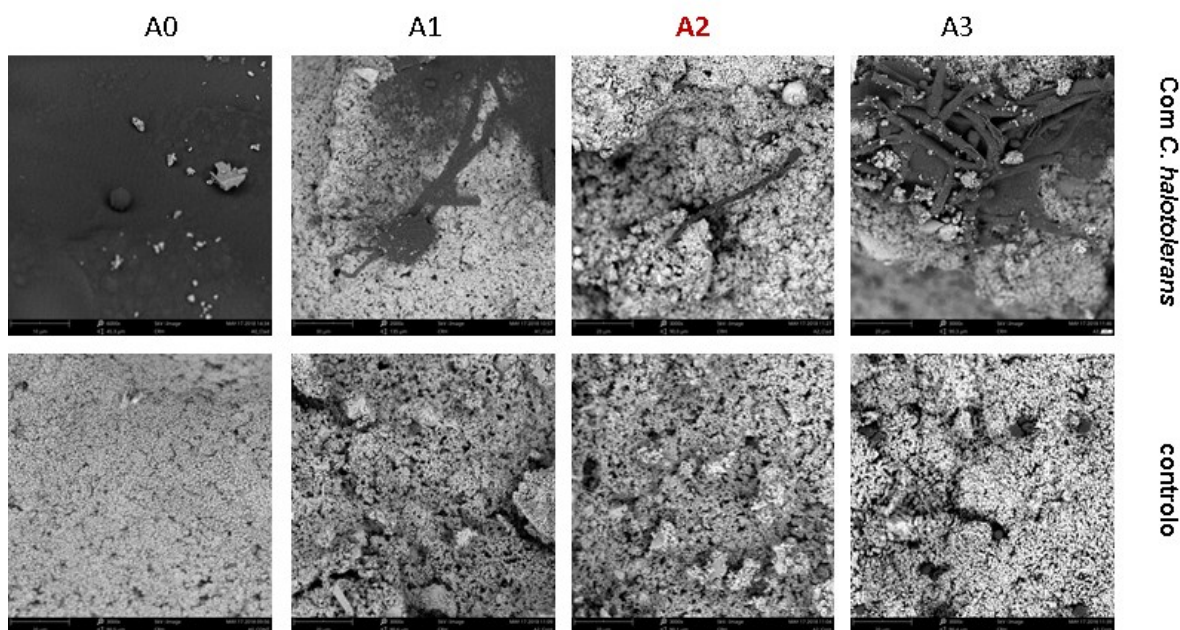


Figura 4-15 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x)

Para acelerar ainda mais o crescimento do *C. halotolerans*, aos 49 dias foi-lhe fornecido “alimento” – MEB (caldo de extrato de malte: em inglês malt extract broth) (Figura 4-16). Para tal selecionou-se uma área de 10 cm² da amostra e pulverizou-se com 4,2 ml de MEB. O

posicionamento das amostras na câmara climática após a pulverização foi mantido de acordo com o inicial (Figura 4-17).



Figura 4-16 – MEB



Figura 4-17 – Câmara climática após a pulverização de MEB aos 49 dias

A visualização foi efetuada aos 49 dias e apresenta-se na Tabela 4-5. Foi retirado de cada amostra um fragmento da superfície para poder ser visualizada ao microscópio eletrónico. Por cada fragmento foram efetuadas entre 5 a 10 visualizações e anotado esse registo numa escala de 0 a 10 em que 0 significa que a área observada não contém vestígio do desenvolvimento de fungos (0% de área contaminada) e 10 significa que a área visualizada está toda contaminada (100% de área contaminada), isto é que o fungo se desenvolveu e ocupou a superfície observada na sua totalidade. Na Figura 4-18 verifica-se uma amostra $A0_{0\%TiO_2}$ com *C. halotolerans* visualizada aos 49 dias que foi classificada com 8. Nas amostras

de controlo não foram visualizados quaisquer desenvolvimentos de fungos e todas elas foram classificadas com 0. Podemos ver na Figura 4-19 a amostra $A0_{0\%TiO_2(\text{controlo})}$ onde não visualizamos qualquer fungo. Na amostra $A2_{4\%TiO_2(C. halotolerans)}$ (Figura 4-20) classificada com 1, verifica-se que o desenvolvimento dos fungos é muito baixo.



Figura 4-18 - Amostra $A0_{0\%TiO_2(C. halotolerans)}$ aos 49 dias (3000x)

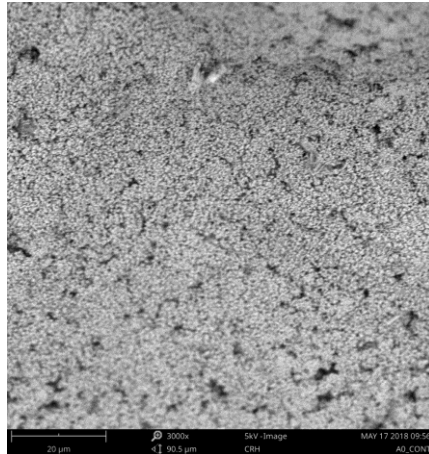


Figura 4-19 - Amostra $A0_{0\%TiO_2(\text{controlo})}$ aos 49 dias (3000x)

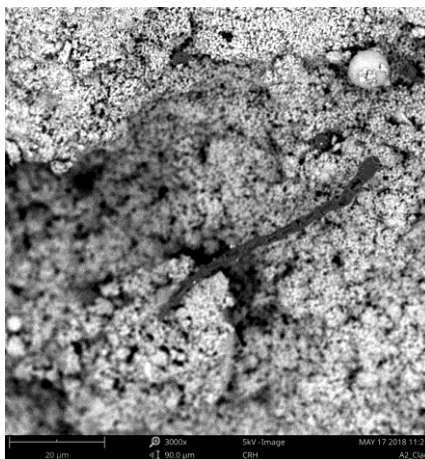


Figura 4-20 - Amostra A2_{4%TiO₂(*C. halotolerans*)} aos 49 dias (3000x)

Tabela 4-5 - Classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 49 dias

AMOSTRA		CLASSIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO <i>C. halotolerans</i>										
		TiO ₂										
A0 _{<i>C. halotolerans</i>}	0% TiO ₂	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
A0 _{controlo}		●										
A1 _{<i>C. halotolerans</i>}	2% TiO ₂	●	●	●								
A1 _{controlo}		●										
A2 _{<i>C. halotolerans</i>}	4% TiO ₂	●										
A2 _{controlo}		●										
A3 _{<i>C. halotolerans</i>}	6% TiO ₂	●	●	●	●	●	●					
A3 _{controlo}		●										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
49 dias		0 - área observada sem vestígios de desenvolvimento de fungos área observada completamente contaminada pelos fungos -10										

Na amostra A0_{0%TiO₂} onde foi pulverizado *C. halotolerans* (Figura 4-21) verifica-se que aos 118 dias o fungo encontra-se ramificado em toda a amostra. Na Figura 4-22 verificamos que aos 118 dias na Amostra A1_{2%TiO₂(*C. halotolerans*)} existe um foco de desenvolvimento do fungo no centro da amostra. A amostra A2_{4%TiO₂(controlo)} sem pulverização de *C. halotolerans* praticamente o fungo não se desenvolveu (Figura 4-23).

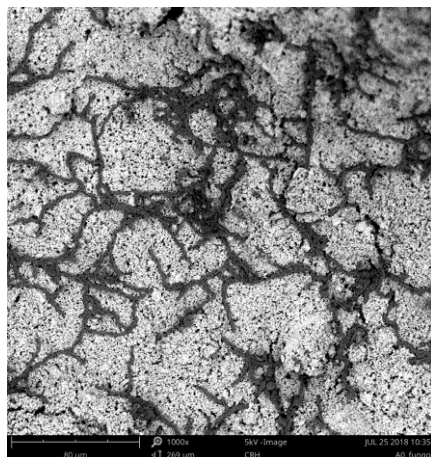


Figura 4-21 - Amostra A0_{0%TiO₂(C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x)

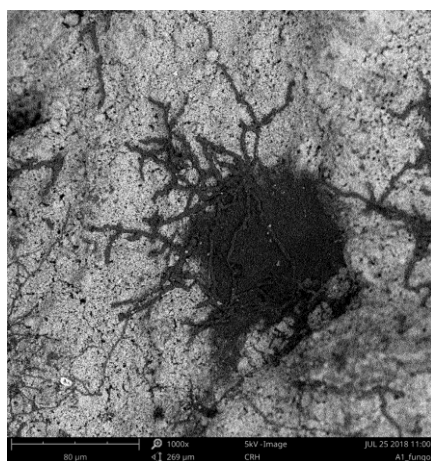


Figura 4-22 - Amostra A1_{2%TiO₂(C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x)

Verificamos na Tabela 4-6 a classificação do desenvolvimento na superfície das amostras do *C. halotolerans* aos 118 dias.

Após o fornecimento de alimento visualizou-se ao microscópio a evolução do crescimento dos fungos passados 69 dias, isto é 118 dias após a colocação das amostras na câmara climática. Verifica-se uma evolução do crescimento dos fungos, maior ramificação na argamassa e estruturas mais desenvolvidas. Apesar da amostra A1_{2%TiO₂(C. halotolerans)} ter também um bom desempenho, a amostra A2_{4%TiO₂(C. halotolerans)} continua a mostrar o melhor desempenho antifúngico. A amostra A3_{6%TiO₂(C. halotolerans)} com maior % de TiO₂ não apresenta o melhor desempenho devido ao grande aumento da sua porosidade intrapartículas que aumenta

significativamente a porosidade total da amostra e esse aumento não é compensado pelo efeito fotocatalítico do TiO_2 (Figura 4-24).

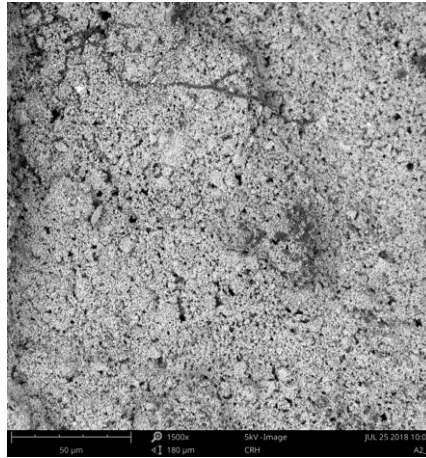


Figura 4-23 - Amostra A2_{4%TiO2(controlo)} aos 118 dias (1000x)

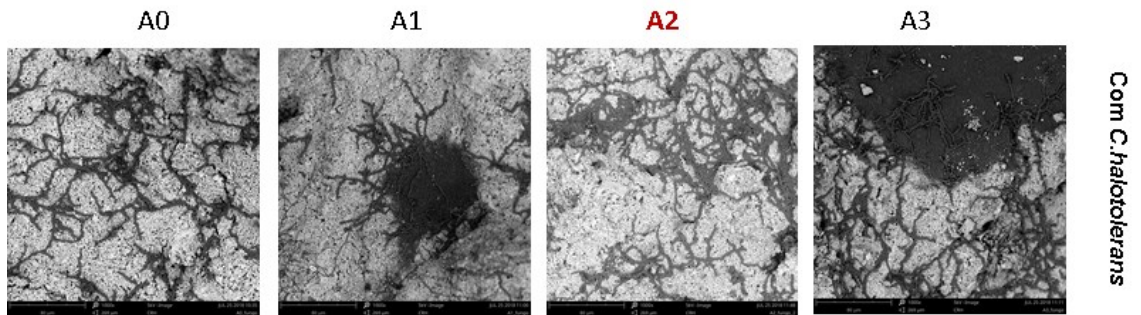


Figura 4-24 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x)

Tabela 4-6 - Classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 118 dias

AMOSTRA		CLASSIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO <i>C. halotolerans</i>										
		TiO_2										
A0 _{C. halotolerans}	0% TiO_2	●	●	●	●	●	●	●	●			
A0 _{controlo}		●	●									
A1 _{C. halotolerans}	2% TiO_2	●	●	●	●	●						
A1 _{controlo}		●	●									
A2 _{C. halotolerans}	4% TiO_2	●	●	●	●							
A2 _{controlo}		●	●									
A3 _{C. halotolerans}	6% TiO_2	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
A3 _{controlo}		●	●									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
118 dias		0 - área observada sem vestígios de desenvolvimento de fungos área observada completamente contaminada pelos fungos -10										

4.4 Conclusão

O melhor desempenho antifúngico verificado na amostra $A2_{4\%TiO_2}$ tanto aos 49 dias (Figura 4-25), como aos 118 dias (Figura 4-26) é justificado pelo aumento do diâmetro médio do poro da argamassa quando adicionamos nano TiO_2 . Esta situação permite que a reação fotocatalítica se desenvolva mais facilmente. Os melhores desempenhos mecânicos das amostras $A1_{2\%TiO_2}$ e $A2_{4\%TiO_2}$ devem-se às suas inferiores porosidades totais.

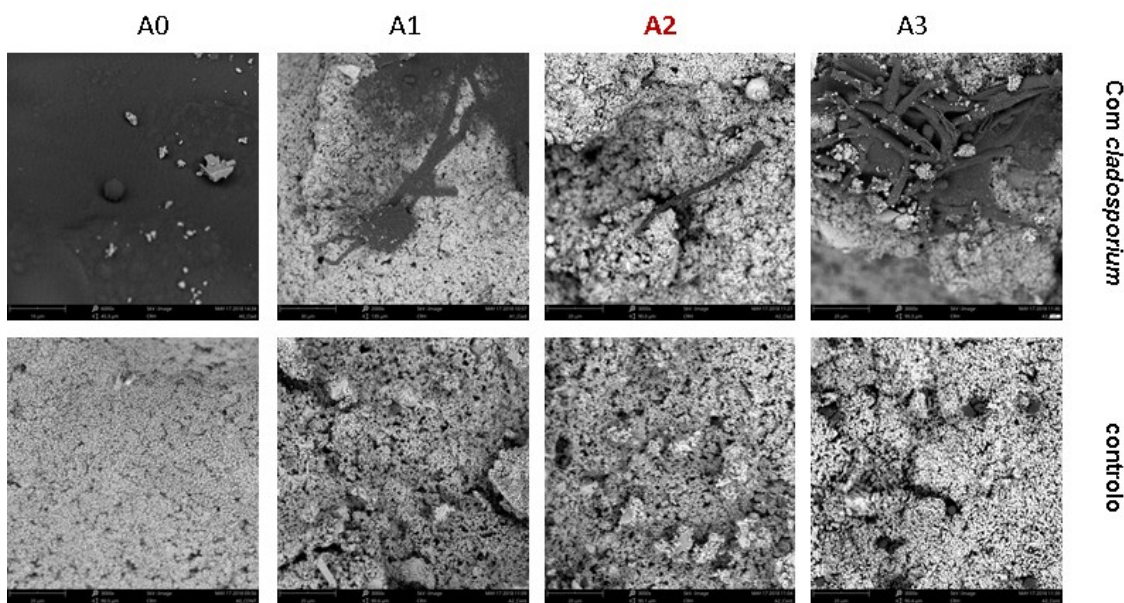


Figura 4-25 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x).

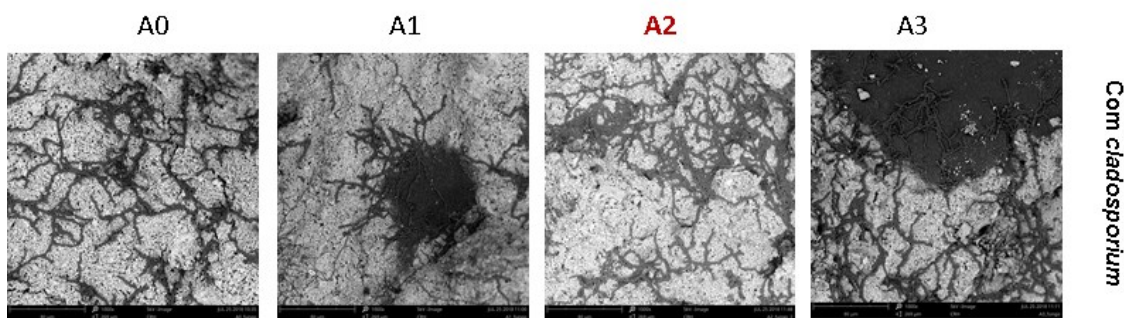


Figura 4-26 – Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x).

5 ARGAMASSAS DE CAL COM INCORPORAÇÃO DE MICRO GRÂNULOS DE CORTIÇA

5.1 Introdução

A cortiça é utilizada em inúmeras aplicações na construção: isolamentos, revestimentos entre outros, mas as suas propriedades antifúngicas ainda são pouco estudadas. Neste capítulo são apresentados vários estudos efetuados, abordando varias temáticas e problemáticas de argamassas aditivadas com micro grânulos de cortiça. O uso da nanotecnologia serviu para aproveitar as características da cortiça.

No que diz respeito às propriedades físicas e mecânicas das argamassas foi realizado um estudo no seu estado fresco e endurecido. Assim, serão apresentadas diferentes propriedades tais como: trabalhabilidade, comportamento à flexão, comportamento à compressão, crescimento acelerado de fungos, análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e a gás hélio e observação ao microscópio do crescimento de fungos.

Nesta investigação usou-se a cal hidráulica (NHL 5) como ligante, a areia de rio, superplastificante (SP) e por último, o micro grânulos de cortiça. Estes materiais já foram descritos no capítulo 3.

Todos os procedimentos e ensaios tiveram como referência o capítulo 4, para no final deste capítulo poder-se efetuar uma comparação relativa dos dois tipos de argamassas nano e micro aditivadas.

5.2 Composição e fabricação

Foram desenvolvidas 5 formulações distintas de argamassas, as quais se apresentam na Tabela 5-1. As formulações em estudo são constituídas por diferentes percentagens de micro grânulos de cortiça (2, 4, 6 e 8%), existindo sempre uma composição de referência, ou seja sem adição de micro grânulos de cortiça. Neste caso e como não temos qualquer tipo de referência para argamassas aditivadas com micro grânulos de cortiça efetuou-se mais uma

formulação com 8% de micro grânulos de cortiça. O processo de mistura e fabrico dos provetes para a determinação da resistência à compressão e flexão foi efetuado de acordo com norma EN 1015-11. Para cada composição, foram moldados 3 provetes prismáticos com 40x40x160 mm³.

Tabela 5-1- Formulação das argamassas (kg/m³).

COMPOSIÇÃO	LIGANTE	AREIA	SP	CORTIÇA	ÁGUA
B0 - 0 cortiça	500,00	1407,52	1,00	0,00	292,56
B1 - 2% cortiça	500,00	1316,24	1,50	10,00	292,56
B2 - 4% cortiça	500,00	1224,95	2,00	20,00	292,56
B3 - 6% cortiça	500,00	1133,67	2,50	30,00	292,56
B4 - 8% cortiça	500,00	1042,38	3,00	40,00	292,56

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e de gás hélio

O tamanho dos poros e a distribuição nas argamassas foram analisados usando o instrumento de porosimetria por intrusão de mercúrio (MIP), usando uma faixa de pressão de 0,2396 a 413 MPa, o que permitiu a medição do tamanho de poro de 10,64 μ m a 3,5 nm. Foram usados na análise, um ângulo de contato avançado/recuando, de mercúrio de 140 ° e tensão superficial de 0,480 N/m.

A porosidade teórica foi determinada usando porosímetro a hélio do laboratório de Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

Na Figura 5-1 observa-se que na amostra B3_{6%CORTIÇA} a percentagem maior de poros está entre os diâmetros 1 e 10 μ m (60%) e 40% dos poros é de menor dimensão. Nas amostras B0_{0%CORTIÇA} e B4_{8%CORTIÇA} a percentagem menor de poros está entre os diâmetros 1 e 10 μ m (30%) e 70% dos poros é de menor dimensão. Na amostra B2_{4%CORTIÇA}, 100% dos poros está entre os diâmetros 1 e 10 μ m e na amostra B1_{2%CORTIÇA} percentagem menor de poros está entre os diâmetros 1 e 10 μ m (2,5%) e 97,5% dos poros é de menor dimensão.

Na Figura 5-1 verificamos que na maioria as amostras em estudo apresentam a quantidade de poros de maior dimensão entre 2 a 3 μm de diâmetro e poros de menor dimensão entre os 0,1 e 1 μm . Pela Figura 5-2 observa-se também que a crescente introdução de micro grânulos de cortiça, implica o aumento da percentagem de poros de menor dimensão com 0,1 a 1 μm de diâmetro e diminui a percentagem de poros de maior dimensão.

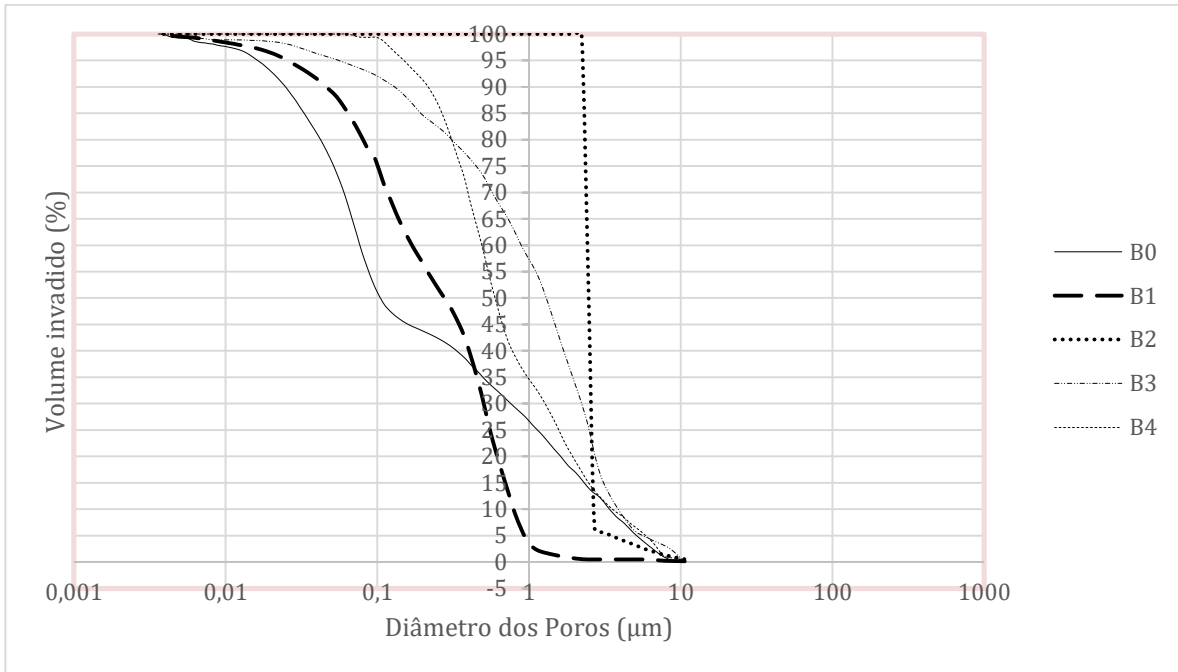


Figura 5-1 - Percentagem de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias

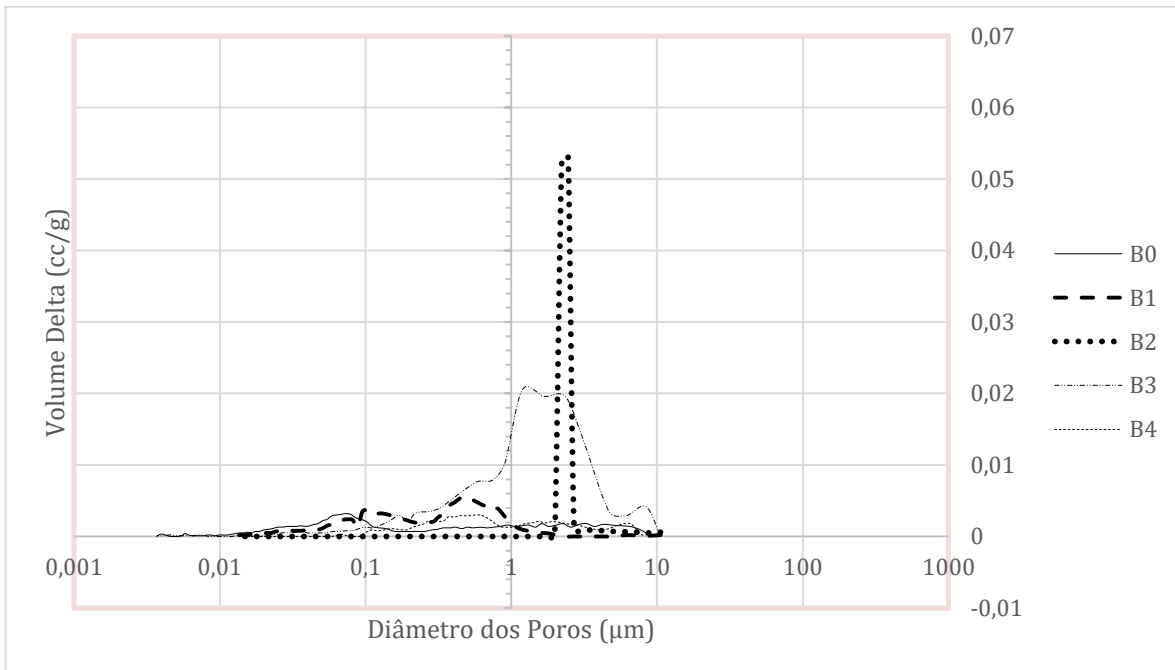


Figura 5-2 - Quantidade de mercúrio incrementada nas argamassas aos 180 dias

A porosidade total é obtida através da soma entre a porosidade interpartículas e a porosidade intrapartículas.

O gás hélio é usado para medir a “densidade real” e a “verdadeira porosidade” com a suposição de que o hélio, sendo o menor átomo, deve ser capaz de penetrar no menor poro, enquanto outros fluidos não.

No entanto, através do ensaio de porosimetria de mercúrio observamos que a porosidade interpartículas é mais baixa nas amostras B1_{2%CORTIÇA}, B2_{4%CORTIÇA} e B3_{6%CORTIÇA}, verifica-se que a porosidade intrapartículas, total e teórica (esta obtida através de porosimetria a hélio) das amostras B1_{2%CORTIÇA} e B3_{6%CORTIÇA} são bastante mais elevadas em relação à amostra B0_{0%CORTIÇA}. A porosidade intrapartículas, total e teórica (esta obtida através de porosimetria a hélio) da amostra B2_{4%CORTIÇA} é idêntica à amostra B0_{0%CORTIÇA}.

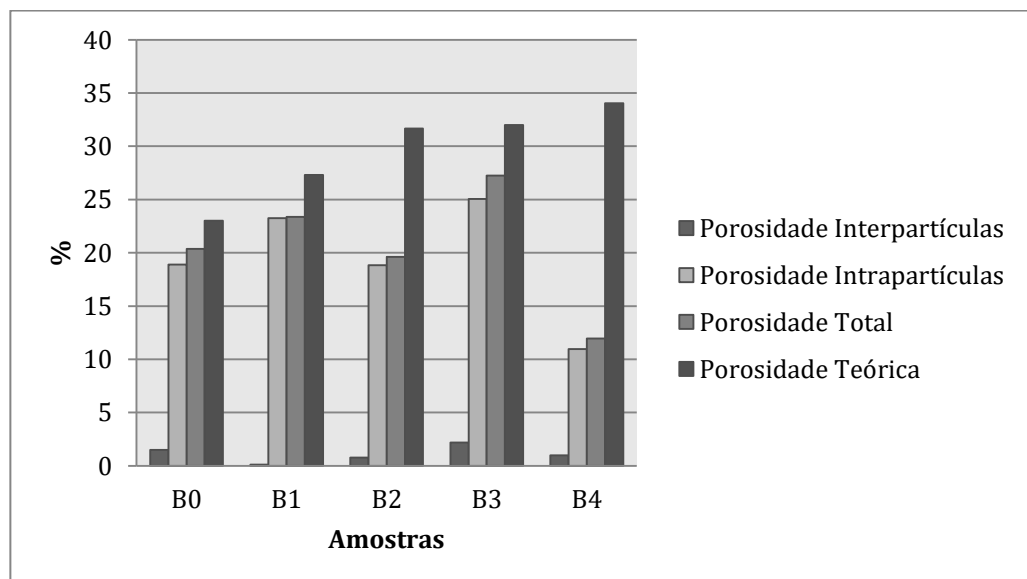


Figura 5-3 - Porosidade das argamassas aos 180 dias

As amostras B0_{0%CORTIÇA} e B1_{2%CORTIÇA} têm uma estrutura de poros muito próxima e na sua globalidade podemos afirmar que são muito menos porosas que as amostras B2_{4%CORTIÇA} e B3_{6%CORTIÇA}.

A introdução de micro grânulos de cortiça proporcionou uma maior homogeneidade da amostra B1_{2%CORTIÇA} com uma redução significativa da porosidade interpartículas, mas houve um grande aumento da porosidade intrapartículas que se justifica devido ao aumento das partículas finas e a sua dificuldade de mistura na argamassa. Nas amostras B1_{2%CORTIÇA}, B2_{4%CORTIÇA}, B3_{6%CORTIÇA} e B4_{8%CORTIÇA} verifica-se um aumento da porosidade teórica, também confirmada pelos resultados mecânicos inferiores que se obtiveram (Figura 5-3 e Tabela 5-3).

Tabela 5-2 - Resultados de porosidade das argamassas aos 180 dias.

Código	Amostras	Diâmetro médio do poro (nm)	Porosidade Interpartículas (%)	Porosidade Intrapartículas (%)	Porosidade Total (%)	Porosidade Teórica (%)
B0	0% cortiça	58,20	1,48	18,89	20,37	23,02
B1	2% cortiça	91,74	0,12	23,26	23,38	27,31
B2	4% cortiça	25,10	0,78	18,83	19,61	31,66
B3	6% cortiça	196,90	2,19	25,05	27,24	32,01
B4	8% cortiça	458,70	1,00	10,95	11,95	34,04

5.3.2 Trabalhabilidade

Os ensaios de trabalhabilidade foram realizados com o objetivo de conferir uma trabalhabilidade adequada ao manuseio das argamassas desenvolvidas, tendo sido realizados com base no método da mesa de espalhamento, especificado pela norma europeia EN 1015-3 (CEN, 1999). O valor resultante do ensaio apenas foi considerado, quando compreendido entre 160-180 mm. Com o aumento da percentagem de micro grânulos de cortiça também se verificou que a trabalhabilidade da argamassa diminui e para conseguir manter a trabalhabilidade dentro dos valores definidos foi usado SP. Assim na Figura 5-4 podemos verificar a percentagem de SP e micro grânulos de cortiça em função da quantidade de ligante usado. Na amostra B0 com 0% de micro grânulos de cortiça foi usado 0,2% de SP (em relação ao ligante), para a amostra B1_{2%CORTIÇA} 0,3% de SP, para a amostra B2_{4%CORTIÇA} 0,4% de SP, para a amostra B3_{6%CORTIÇA} 0,5% de SP e para a amostra B4_{8%CORTIÇA} 0,6% de SP, conseguindo assim manter a trabalhabilidade das argamassas formuladas nos parâmetros estabelecidos. Verificou-se que a introdução de micro partículas diminui a trabalhabilidade das argamassas

devido à sua finura, justificando assim o uso do SP como forma de manter essa característica nos parâmetros pré-definidos.

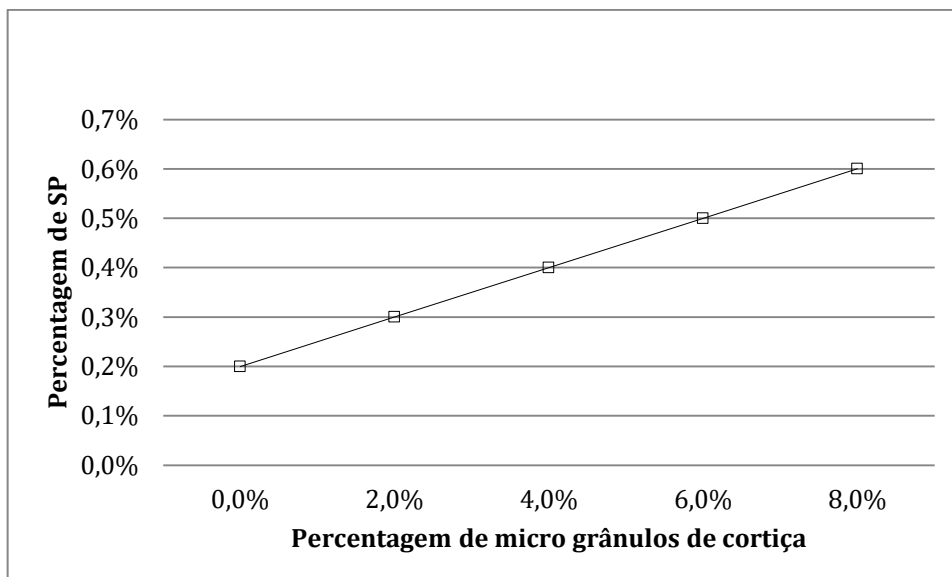


Figura 5-4 - Porcentagem de superplastificante em função da porcentagem de micro grânulos de cortiça.

5.3.3 Comportamento à flexão e à compressão

A avaliação das resistências à flexão e compressão foi efetuada com base na norma europeia EN 1015-11 (CEN, 1999), aos 28 dias de idade dos elementos de ensaio. Para o comportamento em flexão foram utilizados provetes com dimensões de 40x40x160mm³. Os ensaios foram realizados com controlo de força, a uma velocidade de 50N/s. O comportamento em compressão foi avaliado efetuando a aplicação da carga no provete com recurso a uma peça metálica, suficientemente rígida para uniformizar a carga vertical. Os provetes utilizados para o ensaio foram as metades resultantes dos ensaios de flexão. Os ensaios foram realizados com controlo de força, a uma velocidade de 150N/s.

De acordo com a Figura 5-5, foi possível observar que com a incorporação de micro grânulos de cortiça houve uma diminuição da resistência à compressão e na Figura 5-6, verifica-se também uma diminuição da resistência à flexão. Este decréscimo da resistência foi

devidamente analisado neste capítulo com recurso à análise da porosimetria por intrusão de mercúrio e de gás hélio. Verifica-se um aumento da porosidade com a incorporação de micro cortiça. As resistências mecânicas são também afetadas pela natureza dos grânulos de cortiça comparada com a areia.

Salienta-se que apesar do decréscimo de resistência as argamassas das amostras B1_{2%CORTIÇA} e B2_{4%CORTIÇA} aditivadas com micro grânulos de cortiça têm resistências à compressão de 3,03 e 1,78 MPa, respetivamente.

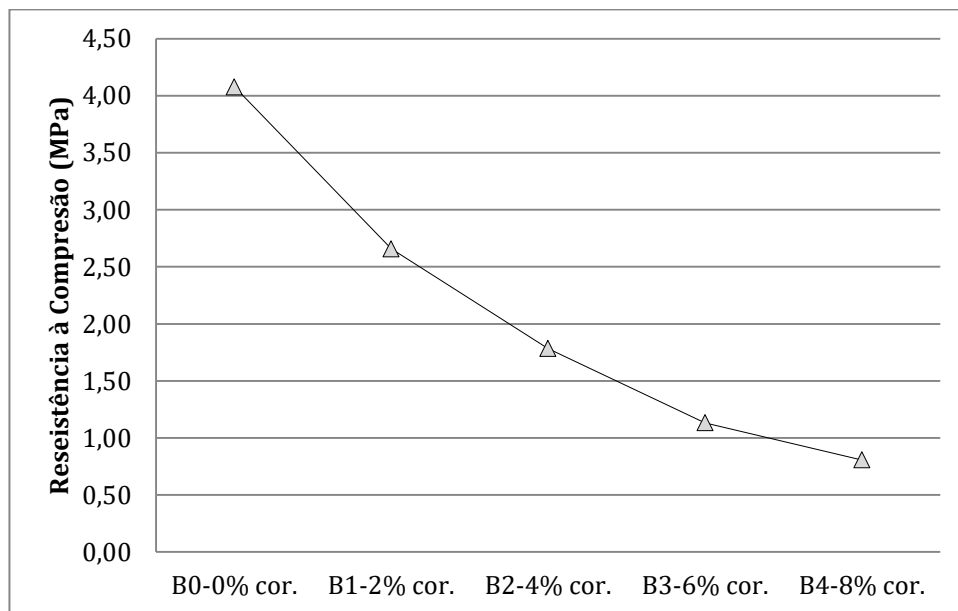


Figura 5-5 - Comportamento à compressão das argamassas aos 28 dias

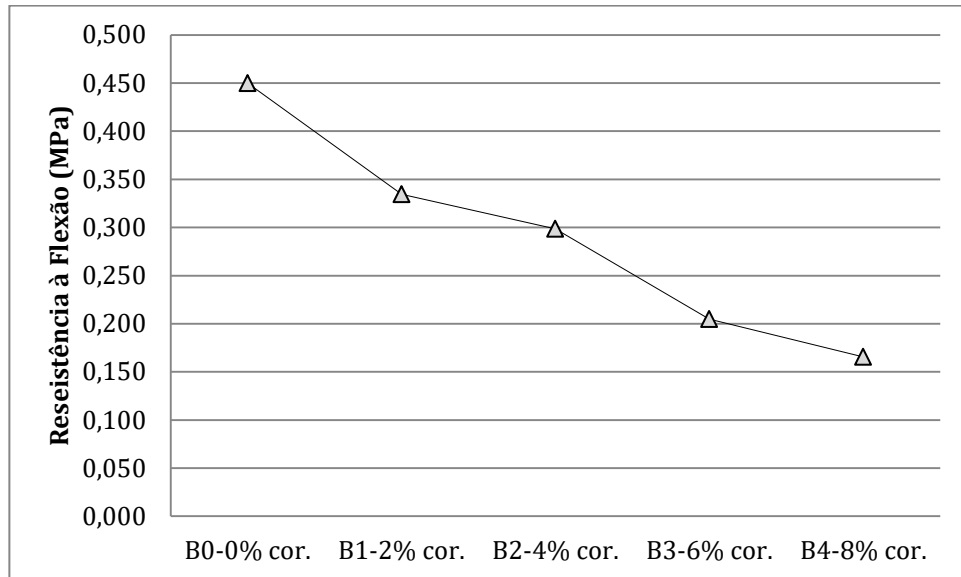


Figura 5-6 - Comportamento à flexão das argamassas aos 28 dias

De acordo com a norma NP EN 998-1 (IPQ, 2010), podemos classificar as argamassas de acordo com a Tabela 5-3. Na Tabela 5-4 verificamos que as argamassas desenvolvidas, classificam-se de CSII as amostras B0_{0%CORTIÇA}, B1_{2%CORTIÇA} e B2_{4%CORTIÇA} e CSI as amostras B3_{6%CORTIÇA} e B4_{8%CORTIÇA}. Assim verifica-se que a incorporação de nanogrânulos de cortiça prejudica a resistência à compressão das argamassas e só as argamassas B1_{2%CORTIÇA} e B2_{4%CORTIÇA} se classificam de CSII.

Tabela 5-3- Classificação das argamassas de acordo com a especificação NP EN 998-1:2010

CLASSIFICAÇÃO	RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO
CSI	0,4 a 2,5 MPa
CSII	1,5 a 5,0 MPa
CSIII	3,5 a 7,5 MPa
CSIV	≥ 6,0 MPa

Tabela 5-4- Classificação das argamassas segundo a resistência à compressão

CÓDIGO	AMOSTRA	RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO (MPa)	CLASSIFICAÇÃO
B0	0% cortiça	4,08	CSII
B1	2% cortiça	3,03	CSII
B2	4% cortiça	1,78	CSII
B3	6% cortiça	1,13	CSI
B4	8% cortiça	0,81	CSI

5.3.4 Crescimento acelerado de fungos

Para o crescimento acelerado de fungos foram preparadas amostras em tijolos da mesma forma que para as argamassas de nano TiO₂. Depois de 28 dias em laboratório as amostras foram pulverizadas com esporos do fungo *C.halotolerans* diluídos em água peptonada com uma concentração de $1,26 \times 10^7$, aproximadamente 3×10^5 esporos/cm².

As amostras foram também colocadas em câmara climática a 25 °C e humidade relativa de 85% constante. Para cada amostra pulverizada com esporos foi colocada uma amostra sem esporos (teste negativo). Colocaram-se três placas de Petri, na câmara com meio de cultura MEA (teste positivo) onde também foram pulverizados esporos. Aos 3 dias, nas placas Petri, já era visível o crescimento dos fungos o que confirma as condições ótimas para a sua evolução.

Acompanhou-se a evolução dos fungos até aos 49 dias, data na qual se efetuou visualização ao microscópio.

Aos 49 dias após colocação na câmara climática, na visualização ao microscópio eletrónico (SEM), a amostra onde a evolução do *C. halotolerans* é menor é na B1_{2% CORTIÇA}, coincidindo com a amostra que teve melhores desempenhos físicos e mecânicos.

Na Figura 5-10 podemos verificar a evolução do crescimento do fungo *C. halotolerans* em todas as amostras numa ampliação de 3000x. Na amostra B0_{0% CORTIÇA} verificamos que o fungo se encontra praticamente em toda a área, na amostra B2_{4% CORTIÇA} verifica-se mais de 50% da imagem ocupada pelo fungo. Nas amostras B3_{6% CORTIÇA} e B4_{8% CORTIÇA} o fungo desenvolve-se com mais facilidade e na amostra B1_{2% CORTIÇA} o fungo está pouco desenvolvido.

Da mesma forma, para acelerar ainda mais o crescimento do *C. halotolerans*, aos 49 dias foi-lhe fornecido “alimento” – MEB (caldo de extrato de malte: em inglês malt extract broth). Para tal selecionou-se uma área de 10 cm² da amostra e pulverizou-se com 4,2 ml de MEB.

A visualização efetuada aos 49 dias, apresentada na Tabela 5-5, foi retirada de cada amostra um fragmento da superfície para poder ser visualizada ao microscópio eletrónico. Por cada fragmento foram efetuadas entre 5 a 10 visualizações e anotado esse registo numa escala de 0 a 10 em que 0 significa que a área observada não contém vestígio do desenvolvimento de fungos (0% de área contaminada) e 10 significa que a área visualizada está toda contaminada (100% de área contaminada), isto é que o fungo se desenvolveu e ocupou a superfície observada na sua totalidade.

Na figura 5-7 verifica-se uma amostra B0_{0%CORTIÇA (C. halotolerans)} visualizada aos 49 dias que foi classificada com 8. Nas amostras de controlo foram visualizadas algumas contaminações de diversos fungos e foram classificadas entre 0 e 4. Podemos ver na Figura 5-8 a amostra B0_{0%CORTIÇA(controlo)} onde não visualizamos qualquer fungo. Na amostra B1_{2%CORTIÇA (C. halotolerans)} (Figura 5-9) classificada com 1, verifica-se que o desenvolvimento dos fungos é baixo.

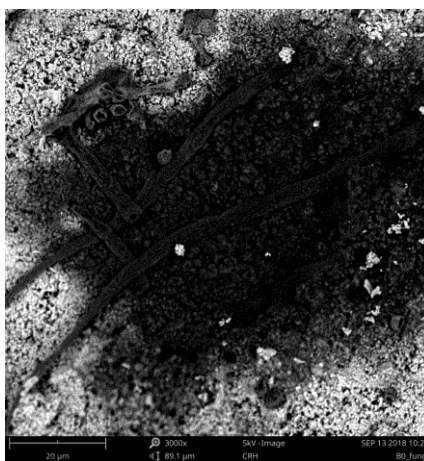


Figura 5-7 - Amostra B0_{0% CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x)

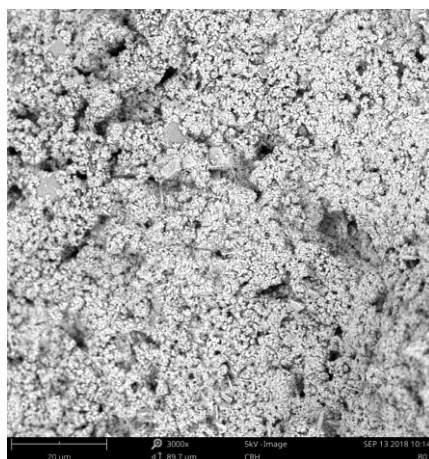


Figura 5-8 - Amostra B0_{0%CORTIÇA (controle)} aos 49 dias (3000x)

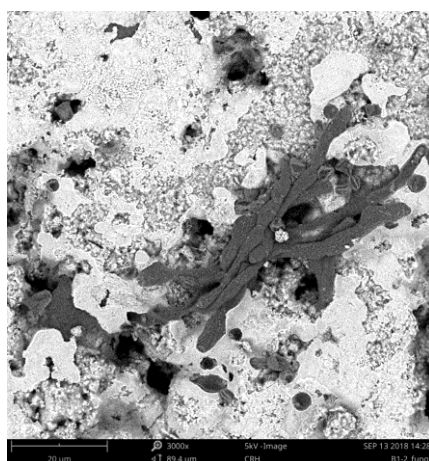


Figura 5-9 - Amostra B1_{2%CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 49 dias (3000x)

Tabela 5-5 - Classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 49 dias

AMOSTRA		CLASSIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO <i>C. halotolerans</i>										
		Cortiça										
B0 _{C. halotolerans}	0% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B0 _{controle}		●										
B1 _{C. halotolerans}	2% Cortiça	●	●	●	●							
B1 _{controle}		●										
B2 _{C. halotolerans}	4% Cortiça	●	●	●	●	●						
B2 _{controle}		●	●									
B3 _{C. halotolerans}	6% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●	●			
B3 _{controle}		●										
B4 _{C. halotolerans}	8% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B4 _{controle}		●	●									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
49 dias		0 - área observada sem vestígios de desenvolvimento de fungos área observada completamente contaminada pelos fungos -10										

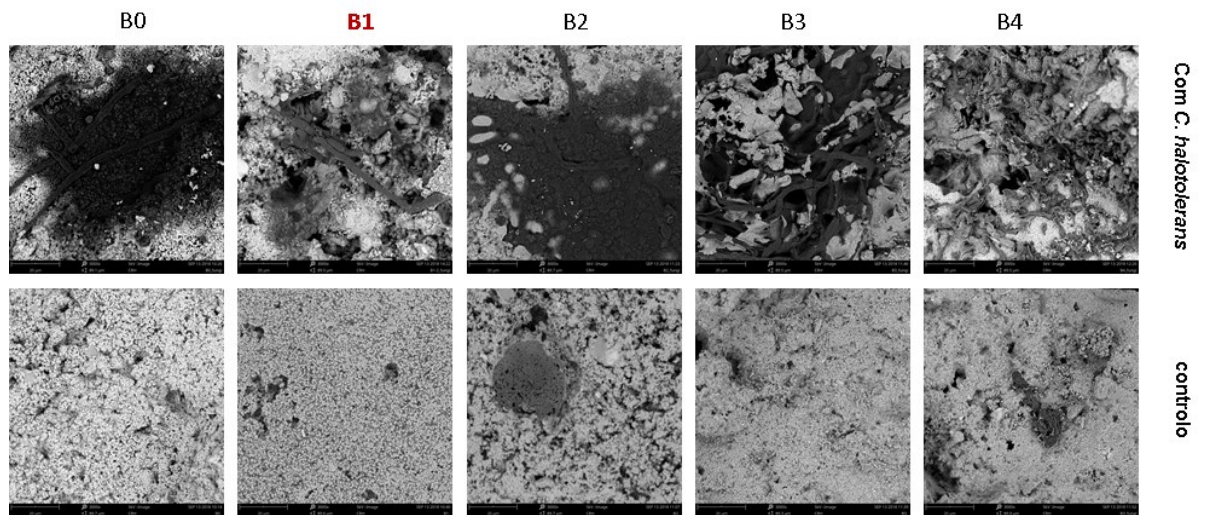


Figura 5-10 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (3000x)

Após o fornecimento de alimento visualizou-se ao microscópio a evolução do crescimento dos fungos passados 69 dias, isto é 118 dias após a colocação das amostras na câmara climática. Verifica-se uma evolução do crescimento dos fungos, maior ramificação na argamassa e estruturas mais desenvolvidas. Apesar da amostra B2_{4% CORTIÇA} (Figura 5-11) ter também um bom desempenho, a amostra B1_{2% CORTIÇA} (Figura 5-12) continua a mostrar o melhor desempenho antifúngico.

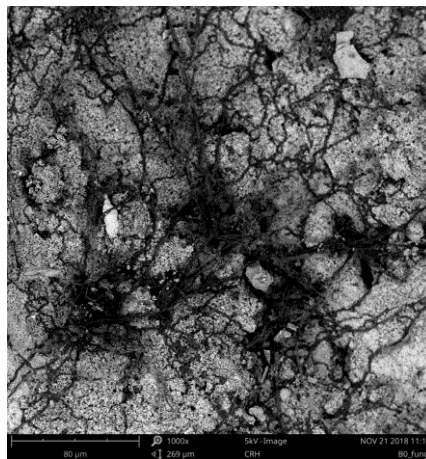


Figura 5-11 - Amostra B2_{4% CORTIÇA (C. halotolerans)} aos 118 dias (1000x)

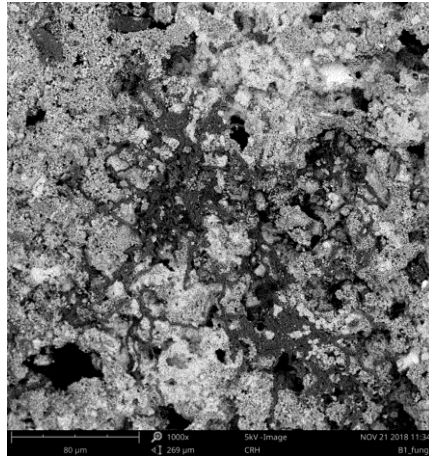


Figura 5-12 - Amostra B1_{2%CORTIÇA (*C. halotolerans*)} aos 118 dias (1000x)

No caso das argamassas micro aditivadas com grânulos de cortiça, verificou-se que nas amostras de controlo houve contaminação com fungos de géneros diferentes (Figura 5-13 e Figura 5-14), para evitar essa contaminação em experiências futuras sugere-se a esterilização dos micro grânulos de cortiça a 70 °C. No decorrer das experiências verifica-se que o *C. halotolerans* é o género dominante, dado que nas amostras onde foi pulverizado o *C. halotolerans* não foram visualizados outros géneros de fungos, não alterando assim os resultados obtidos.

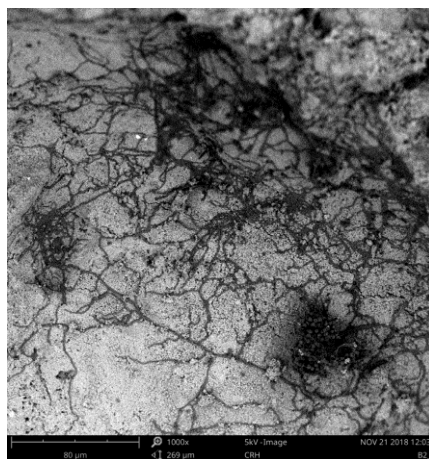


Figura 5-13 - Amostra B2_{4% CORTIÇA (controlo)} aos 118 dias (1000x)

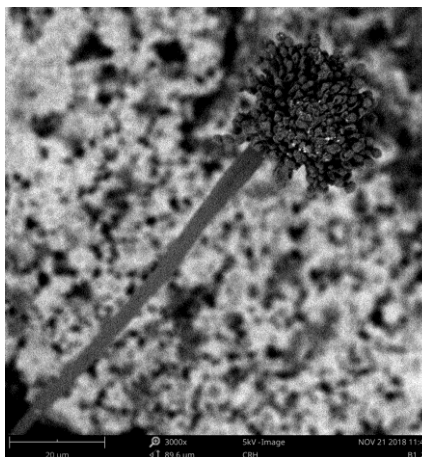


Figura 5-14 - Visualização da amostra B1_{2%CORTIÇA (controle)} contaminada com *Aspergillus* (3000x)

A classificação do desenvolvimento do *C.halotolerans* na superfície das amostras é apresentado na Tabela 5-6. Na Figura 5-15 apresenta-se uma visualização de todas as amostras aos 118 dias, onde as podemos comparar com a amostra B1_{2%CORTIÇA*}

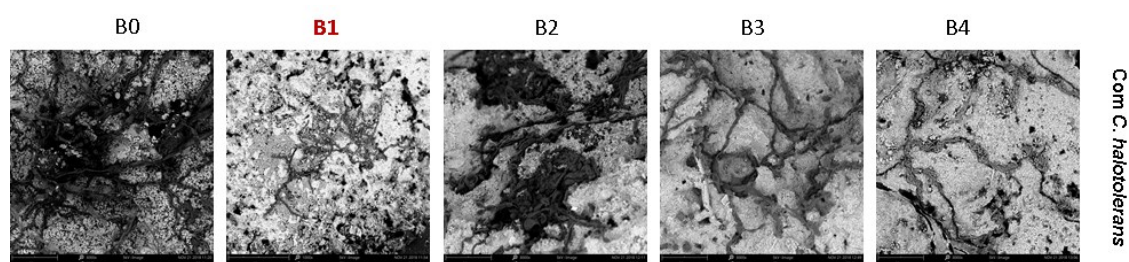


Figura 5-15 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x)

Tabela 5-6 - Classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 118 dias

AMOSTRA		CLASSIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO <i>C. halotolerans</i>										
		Cortiça										
B0 _{<i>C. halotolerans</i>}	0% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B0 _{controle}		●										
B1 _{<i>C. halotolerans</i>}	2% Cortiça	●	●	●	●	●	●					
B1 _{controle}		●	●	●								
B2 _{<i>C. halotolerans</i>}	4% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●	●			
B2 _{controle}		●	●	●	●	●						
B3 _{<i>C. halotolerans</i>}	6% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●				
B3 _{controle}		●	●	●	●	●						
B4 _{<i>C. halotolerans</i>}	8% Cortiça	●	●	●	●	●	●	●				
B4 _{controle}		●	●	●	●	●						
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
118 dias		0 - área observada sem vestígios de desenvolvimento de fungos área observada completamente contaminada pelos fungos -10										

5.4 Conclusão

O melhor desempenho antifúngico verificado na amostra B1_{2%CORTIÇA} tanto aos 49 dias (Figura 5-16), como aos 118 dias (Figura 5-17) é justificado pela diminuição da porosidade interpartículas da argamassa quando adicionamos micro grânulos de cortiça, neste caso apesar de haver uma redução nos desempenhos físicos que é justificado com o aumento da porosidade teórica, a argamassa é mais homogênea pois a porosidade interpartículas é muito baixa.

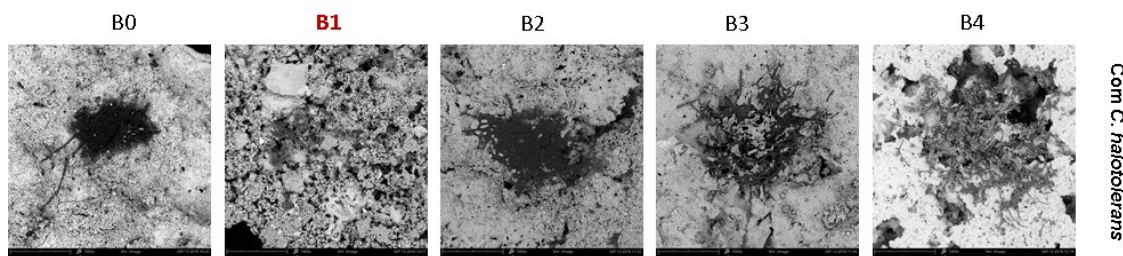


Figura 5-16 - Imagens visualizadas ao microscópio aos 49 dias (1000x).

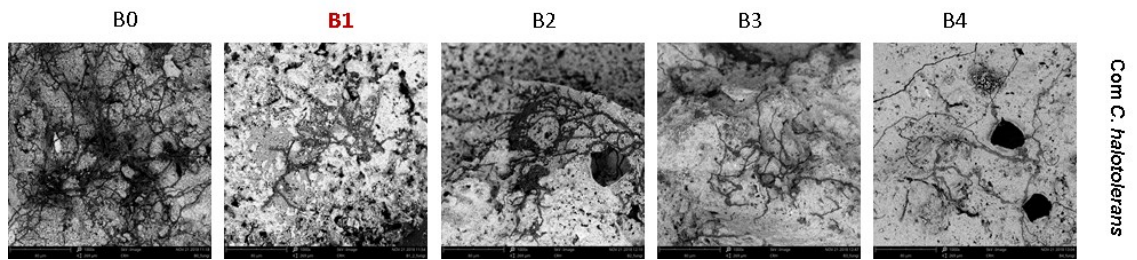


Figura 5-17 – Imagens visualizadas ao microscópio aos 118 dias (1000x).

Neste caso quando aditivamos as argamassas com micro grânulos de cortiça verifica-se que a porosidade intrapartículas aumenta o que mostra a dificuldade em efetuar a mistura de partículas finas. O uso de algumas técnicas correntes de nanotecnologia como a dispersão das micro partículas em água seria seguramente muito útil, para poder melhorar ainda mais as propriedades antifúngicas deste material.

Na Tabela 5-7 efetua-se a comparação da classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 118 dias entre as argamassas nano e micro aditivadas com TiO_2 e grânulos de cortiça que classificamos com maior desempenho ($A2_{4\% \text{TiO}_2}$ e $B1_{2\% \text{CORTIÇA}}$). Verifica-se um melhor desempenho da amostra $A2_{4\% \text{TiO}_2}$ em relação à amostra $B1_{2\% \text{CORTIÇA}}$ de cerca de 20%.

Na Figura 5-18 podemos visualizar o desenvolvimento dos fungos nas duas amostras, apesar de na amostra $B1_{2\% \text{CORTIÇA}}$ a área de ocupação do fungo ser superior à da amostra $A1_{2\% \text{TiO}_2}$, o seu nível de desenvolvimento e estrutura são idênticos.

Tabela 5-7 – Comparação da classificação do desenvolvimento do *C. halotolerans* na superfície das amostras aos 118 dias entre as argamassas

AMOSTRA	CLASSIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO <i>C. halotolerans</i>										
	TiO ₂ vs Cortiça										
A2 _{C. halotolerans}	●	●	●	●							
A0 _{controlo}	●	●									
B1 _{C. halotolerans}	●	●	●	●	●	●					
B1 _{controlo}	●	●	●								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
118 dias	0 - área observada sem vestígios de desenvolvimento de fungos área observada completamente contaminada pelos fungos -10										

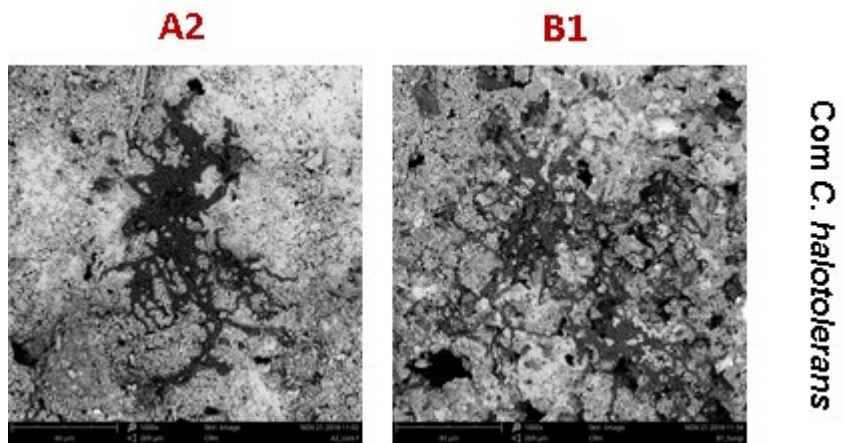


Figura 5-18 - Visualização das amostras A2_{2%TiO₂} e B1_{4%CORTIÇA} aos 118 dias (1000x)

6 CONCLUSÃO

Apresentam-se no presente capítulo as principais conclusões resultantes da análise dos resultados obtidos das campanhas experimentais realizadas, assim como sugestões para novas linhas de investigação e trabalhos futuros, que podem dar continuidade a este trabalho e que irão com certeza contribuir para aprofundar o conhecimento da temática em causa.

As conclusões aqui referidas têm como base as condições laboratoriais, equipamentos e materiais utilizados neste trabalho e anteriormente descritas.

6.1 Considerações finais

Com base nas recolhas efetuadas foi possível isolar fungos do género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria* existentes nos edifícios da zona Norte de Portugal.

A caracterização molecular permitiu confirmar a sua identificação morfológica e identificar o *Cladosporium halotolerans*, o *Aspergillus jensenii*, o *Penicillium chrysogenum* e a *Alternaria sect. Alternaria*.

Neste trabalho, estudou-se os efeitos da incorporação direta de nano e micro aditivos (TiO_2 e grânulos de cortiça) nas propriedades antifúngicas de argamassas à base de cal.

Com base nas campanhas experimentais realizadas conclui-se que é possível realizar com sucesso a incorporação de nano e micro aditivos de forma direta em argamassas à base de cal para melhorar as suas características antifúngicas.

A caracterização física das argamassas envolveu a realização de testes no estado fresco e endurecido, tais como a determinação da sua trabalhabilidade. Por outro lado, a caracterização mecânica das argamassas foi desenvolvida com base em ensaios de determinação da resistência à flexão e resistência à compressão. Por último, a avaliação do desenvolvimento de fungos na superfície das argamassas teve como base a realização de observações microscópicas.

Foi possível observar que com a incorporação nano TiO_2 nas argamassas, houve um aumento da resistência à compressão e da resistência à flexão até aos 4%, para os 6% nota-se um ligeiro decréscimo, devido ao aumento da porosidade.

As propriedades antifúngicas das argamassas nano aditivadas com TiO_2 podem ser verificadas quando adicionamos 4% de nano TiO_2 .

O aumento da porosidade das argamassas nano aditivadas com TiO_2 , que está associada ao maior número de partículas finas e à sua dificuldade de mistura na argamassa provoca a diminuição das propriedades antifúngicas para incorporações acima dos 4%. Além disto a presença de maior quantidade de nano TiO_2 dificulta o desenvolvimento da reação fotocatalítica.

Foi possível observar que com a incorporação de micro grânulos de cortiça nas argamassas, houve um decréscimo da resistência à compressão e da resistência à flexão, devido à natureza deste material.

As propriedades antifúngicas das argamassas micro aditivadas com cortiça podem ser verificadas quando adicionamos 2% de micro grânulos de cortiça, para valores acima de 2% verifica-se também o aumento da porosidade das argamassas.

Comparando as propriedades antifúngicas entre os nano aditivos TiO_2 e micro grânulos de cortiça, verifica-se um melhor desempenho quando adicionamos TiO_2 do que grânulos de cortiça. Usando uma escala qualitativa podemos afirmar que com a incorporação de nano TiO_2 verifica-se que o desempenho antifúngico das argamassas é muito bom e que com a incorporação de micro grânulos de cortiça o desempenho antifúngico das argamassas é bom.

6.2 Trabalhos futuros

O trabalho desenvolvido ao longo desta investigação permitiu obter bons resultados relacionados com propriedades antifúngicas de argamassa de cal nano e micro aditivadas com TiO_2 e grânulos de cortiça. Contudo só foram dados os primeiros passos numa área com grande potencial de desenvolvimento, pelo que existem ainda diversas necessidades de investigação.

Estas necessidades de investigação prendem-se com os seguintes aspetos:

- ✓ Aumentar a área de recolha de fungos a Portugal Continental e Arquipélagos dos Açores e Madeira e efetuar a sua identificação,
- ✓ Analisar a existência de outro tipo de microorganismos além dos fungos,
- ✓ Relacionar a existência de fungos em edifícios com doenças respiratórias dos seu utilizadores.
- ✓ Melhorar a incorporação dos nano e micro aditivos nas argamassas através de técnicas já adotadas na nanotecnologia como a dispersão (combinando métodos físicos e químicos) dos aditivos em água,
- ✓ Efetuar um estudo económico sobre as argamassas nano e micro aditivadas.

7 REFERÊNCIAS

(IPQ) Instituto Português da Qualidade - Ensaio das propriedades geométricas dos agregados - Parte 1: Análise Granulométrica - Metodo de peneiração // NP EN 933-1. - 2000.

(LNEC) Laboratório Nacional de Engenharia Civil - Especificação E 64, Cimentos - Determinação da massa volúmica. Laboratório Nacional de Engenharia Civil , 1979.

Alvarez J., Sequeira C. e Costa M. - Ensinaamentos a retirar do passado histórico das argamassas. Em 1º Congresso Nacional de Argamassas de Construção - APFAC. Lisboa, 2005.

Alves A., Henriques I., Santos A., Tação M. e Correia A. - Tipagem Genética de Microrganismos. Lab. de Diversidade Microbiana. Aveiro, 2003.

APCOR Estudo de caracterização sectorial - Cortiça. Estatísticas e propetiva. CEGEA - Centro de Estudos de Gestão e Economia Aplicada - Universidade Católica Portuguesa, 2015.

APT associação portuguesa de tintas - <http://www.aptintas.pt> [Online]. - 2017. - Consultado em 29 de 06 de 2017. - <http://www.aptintas.pt/biocidas.aspx>.

Arthur R.A., Gregory C.J. e Matthews I.P. - The amount of surface mould contamination in homes in South Wales and the prevalence and relative abundance of differing mould genera - Proceedings of International Society of Indoor Air Quality and Climate. Lisboa, 2006. Vol II.

Ashby M., Ferreira P. e Schodek D. Nanomaterials and nanotechnologies in health and the environment [Secção do Livro]. Nanomaterials, Nanotechnologies and Design: An Introduction for Engineers and Architects. Butterworth. Heinemann, 2009. - Vol. chapter 11.

Auvinen J. e Wirtanen L. - The influence of photocatalytic interior paints on indoor air quality [Jornal] - Atmospheric Environment, 2008. - Vols. Vol. 42, Junho 2008, Pag. 4101-4112.

Bergman A., Lignell A. e Melhus A. - The first documented case of *Aspergillus* cardiac surgical site infection in Sweden: an epidemiology study using arbitrarily primed PCR., APMIS 2009 [Jornal]. APMIS. - 2009. - Pag. 568-74.

Broeckhuizen Fleur van e Broeckhuizen Pieter van - Nanotechnology in the European Construction Industry [Relatório]. European Federation of Building and Woodworkers. Amesterdão, 2009.

Callebaut K., Elsen J., Van Belen K. e Viaene W. - Nineteenth century hydraulic restoration mortars in the Saint Michael's Church (Leuven, Belgium) Natural hydraulic lime or [Jornal]. Cement and Concrete Research. - 2001. - Vol. 31. - Pag. 397-403.

CEN EN 1015-11 - "Methods of test formasonry - Part 11: Determination of flexural and compressive strength of hardened mortar" [Relatório]. European Committee for Standardization (CEN), 1999.

CEN EN 1015-3 - "Methods of test formortar for masonry - Part 3: Determination of consistence of fresh mortar (by flow table)" [Relatório]. European Committee for Standardization (CEN), 1999.

CIN <http://www.cin.pt> [Online]. - 2017. - Consultado em 29.06.2017 de Junho de 2017.<http://www.cin.pt/portal/portal/user/anon/page/profissionaldetalhe.psmi?contentid=6B80808B80C0&categoryOID=6D80808080A680GC&nl=pt>.

Conde João Pedro - Nanomateriais [Artigo]. Revista Sociedade Portuguesa de Quimica n° 97. - Junho, 2005. - Pag. 57-59.

Deng Q., Yang X. e Zhang J.J. - Key factor analysis of VOC sorption and its impact on indoor concentrations: The role of ventilation. [Jornal]. Building and Environment 47(1):182–187 · Janeiro, 2012.

Erlich Henry A. - Polymerase chain reaction [Jornal]. 1989. Volume 9, Pag. 437-447.

Faggio G., Modafferi V., Panzera G., Alfieri D. e Santangelo S.- Micro-Raman and photoluminescence analysis of composite vanadium oxide/poly-vinyl acetate fibres synthesised by electro-spinning [Artigo]. Journal of Raman Spectroscopy. 2012. Volume 43, Junho 2012, Pag. 761–768.

Ferreira Ivete Vasconcelos Lopes - Fotocatálise heterogénea com TiO₂ aplicada ao tratamento de esgoto sanitário secundário [Relatório]. - São Carlos SP : Universidade de São Paulo, 2005.

Filipe C. K. - Os edifícios e a saúde humana: breves notas sobre alguns problemas de saúde relacionados com edifícios [Jornal]. Revista Portuguesa de Saúde Pública, 2001. Volume 19 n°1.

Freitas V.P., Alves S.M. e Sousa M. - Um contributo para a sistematização do conhecimento da patologia da construção em Portugal [Conferência]. 4º Congresso Português de Argamassas e ETICS. 2º Congresso Nacional de Argamassas de Construção - Sob a Égide da Reabilitação. Lisboa, 2007.

Fuente Javier António de la - O edifício doente: relação entre construção, saúde e bem-estar [Relatório]. Universidade do Minho. Guimarães, 2013.

Garrido Luis de - Arquitectura para la felicidad [Livro]. Monsa. Barcelona, 2013.

Gaylarde C.C., Morton L.H.G., Loh K. e Shirakawa M.A. Biodeterioration of external architectural paint films - A review [Artigo]. International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 65, 2011.

Geranio L., Heuberger M. e Nowack B. - The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing [Artigo]. Environ. Sci. Technol. 2009. Volume 43 (21), Pag. 8113–8118.

Glover P - Porosity [Secção do Livro]. Laval University - PDF. California 2014.

Hallmann C., Rudrich J., Enseleit M., Friedl T. e Hoppert M.- Microbial diversity on a marble monument: a case study [Artigo]. Environmental Earth Science, 2011. Volume 63. Pag. 1701-1711.

Ion R.M., Turcanu-Carutiu D., Fierascu R.C., Fierascu I. Bughez I.R., Ion M.L., Teodorescu S., Vasilievici G. e Raditoiu V. - Caoxite-Hydroxyapatite composition as consolidating material for the chalk stone from Basarabi-Murfatlar churches ensemble. App. Surf. Sci., Dezembro, 2015. Volume. 358, Pag. 612-618.

IPQ - NP EN 998-1, “Especificações de argamassas para alvenarias – Parte 1: Argamassas para rebocos interiores e exteriores. INSTITUTO PORTUGUÊS DA QUALIDADE (IPQ), 2010.

Jerónimo A., Camões A., Aguiar B. e Lima N. - Hydraulic lime mortars with antifungal properties [Jornal]. Applied Surface Science, 2019. Volume 483, Pag. 1192–1198.

Jerónimo A., Camões A., Aguiar B., Lima N. e Eires R.- Prevenção de fungos em paredes e tetos [Conferência]. - Coimbra : 3º Congresso Luso-Brasileiro de Materiais de Construção Sustentáveis, 2018.

Kaiser J.P., Zuin S. e Wick P. - Is nanotechnology revolutionizing the paint and lacquer industry? A critical opinion. [Jornal]. Science of The Total Environment, 2013.

Kupper T., Burkhardt M., Rossi L. e Chèvre L.F.N. - <http://www.sea.eawag.ch> [Online], 2005. Consultado em 29 de 06 de 2017. - http://www.sea.eawag.ch/inhalt/sites/projekte/pdf/B_Urbic_2005.pdf.

Lab - Laboratórios de I&DT [Online] . LED&MAT . Instituto Pedro Nunos. Consultado em 7 de Junho de 2019. <https://www.ipn.pt/laboratorio/LEDMAT/ensaio/17>.

Lanas J., Pérez Bernal J., Bello M.A. e Alvarez Galindo J.I. - Mechanical properties of natural hydraulic lime-based mortars. [Jornal]. Cement and Concrete Research. 2004. Volume 34. Pag. 2191-2201.

Lichtenstein N. B. - Patologia das Construções [Relatório]. São Paulo : EPUSP, 1986.

Lledó Camilo Rodriguez - Guía de Bioconstrucción, sobre materiales y tecnicas constructivas saludables y de bajo impacto ambiental [Livro]. Mandala Ediciones, 1999.

Machado Bárbara Cláudia Cabral Alves - Caracterização das litogias e patologias da Sé de Lamego - Tese de Doutoramento [Relatório]. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, 2012.

Mathiazhagan A. e Rani J. - Nanotechnology-A New Prospective in Organic Coating - Review [Jornal]. International Journal of Chemical Engineering and Applications. 2011. Volume 2 n°4, Pag. 225-237

Matos A. M., Nunes S. e Sousa-Coutinho J. - Cork waste in cement based materials [Jornal]. Materials and Design, 2015. Volume. 85, Pag. 230-239.

Mendes Sandra Teresa de Oliveira - Desenvolvimento de formas farmacêuticas de ação tópica [Relatório]. Universidade de Coimbra. Coimbra, 2013.

Mensah-Attipoe J., Reponen T., Veijalainen e Anna-Maria H.- Comparison of methods for assessing temporal variation of growth of fungi on building materials [Artigo]. Microbiology, 2016. Volume 162, Pag. 1895–1903.

Nakai M. e Hess R.A. - Effects of carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate; MBC) on meiotic spermatocytes and subsequent spermiogenesis in the rat testis. [Jornal]. Anat. Rec., 1997. Volume 247, Pag.379-387.

Observatoire de la Qualité de la Construction - Sycodés 2016 [Relatório]. Agence Qualité Construction. Paris, 2016.

Oliveira Daniel Ferreira - Levantamento de causas de patologias na construção civil [Relatório], UFRJ. Rio de Janeiro, 2013.

Ortan A., Fierascu I., Ungureanu C., Fierascu R.C. e Avramescu S.M.- Innovative phytosynthesized silver nanoarchitectures with enhanced antifungal and antioxidant properties. [Artigo]. App. Surf. Sci., Dezembro, 2015. Volume 358, Pag. 540-548.

Paralab - paralab [Online]. 2019. Consultado em 14 de 06 de 2019. - <https://www.paralab.pt/product/prox>.

Parizek M., Douglas T.E., Novotna K., Kronka A., Brady M.A., Renzing A., Voss E., Jarosova M., Palatinus L., Tesarek P., Ryparova P., Lisa V., dos Santos A.M., Warnke P.H. e Bacakova L. - Nanofibrous poly(lactide-co-glycolide) membranes loaded with diamond nanoparticles as promising substrates for bone tissue engineering. [Jornal]. Int J Nanomedicine, 2012. Volume 7, Pag. 1931-51.

Paulus, W. - Directory of microbicides for the Protection of Materials - A handbook. [Livro]. Springer, 2005. Volume 1, Pag. 347-375.

Pereira L., Dias N., Carvalho J., Fernandes S. e Lima N.- Synthesis, characterization and antifungal activity of chemically and fungal - produced silver nanoparticles against *Trichophyton rubrum* [Jornal]. Journal of Applied Microbiology, 2014.

Quadros M.E., Lisboa H.M., Oliveira V.L., Schirmer W.N. - Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares: estudo de caso e análise crítica dos padrões atuais [Jornal]. Eng Sanit Ambient. 2009. Volume 14 n.3. Pag. 431-438.

Ráčová Z., Wasserbauer R. e Ryparová P. - Microscopic filamentous fungi in buildings, preventing their occurrence and their remediation using nanofibers. [Jornal]. Advanced Materials Research. Praga 2013. Volume 649, Pag. 89-92.

Rapley, Ralph - PCR Sequencing Protocols [Livro]. Humana Press, 1996.

Readman J.W., Albanis T.A., Barcelo D., Galassi S., Tronczynski J. e Gabrielides G.P. - Fungicide contamination of Mediterranean estuarine waters: Results from a MED POL pilot survey [Artigo]. Marine Pollution Bulletin. Abril, 1997. Volume 34, Pag. 259-263.

Rodrigues R. C. e Flora S. - Análise estatística da patologia em edifícios recentes [Conferência]. Coimbra, 2007.

Salud Pasion - Salud Pasion [Online]. - 2017. - Consultado em 12 de Maio de 2017. - <http://saludpasion.com/tag/sindromes/>.

Schobert H.H. - Chemistry of fossil fuels and biofuels. [Secção do Livro]. - Cambridge, 2013.

SECIL - Argamassas com agregados de cortiça - Ficha técnica. [Relatório]. SECIL, 2011.

SEMAT - Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho [Online]. Consultado em 14 de 06 de 2019. - 14 de 06 de 2019. - <http://www.semat.lab.uminho.pt/>.

Shirakawa, Márcia Aiko - Biodeterioração de argamassas por fungos: desenvolvimento de teste acelerado para avaliação da bio-receptividade [Livro]. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. São Paulo 1999.

Shoemaker R.C. , Rash J.M. e Simon E.W. Sick Building Syndrome in Water Damaged Buildings: Generalization of the Chronic Biotoxin-Associated Illness Paradigm to Indoor Toxigenic Fungi [Secção do Livro]. Health Effects II – Toxicology and Neurological Effects. 2006. Pag.52-63.

Sitter - Boletim técnico nº 152 [Relatório]. CEB Comitê Euro-international du Beton. Paris, 1984.

Sterflinger, K. - Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage [Jornal] // Fungal Biology Reviews. 2010. Volume 24. Pag. 47-55.

Sterling T.D., Collett C. e Rumel D. - A epidemiologia dos "edifícios doentes" [Jornal]. Revista Saúde Pública. 1991. Pag. 56-63.

Uemoto, K.L. - Impacto ambiental das tintas imobiliárias - Relatório final. [Relatório]. São Paulo, 2001.

Valentim B., Rocha R. e Guedes A. - Quercus suber cork and respective fly ash characterization by FEG-ESEM/EDS. [Conferência]. 10th European Conference on Industrial Furnaces and Boilers. Porto, 2015.

Vassilev S., Baxter D. e Andersen L. - An overview of the chemical composition of biomass. [Jornal]. Fuel, 2010. Volume 89, Pag. 913-933.

Veiga M.R., Aguiar J., Silva A.S. e Carvalho F. - Conservação e renovação de revestimentos de paredes de edificios antigos [Livro]. Colecção Edifícios - LNEC, Lisboa 2014.

Wang Y., Zhang Q., Zhang C. e Li P. - Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes [Artigo]. Food Chemistry. Volume 132, Maio 2012, Pag. 419-427.

Webb P.A. e Orr C. - Analytical Methods in Fine Particle Technology. [Livro]. - Norcross : Micromeritics Instrument Corp, 1997.

Zioli R.L. e Jardim W. - Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO₂ [Artigo]. Quimica Nova. Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas. Campinas SP 1998. Volume 21 (3). Pag. 319-325.