

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA
CATARINA

CÂMPUS JARAGUÁ DO SUL

CURSO TÉCNICO EM QUÍMICA (MODALIDADE: INTEGRADO)

**ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE FUNGOS UTILIZANDO DOIS
BIOCIDAS: TEREBINTINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Anatana Mileide Wachholz Karina

Castro de Amorim Jonathan Franzen

Fagundes Maria Eduarda Fontana da

Silva Mayara Cristina de Azevedo

Pâmela Solinski Postai

Jaraguá do Sul, 2016

Anatana Mileide Wachholz Karina
Castro de Amorim Jonathan Franzen
Fagundes Maria Eduarda Fontana da
Silva Mayara Cristina de Azevedo
Pamela Solinski Postai

ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE FUNGOS UTILIZANDO DOIS BIOCIDAS: TEREBINTINA E NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Projeto de pesquisa desenvolvido no eixo formativo diversificado
“Conectando Saberes” do curso Técnico em Química (Modalidade
Integrado) do Instituto Federal de Santa Catarina - Câmpus Jaraguá
do Sul.

Coordenador (a): Anne Cristina Bartz
Orientador (a): Prof.a MSc Ana Paula Aparecida Duarte Souza
Co-orientadora: Luciana Pinheiro

JARAGUÁ DO SUL 2016

RESUMO

Os problemas respiratórios causados pelos fungos vêm sendo estudados para possibilitar o seu combate, além de males a saúde eles são responsáveis pelo processo de deterioração orgânica, se tornando presentes em nosso cotidiano. Este trabalho teve como objetivo avaliar, pela comparação, a eficiência de dois aditivos utilizados para a inibição do crescimento microbiano, sendo eles a terebintina e a nanopartícula de prata. A proposta inicial do projeto era avaliar o desenvolvimento de fungos na parede sob as tintas aplicadas possuindo diferentes volumes de cada aditivo para comparar sua propriedade fungicida. Porém, ao perceber que não seriam obtidos os resultados esperados, optou-se por testes laboratoriais, testando os mesmos volumes em fungos inoculados em placas de Petri com a utilização do ágar como meio de cultivo. A proliferação dos micro-organismos foi acompanhada por registro fotográfico para a verificação da eficácia dos aditivos através de uma comparação visual das UFC's (Unidade Formadora de Colônia). Foram obtidos como resultados a terebintina como fungicida eficaz e a nanopartícula de prata como inibidor parcial do crescimento dos micro-organismos.

PALAVRAS CHAVES: fungos; terebintina; nanopartícula de prata; fungicida; crescimento microbiano; tinta.

Lista de figuras

Figura 1: Processo de fabricação das tintas.	10
Figura 2: Molécula de terebintina	14
Figura 3: Reação de síntese das nanopartículas de prata	16
Figura 4: Parede em ambiente interno	17
Figura 5 Parede em ambiente externo	17
Figura 6: Ambiente externo	20
Figura 7: Ambiente interno	20
Figura 8: Ambiente externo após aplicação da tinta	21
Figura 9: Ambiente interno após aplicação da tinta	21
Figura 10: Colônias de fungos na amostra de prova (12/02)	22
Figura 11:Todas as amostras do experimento	23
Figura 12: Primeiras colônias visíveis.	23
Figura 13: Quantidade de UFC nas amostras contendo nanopartícula de prata	24
Figura 14: Ausência de UFC's nas placas com adição de terebintina	24
Figura 15: Comparação de UFC's nas placas com adição de nanopartículas de prata	25

Sumário

1. Introdução	6
2. Revisão Bibliográfica	7
2.1 <i>Fungos</i>	7
2.1.1 <i>Fungos e a Saúde</i>	8
2.2 <i>Tintas</i>	8
2.2.1 <i>Fabricação de tintas</i>	9
2.2.2 <i>Tipos de tintas</i>	10
2.2.3 <i>Tinta acrílica e sua aplicação</i>	11
2.2.4 <i>Tintas líquidas</i>	11
2.3 <i>Aditivos</i>	13
2.3.1 <i>Terebintina</i>	14
2.3.2 <i>Nanopartículas de Prata</i>	15
3. Metodologia	16
3.1 <i>Metodologia – Tintas</i>	16
3.2 <i>Metodologia – Preparo das nanopartículas de prata</i>	17
3.3 <i>Metodologia – Ágar</i>	18
4. Resultados e Discussão	19
4.1 <i>Tintas</i>	19
4.2 <i>Resultados em laboratório</i>	22
4.2.1 <i>Terebintina</i>	24
5. Considerações finais	25
6. Referências	26

1. Introdução

Os fungos são os agentes decompositores da natureza, responsáveis por manter o equilíbrio natural dos ecossistemas através da decomposição da matéria orgânica onde liberam minerais ao ambiente. Existem milhares de tipos de fungos onde alguns deles são muito importantes para a fabricação de alimentos tais como queijos e pães e na indústria como auxiliares em reações químicas. (LINHARES; GEWNDSZNAJDER, 2009)

Tendo em vista que nossa região sofre com a alta umidade, os fungos se proliferam com mais facilidade e em locais indesejados como calçados, paredes, colchões, travesseiros e também fazem com que os alimentos estraguem mais rápido. Com mais fungos ao nosso redor aumentam os riscos de doenças como micose, histoplasmose e candidíase.

Um dos principais lugares onde os fungos crescem é em muros e paredes onde em grande parte das vezes encontram ambiente favorável em questão de temperatura, umidade e alimento em forma de resíduos orgânicos impregnados ou até mesmo dos materiais de construção, a consequência é a deterioração da pintura das construções.

Considerando este problema, decidimos realizar testes com aditivos alternativos adicionados à tinta comum na tentativa de inibir o crescimento microbológico, sabendo que no mercado já existem tintas anti-mofo que realizam essa função de forma razoável, mas seu custo é muito elevado, fazendo com que os aditivos possam ser uma forma mais barata de combate ao fungo. Os aditivos escolhidos foram: terebintina, um solvente obtido através da destilação da resina de árvores coníferas e as nanopartículas de prata, obtidas através da redução da prata pura e que vem ganhando cada vez mais abrangência na indústria. Ambas são conhecidas por suas propriedades antimicrobicas.

O trabalho visou, em base de experimentos, comprovar ou não a eficácia destes aditivos no combate e inibição do crescimento de fungos nas tintas comuns.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 *Fungos*

Conhecidos popularmente como mofo, fermentos, cogumelo e bolor, os fungos, são seres eucariontes que se alimentam, em sua maioria, de matéria orgânica. Hoje são conhecidas aproximadamente 100.000 espécies de fungos no mundo, que podem ser anaeróbios ou aeróbios, depende de sua espécie. Os micro-organismos anaeróbios realizam fermentação e os aeróbios, respiração. Alguns fungos são muito utilizados na área alimentícia, como os fungos da espécie *Saccharomyces cerevisie*, que são os principais fermentadores na fabricação da cerveja. Os fungos podem ser divididos em dois tipos mais específicos, os bolores, que apresentam colônias filamentosas e as leveduras que apresentam uma colônia cremosa.

Esses micro-organismos são encontrados em diversas áreas, principalmente no solo, mas eles preferem locais escuros úmidos e quentes que possuam algum tipo de alimento para se reproduzirem, tendo o ar como principal meio de dispersão, mas também podem utilizar de sementes, animais, insetos ou água. De acordo com Rosa, et al -2008- “os fungos são micro-organismos que podem acometer todo tipo de acervo, independentemente de sua constituição”, agindo como deterioradores naturais, causando mau cheiro, destruindo roupas e paredes. Os mofos, presentes em pães velhos, frutas estragadas e em paredes, são agentes acentuadores das doenças respiratórias, como a rinite alérgica.

Para Souza et al. -2010- os fungos são um dos grupos mais importantes na degradação da matéria por possuírem uma capacidade muito avançada para essa função, em sua fase vegetativa eles produzem muitas enzimas para quebra de alimentos com intenção de entrar na fase reprodutiva. Seu ciclo de vida é pequeno, mas em compensação seus esporos são muito resistentes, podendo levar dias até serem germinados em um ambiente adequado. Estes seres microscópios possuem grande habilidade adaptativa, que segundo Marques (2008) é necessário apenas a temperatura adequada para que esses organismos se adaptem ao meio.

2.1.1 *Fungos e a Saúde*

Segundo Linhares e Gewndsznajder (2009), os fungos ganharam maior atenção a partir da descoberta da penicilina pelo cientista Alexander Fleming em 1929. Fleming estava, eventualmente, cultivando um tipo de bactéria patogênica em placas de vidro quando observou que uma das placas tinha sido contaminada por um fungo e ao seu redor onde nenhuma bactéria se desenvolvia, criando a hipótese de que o fungo produzisse uma substância capaz de impedir o crescimento de fungos e nomeando essa substância como penicilina, derivado da espécie do fungo *Penicillium*.

Os fungos são importantes decompositores que se alimentam de substâncias orgânicas e folhas mortas, assim contribuindo para a reciclagem da matéria. Porém, essa capacidade de decompor matéria orgânica também pode causar problemas, uma vez que os fungos destroem alimentos, roupas, papéis, pinturas civis, entre outros produtos orgânicos.

A produção de antibióticos pelos fungos pode ser explicada pelo fato de que, sendo imóveis, uma de suas defesas contra predadores é a produção de substâncias químicas que matam ou inibem o crescimento de bactérias e outros seres vivos que se nutrem ou disputam alimentos com os fungos (LINHARES; GEWNDSZNAJDER, 2009)

Brunet (2006) afirma que, além de provocar incomodo estético, os fungos também são responsáveis por vários problemas respiratórios que atrapalham o dia a dia das pessoas. O nível de intensidade alérgica depende diretamente da frequência de contato e varia de pessoa para pessoa.

2.2 *Tintas*

A tinta é uma dispersão onde se encontram partículas sólidas com dimensões

entre 1 μm e 1nm. Encontram-se distribuídas em um componente volátil (água ou solventes orgânicos) que, quando aplicada a uma superfície, formam um aderente com a função de proteger contra agentes naturais e intempéries (umidade, poluição, calor e coisas do gênero), facilitam a higienização dos ambientes, proporcionam conforto térmico e controlam a luminosidade e decorar (Anghinetti, 2012).

No Brasil, a primeira fábrica de tinta foi em Blumenau, Santa Catarina, datada de 1886. A partir dos anos 1950 a indústria nacional desenvolveu-se com muitas resinas sintetizadas, surgindo tintas para diversas aplicações. (Anghinetti, 2012).

Sendo assim, o conhecimento sobre os diferentes tipos de tinta se tornam necessários para o aprimoramento de futuros estudos que necessitem de tal definição.

2.2.1 Fabricação de tintas

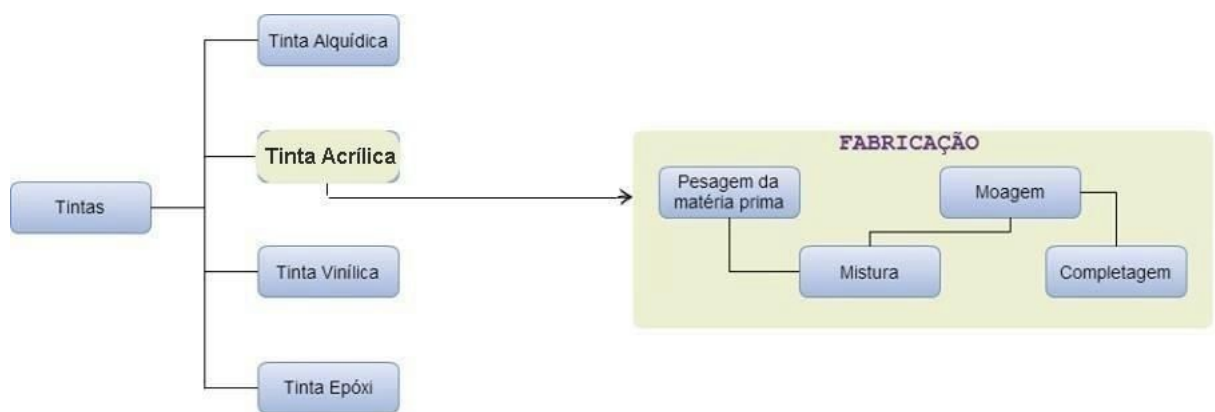
Inicialmente é feito o processo seleção das principais matérias primas, como pigmentos, resinas e aditivos. Posteriormente estes são pesados de acordo com a fórmula indicada que varia com a solução que se deseja obter. Depois passam pela etapa de mistura, esta é dispersa em disco de alta rotação. As matérias primas são adicionadas em um meio líquido que varia com os insumos utilizados e são agitadas por meio de atrito hidráulico.

Posteriormente a solução homogênea passa por três moinhos: o de bolas, o vertical e o horizontal. No moinho acontece uma eficaz homogeneização em determinadas misturas e para moer determinados tipos de materiais em pó fino. Com este dispositivo é frequentemente usado para a redução de determinadas partículas, ou até mesmo para a mistura de alguns materiais (LINHARES, 2009).

Segundo Linhares (2009), depois de passar pelos moinhos, o material vai para a etapa de formulação das bases de moagem em que, as dispersões são formuladas com

uma dada quantidade de pigmento e um veículo com propriedades de umectação, viscosidade e estabilidade. Deve ser usada a máxima quantidade de solvente possível para que o mesmo, além de ajudar na umectação do pó, permita a utilização de altas concentrações de pigmento na composição, aumentando o rendimento da operação. Por fim, o material passa pela completagem, onde o produto é recolhido para adicionar os componentes faltantes para não alterar as propriedades da tinta e também para que sua fórmula esteja correta, perdas podem acontecer no processo de moagem, e para que a tinta esteja boa, ela precisa ter a mesma composição da descrita na fórmula.

Figura 1: Processo de fabricação das tintas



Fonte: Elaborado pelo grupo

2.2.2 Tipos de tintas

Segundo Anghinetti (2012), existem diferentes tipos de tintas, algumas têm como base a resina e outras têm como base a cerâmica. As de base resina são: acrílica, vinílica, alquídica, epóxi, poliuretano, fenólica, borracha clorada, poliéster, nitrocelulose e silicone. E as de base cerâmica são: cal, cimento, terra e silicato.

Conforme o autor, encontram-se duas notáveis diferenças entre as tintas:

As tintas à base de resina formam uma película plastificante sobre o substrato, impedindo a troca de gases com o ambiente, com exceção da tinta à base de silicone que reage com o substrato, permitindo a troca de gases e vapor d'água. As tintas de base cerâmica, ou seja, à base de cal, cimento, terra e silicatos são tintas que permitem a respiração do substrato, não selando, ou plastificando o mesmo. A segunda diferença é que essas últimas são menos agressivas ao meio ambiente, tanto na fabricação, quanto na aplicação e descarte do material (Anghinetti, 2012).

Assim, as diferenças encontradas, se demonstram variáveis conforme o tipo de tinta que venha a ser utilizado.

2.2.3 Tinta acrílica e sua aplicação

Anghinetti (2012) afirma que, as tintas totalmente acrílicas são mais resistentes às intempéries e tem maior retenção de cor. É apontada por especialistas para ambiente exterior e também para locais onde há grande movimentação de pessoas, a mesma conta com um acabamento fosco, acetinado e semi-brilhoso. Algumas das características de aplicação da tinta acrílica são: sua boa eficiência em locais de grande tráfego de pessoas e em geral são aplicadas em fachadas externas, podendo também ser aplicada sobre o reboco, massa corrida, gesso e madeira. E a tinta acrílica emborrachada ajuda a evitar trincas.

2.2.4 Tintas líquidas

Conforme Galhardo (2012), as tintas usadas em construções civis são compostas basicamente, por tintas que utilizam água como solvente, as quais denominaram tintas à base água. As tintas apresentam como componentes básicos: pigmentos, resinas, solventes e aditivos.

- **Pigmentos**

Pigmentos são compostos sólidos e insolúveis, sintéticos ou naturais, os quais são responsáveis por oferecer coloração, opacidade, algumas características de resistência e outros efeitos às tintas. Os pigmentos podem ser coloridos e não coloridos, sendo o dióxido de titânio (pigmento branco), que é um dos pigmentos mais empregados, e o negro de fumo (pigmento preto) conhecido também como fuligem e nada mais é do que o carvão em sua forma mais pura. Os pigmentos podem ser classificados também em orgânicos ou inorgânicos:

Os pigmentos orgânicos são substâncias corantes que normalmente não têm características ou funções anticorrosivas. Um dos aspectos mais importantes a se observar é sua durabilidade ou propriedade de permanência sem alteração da cor, principalmente para ambientes externos. Incluem aqui os de cores mais brilhantes. São mais caros que os inorgânicos e possuem alto poder de tingimento, com propriedades de cor como intensidade, tonalidade e limpeza. Inorgânicos. Geralmente não são tão brilhantes quanto os orgânicos, são considerados pigmentos inorgânicos todos os pigmentos brancos, cargas e uma grande faixa de pigmentos coloridos, sintéticos ou naturais (Anghinetti, 2012).

O dióxido de titânio, como já descrito anteriormente, é um dos pigmentos mais usados, pois é capaz de melhorar a qualidade da tinta, garantir maior poder de cobertura, alvura, durabilidade, brilho e opacidade. É um sólido cristalino e incolor quando puro, tem maior estabilidade e alta densidade. Possui maior poder opacificante e mais estabilidade para pinturas em ambientes externos.

Os pigmentos inertes ou cargas podem ser naturais ou sintéticos. Apesar de estarem dentro dos pigmentos inorgânicos, podem também ser orgânicos, e estes inorgânicos são de cor branca e tem baixo índice de refração, esse tipo de pigmento interfere em diversas características da tinta, incluindo brilho, opacidade, entre outras.

- **Resinas**

De acordo com Anghinetti (2012), as resinas são obtidas através da indústria química ou petroquímica por meio de polimerização. Essa reação consiste na ligação

de duas ou mais unidades estruturais menores, formando o polímero. Estes conferem às tintas propriedades de resistência, aderência, flexibilidade e durabilidade. A resina é a parte não-volátil da tinta, conhecida como ligante ou aglutinante que adere às partículas dos pigmentos, formando uma película. A formação dessa película de tinta está relacionada com a complexidade de reações químicas do polímero, embora outros componentes, como solventes, pigmentos e aditivos tenham influência no sentido de retardar, acelerar e até inibir essas reações. Também chamado de veículo sólido a resina é o componente mais importante da tinta. É por meio das características das resinas que se classificam os nomes das tintas. Como exemplos, das mais usuais, têm as tintas vinílicas, acrílicas, alquídicas, poliuretânicas, epóxi, poliéster, nitrocelulose e borracha clorada.

- **Solventes**

Solvente é um dos componentes da tinta que difere a tinta líquida da tinta em pó, conforme Anghinetti (2012). A tinta em pó não requer um meio solvente para manter os seus componentes (ligante, pigmento, etc) numa suspensão em meio líquido. O solvente tem como características ser volátil, de baixo ponto de ebulição, incolor e neutro. É capaz de solubilizar as resinas, formando mistura homogênea, e de melhorar sua viscosidade, facilitando a aplicabilidade das tintas e aumentando a aderência ao substrato. Além dessas propriedades os solventes apresentam inflamabilidade, toxicidade e forte odor. São selecionados em função da natureza da tinta, mantém os pigmentos e as resinas dispersas ou dissolvidas em um estado fluido. Após a aplicação da tinta, a porção líquida evapora de forma gradual, por meio de solventes com diferentes pontos de ebulição, controlando a evaporação, evitando assim o escorrimento da tinta e possibilitando a correção de pequenas imperfeições, formando uma película de pigmentos estruturada com a resina. Normalmente, esses compostos não reagem com os constituintes da tinta. Podem ter classificações conforme sua natureza química, tais elas: hidrocarbonetos, solventes oxigenados e solventes clorados.

2.3 Aditivos

Os aditivos implicam qualidades especiais nas tintas, e auxiliam na produção e aplicação final, oferecendo melhorias para a mesma. Existe uma grande variabilidade de aditivos utilizados, podendo-se destacar os antiespumantes, espessantes, dispersantes e biocidas¹. Neste trabalho serão usados dois biocidas: a nanopartícula de prata e terebintina.

¹ Biocidas são substâncias com capacidade de matar organismos. (MORAGAS & SCHNEIDER, 2003)

2.3.1 Terebintina

A terebintina é um líquido oleoso, transparente e que possui odor e sabor desagradável. Utilizado como solvente para diversos tipos de tinta tanto para corantes, vernizes, entre outros está também apresenta propriedades propícias para germicidas, fungicidas e bactericidas. É formada por hidrocarbonetos terpênicos e principalmente por α – pineno e β – pineno que são substâncias bastante conhecidas por serem isômeras derivadas de isopreno, que é uma substância insaturada que possui a fórmula molecular de C_5H_8 . (Marquardt et al., 2014). A fórmula molecular da terebintina é $C_{10}H_{16}$. E sua molécula, pode ser observada na figura 2.

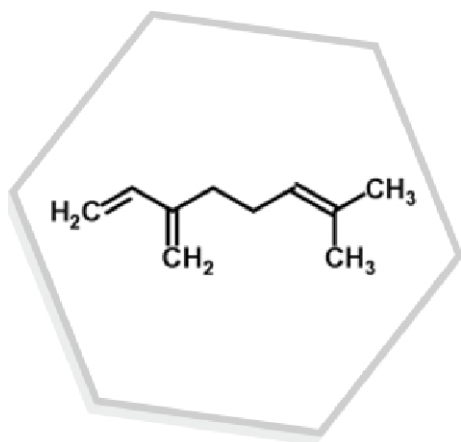


Figura 2: Molécula da terebintina

Fonte: <http://www.oleos essenciais.org/tag/mirceno> (2010)

A terebintina possui ponto de ebulição aproximadamente 388,15K e densidade variável de 0,860 a 0,880, sendo também insolúvel em água e

bastante miscível em álcool e éter. Segundo Kolicheski (2006) se exposta ao ar, a resina seca até solidificar, absorvendo oxigênio para a produção de ozônio. É conhecida também por ser um óleo resina e é muito utilizado em indústrias de cosméticos, principalmente para a produção de fragrâncias.

Para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por ser considerado um produto de oxidação do Δ^3 careno (Δ^3 careno hidroperóxido) é altamente alergênico, assim como outros constituintes da terebintina, como o α – pineno, são irritantes. Também pode ser utilizada em diversos outros campos, como diz Kolicheski (2006) “A terebintina tem aplicações diversas no campo químico e farmacêutico, sendo utilizada como solvente de tintas e vernizes, e na cânfora sintética. Fungicidas, bactericidas e germicidas também incluem terebintina em sua composição”.

2.3.2 *Nanopartículas de Prata*

Segundo o Comitê Europeu de Normalização (CEN), “uma nanopartícula é um corpo tendo uma dimensão da ordem de 100 nm ou menor e que tem propriedades únicas que os diferem dos materiais de origem”. Elas se destacam por suas propriedades antimicrobianas e bactericidas.

As nanopartículas metálicas estão presentes hoje nas aplicações tecnológicas mais diversas, como construção de sensores, microeletrônica, catálise, ação bactericida, células fotovoltaicas, devido às suas propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e catalíticas. De acordo com Mezencio (2014), a prata nanométrica é utilizada atualmente na produção de meias e forros de calçados com a finalidade de combater o odor do pé, na fabricação de bandagens que promovem cicatrização, no interior de refrigeradores e contêineres de armazenamento de alimentos para retardar a deterioração, entre outras aplicações.

A nanopartícula de prata é obtida através da redução da Prata (Ag) que ocorre na reação entre o Nitrato de Prata e o Boroidreto de Sódio onde, após a reação tem-se as nanopartículas de prata com suas propriedades germicidas ampliadas em relação ao composto de origem. Como mostra-se na figura 3.

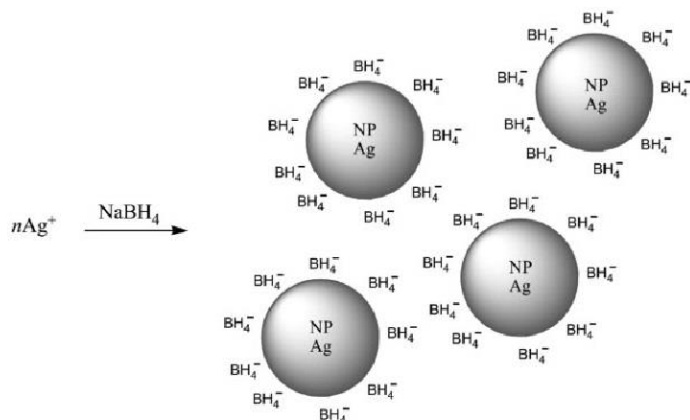


Figura 3: Reação de síntese das nanopartículas de prata

Fonte: Melo Junior et al. (2012)

Contudo, as mesmas podem ser extremamente tóxicas, e precisam de uma pesquisa aprofundada em relação às suas aplicações. Estudos recentes mostram que as nanopartículas de prata podem matar células do fígado e do cérebro de ratos.

3. Metodologia

3.1 Metodologia – Tintas

Inicialmente foi realizada a síntese das nanopartículas de prata. Posteriormente foram preparadas seis soluções de tinta com água e aditivo, no laboratório de química do IFSC - Câmpus Jaraguá do Sul, para a aplicação na parede externa e mais seis soluções idênticas para a aplicação na parede interna.

Nesta etapa de preparação das substâncias percebeu-se que a tinta possuía uma

densa consistência, o que dificultou a adição dos fungicidas. Então dissolveu-se a tinta usando copos plásticos descartáveis como recipientes, os mesmos foram marcados no volume de 20 mL e deste volume, 15 mL era de tinta pura.

A mistura foi homogeneizada com auxílio de um bastão de vidro e após a dissolução da tinta adicionou-se, com uma micropipeta, os determinados aditivos em três diferentes volumes, sendo eles: terebintina e nanopartículas de prata, nas medidas de 0,5 mL, 1,0 mL e 1,5 mL. Tais volumes foram determinados a partir do projeto de Marquardt et al. -2014- no qual as mesmas concentrações foram utilizadas de forma, e com objetivos, muito semelhantes aos do nosso projeto.

As paredes já contaminadas por fungos, em ambiente interno e externo, foram lixadas em espaços de 70x60 (Comprimento x Largura) com lixas de granulometria 120. Ainda antes da aplicação das soluções, foram feitas sete marcações de 10 cm² em ambas as paredes com 5 cm de distância entre cada quadrado, delimitando assim o espaço e sequência de cada uma das soluções. Um dos quadrados, em cada parede, foi identificado como controle (apenas tinta pura), como ilustrado nas figuras 4 e 5. Os quadrados foram pintados de forma aleatória, almejando assim um melhor resultado, sem que a chuva, e os próprios aditivos, implicassem no desenvolvimento e resultado de cada aditivo em específico.

Figura 4: Ambiente interno



Figura 5: Ambiente externo



A pesquisa realizada é de classificação comparativa, pois os dados foram avaliados a partir da comparação visual da contagem de UFCs que determinaram a eficiência de cada composto com seus diferentes volumes. Além da avaliação do desenvolvimento e crescimento dos fungos nas paredes interna e externa, foram, também, realizados testes laboratoriais para visualmente verificar a ação dos fungicidas em pequena escala, com os mesmos fungos presentes na parede externa inoculados em placas de Petri.

3.2 Metodologia – Preparo das nanopartículas de prata

Para a preparação da solução, foram usados 0,0095g de boro hidreto de sódio (NaBH_4) a uma concentração de 0,01 mol por litro (mol. L^{-1}), 0,001g de nitrato de prata (AgNO_3) com concentração de 2,5 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ e 0,0016g de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) com a mesma concentração do nitrato, sendo que todos foram preparados com 0,250 ml de água resfriada.

Assim, foram adicionados em um béquer 10 ml da solução de nitrato de prata junto com a mesma quantidade da solução de citrato de sódio. Depois, a solução foi levada a um agitador mecânico para que houvesse uma mistura constante das duas soluções. Conseguiu-se observar que em um primeiro momento a solução sobre agitação se encontrava límpida e com um aspecto incolor, porém, assim que adicionamos 0,6 ml da solução de boro hidreto a coloração passou para azul e em seguida para amarelo esverdeado.

Após esse processo a dispersão foi mantido em constante agitação durante 30 minutos e depois foi devidamente armazenado para seu uso.

3.3 Metodologia – Ágar

Na tarde de 03 de fevereiro de 2016, foi preparado o BDA (Batata Dextrose Ágar) que serviu como meio de cultivo dos fungos. Para este preparo, foi necessário a esterilização de todos os materiais que fariam parte do procedimento. Para isso, utilizou-se uma autoclave, que foi submetida a uma pressão de 1,5 atm, durante em média 40 minutos. Os materiais a serem autoclavados, estavam embalados em papel craft, para garantir a esterilização completa.

Após a esterilização, começou-se o preparo do ágar. Foram utilizados 50g de batata cozida na autoclave em uma mistura contendo 200mL de água. A mistura de extrato de batata foi fervida e em seguida adicionou-se 3,4g de ágar e mexeu-se até ficar homogêneo. O pH foi medido a partir de um papel indicador e estava entre 6 e 7, o ideal para o crescimento dos fungos. Após o preparo do ágar de batata, este foi novamente autoclavado, para garantir que não haveria micro-organismos na mistura. O balcão foi esterilizado utilizando álcool 70% e um bico de Bunsen ficou aceso durante todo o processo de passagem do ágar para as placas de Petri. As placas de Petri foram lacradas com papel filme e levadas à estufa para garantir nenhuma outra forma de contaminação.

Na semana seguinte, fez-se a inoculação dos fungos. Inicialmente foram esterilizados um bastão de vidro, um béquer e quatro tubos de ensaio, todos embalados por papel craft. Com as vidrarias esterilizadas, preparou-se 100 mL de uma solução de NaOH 1M, que foi utilizada para transportar o fungo da parede até o laboratório. Essa solução básica não foi esterilizada devido ao Hidróxido de Sódio ser altamente corrosivo, o que garante a não presença de fungos. Os fungos foram coletados da parede utilizando-se um swab, que foi imerso na solução contida no tubo de ensaio tampado por um algodão que também foi esterilizado na autoclave. A bancada foi esterilizada da mesma forma que no experimento do dia 03 de fevereiro e novamente se manteve um bico de Bunsen aceso próximo do manuseio das placas de Petri. A inoculação foi feita de maneira estriada, para ter-se maior volume de crescimento. Após a inoculação, foram adicionados os aditivos nanopartícula de prata e terebintina nas concentrações de 0,5mL, 1mL e 1,5 mL e a partir daí as placas de Petri voltaram novamente para a estufa, lacradas com papel filme, à uma temperatura média de 35°C. Com o experimento concluído,

começaram os registros de crescimento, com as placas de Petri sendo fotografadas a cada 48 horas, durante 14 dias.

4. Resultados e discussão

4.1 Tintas

A aplicação das tintas nas paredes foi realizada seguida de um acompanhamento fotográfico semanal nos meses de novembro e dezembro nos dois ambientes. Para compreender a que condições as amostras estavam sendo submetidas registrou-se também antes de ser feito o lixamento das paredes interna e externa a qual podemos observar nas figuras 6 e 7.



Figura 6: Ambiente externo



Figura 7: Ambiente interno

A escolha do local de pesquisa baseou-se nas condições de umidade e temperatura a que estavam sendo expostas, além do fato visível de alta quantidade de fungos.

As imagens registradas no dia 10 de novembro de 2015, apresentam as tintas já aplicadas nos dois ambientes selecionados, sendo marcada a letra T para terebintina e a letra N para nanopartícula de prata.

Figura 8: Ambiente externo após a aplicação da tinta

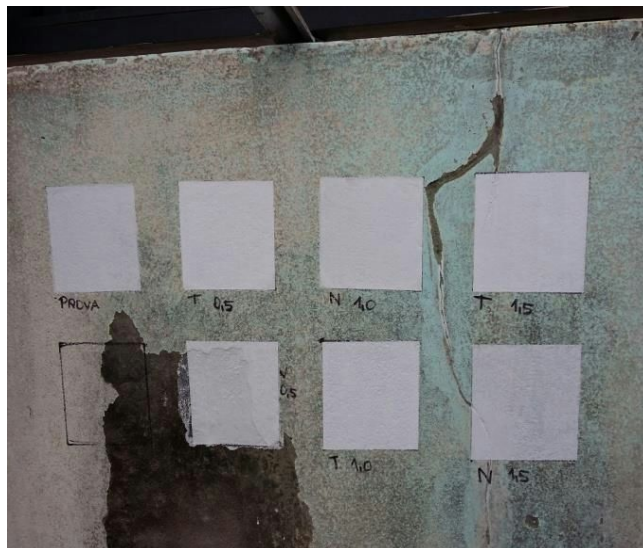


Figura 9: Ambiente interno após a aplicação da tinta

As fotos foram tiradas semanalmente até o dia 22 de dezembro de 2015, até então sem obter o resultado esperado. Pode-se observar que, supostamente, não houve o tempo necessário para o crescimento do fungo na tinta controle (branca sem qualquer aditivo), na qual era de se esperar o desenvolvimento dos micro-organismos. Com isso, estendeu-se o acompanhamento durante o mês de janeiro, entretanto observou-se visualmente que nos ambientes não haviam sinal algum de crescimento dos fungos.

A partir deste procedimento, pode-se supor que o lixamento das paredes possa ter feito com que o tempo para a proliferação dos fungos fosse maior, pois ao lixar, parte dos esporos de fungos são removidos. É possível considerar, também, que algum tipo de reação química possa ter ocorrido na execução, uma vez que em laboratório os copos plásticos descartáveis sofreram reações químicas quando em contato com as tintas que continham adição de terebintina. Para confirmar que o copo reagiu somente com a terebintina, foi acrescentada uma quantidade de terebintina pura em um copo descartável vazio e limpo e desta forma a reação aconteceu, resultando no derretimento do copo plástico.

Devido as aplicações nas paredes não apresentarem resultados altamente significantes, foram realizadas práticas laboratoriais buscando justificar os resultados obtidos.

4.2 Resultados em laboratório

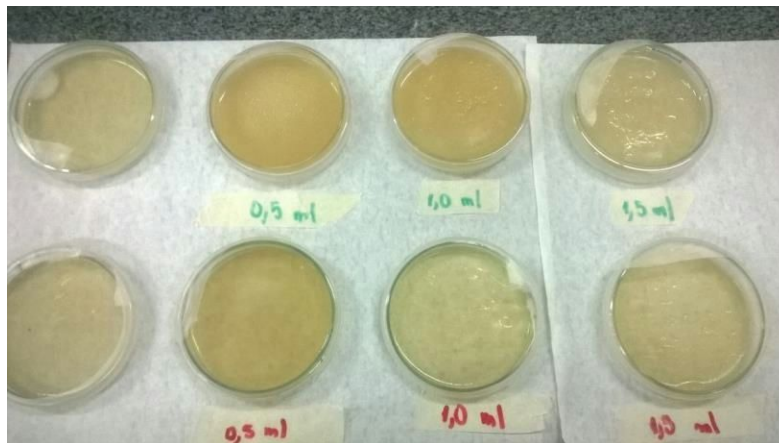
Como meio alternativo de resultados da efetividade de dois aditivos, nanopartícula de prata e terebintina, fez-se a inoculação de fungos em ágar. A mesma ocorreu no dia 10/02/2016 e a partir do dia 12/02 foram feitos registros fotográficos a fim de acompanhar visualmente o crescimento dos fungos no ágar. Os registros foram feitos a cada quatro dias uteis e logo no primeiro registro já foi possível constatar pequenas colônias na amostra de prova (Figura 10) que não continha nenhum aditivo. Conforme os estudos de Kolicheski (2006) a Terebintina é muito utilizada por ser um fungicida eficaz e a nanopartícula de prata, por se tratar de um metal que apresenta propriedades específicas para um fungicida.

Figura 10: Colônias de fungos na amostra de prova (12/02)



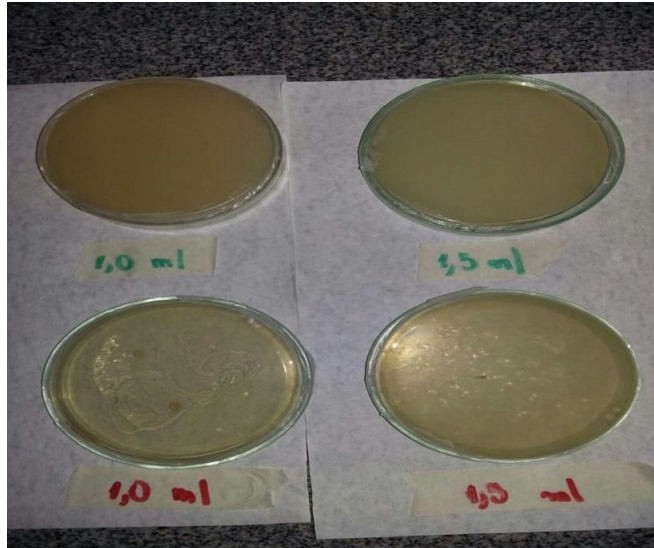
No primeiro registro fotográfico nota-se que a única amostra que continha UFC's (unidade formadora de colônia) era a de prova, contendo duas visíveis (Figura 10). As demais amostras não continham nenhuma colônia visível a olho nu, como pode ser observado na figura 9. Havia duas amostras de prova e uma delas continha um fungo era visto apenas contra a luz, pois possuía um aspecto transparente, sendo possível identificar apenas as bordas da colônia.

Figura 11: Todas as amostras do experimento



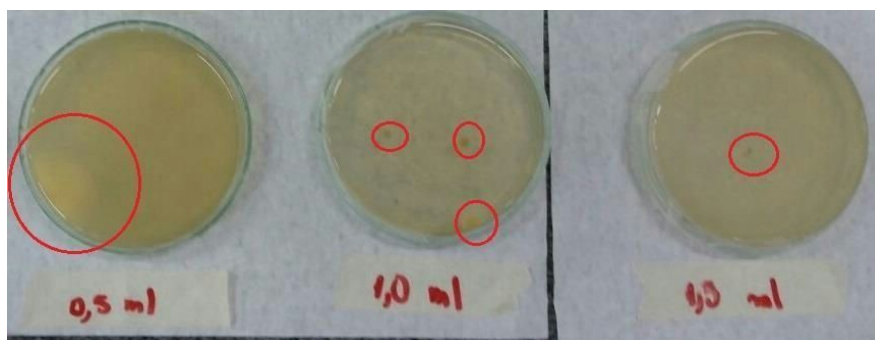
No segundo registro fotográfico do dia 16/02 já havia pequenas colônias na amostra 0,5mL e 1mL, mas eram extremamente pequenas (Figura 12) e (Figura 13)

Figura 12: Primeiras colônias visíveis



Por conta dos estudos e pesquisas de base, nas placas com aditivos não haveria crescimento microbiano, porém, no terceiro registro notou-se algumas UFC's nas placas com adição de nanopartícula (Figura 13). Na primeira amostra com volume de 0,5mL havia apenas uma UFC, mas a mesma era muito maior do que todas as demais amostras de nanopartícula. Na amostra de 1mL, haviam três colônias pequenas e na amostra 1,5mL havia apenas uma colônia. Analisando visualmente a quantidade de fungo em cada uma das três placas percebeu-se que a quantidade de fungo diminuía conforme o volume aumentava.

Figura 13: Quantidade de UFC's nas amostras contendo nanopartícula de prata

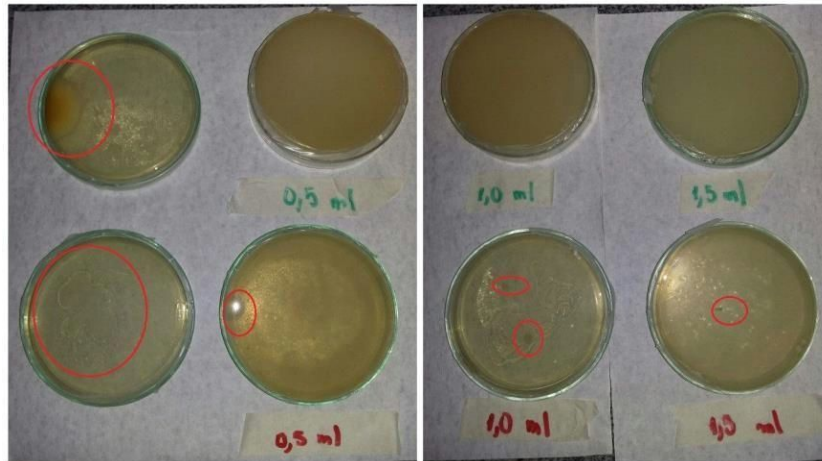


A nanopartícula não evitou que os fungos crescem na placa, mas dificultou e inibiu esse crescimento. Por se tratar de uma substância tóxica, descartou-se a possibilidade da solução de nanopartícula conter fungos, pois os mesmos não resistiriam na placa.

4.2.1 Terebintina

Em todas as imagens registradas a Terebintina não apresentou nenhuma UFC visível a olho nu, ao contrário das outras placas. Nas três concentrações não houve crescimento algum (Figura 14).

Figura 14: Ausência de UFC's nas placas com adição de terebintina



Nota-se o crescimento do fungo na amostra de prova bem como nas com nanopartículas em seus diferentes volumes, já na terebintina não é visível nenhuma formação de UFC's nem a presença de bolor, levando assim a crer que o aditivo aplicado realizou a função proposta

5. Considerações Finais

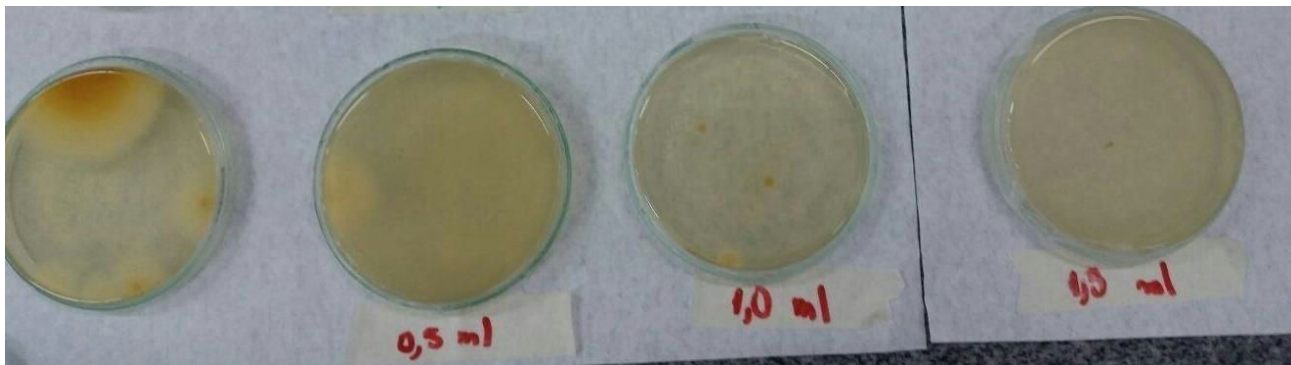
A pesquisa tinha como objetivo analisar a eficiência de dois aditivos em tintas. Devido ao tempo, não constatou-se nenhum crescimento de fungos nos quadrados de tintas tanto com aditivo quanto os sem aditivos. Além de não haver crescimento nem na tinta de prova e ao redor dos quadrados pintados bem como na área próxima que foi lixada sendo possível constatar que não houve crescimento algum de fungo. O lixamento da parede era uma etapa necessária e padrão, visto que se não feito poderia ocasionar a formação de bolhas, devido a formação de gás por parte dos fungos que são seres aeróbios. (ROSA, et al.).

A escolha dos aditivos se deu pela citada eficiência dos mesmos como fungicidas

em geral. A nanopartícula de prata não apresentou a eficiência que era prevista pela literatura e as possíveis justificativas para essa ocorrência são o baixo volume de aditivo adicionado e a possível reação da nanopartícula de prata com o ágar.

A primeira hipótese é a mais plausível, pois, conforme o volume de nanopartícula era maior o crescimento era menor, como pode ser observado na Figura 22.

Figura 15: Comparação de UFC's nas placas com adição de nanopartículas de prata



Já a reação da nanopartícula com o ágar é uma hipótese pouco provável, já que os mesmos foram esterilizados e preparados conforme apresentados, porém a nanopartícula em seus diferentes volumes talvez não foram suficientes para que essa conseguisse agir e inibir totalmente o crescimento dos fungos na placa, confirmando parcialmente nossa hipótese inicial que afirmava que a tinta com adição de terebintina é mais eficiente do que a tinta com adição de nanopartículas de prata pois o aditivo não foi aplicado diretamente na tinta como era previsto no projeto.

Ao final, é possível ver que a nanopartícula funcionou como um inibidor para o crescimento do fungo, porém, descartando parcialmente a hipótese inicial de que a mesma seria um aditivo mais eficiente para a inibição dos fungos na tinta e no ágar.

É possível também constatar a inviabilidade da terebintina como um inibidor microbiológico em grandes volumes já que a mesma é tóxica e ao ser inalada pode causar dor de cabeça, distúrbios nervosos e náuseas, bem como a contaminação de rios

e lagos e conseqüentemente a poluição do solo.

6. Referências

ANGHINETTI, Izabel Cristina Barbosa. TINTAS, SUAS PROPRIEDADES E APLICAÇÕES IMOBILIÁRIAS: Diversidade de Tintas e adequação de seu uso na Construção Civil. 2012. 62 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia, Escola de Engenharia da Ufmg, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <<http://www.cecc.eng.ufmg.br/trabalhos/pg2/90.pdf>>. Acesso em: 16 fev 2016.

AZAMBUJA, Wagner. Óleos Essenciais. 2010. Disponível em: <<http://www.oleosessenciais.org/tag/mirceno/>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

BRUNET, J. L. Alergias. São Paulo, 2006, p. 119

GALHARDO, Camila Maziviero. Biocidas em preparações pigmentárias. São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2012/MBI12009.pdf>> Acesso em: 13 fev 2016.

KOLICHESKI, Mônica Beatriz. SÍNTESE DO MIRCENO A PARTIR DA ISOMERIZAÇÃO TÉRMICA DO β -PINENO. 2006. 120 f. Tese (Doutorado) -Curso de Engenharia de Processos Térmicos e Químicos, Engenharia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. Disponível em: <<http://www.pipe.ufpr.br/portal/defesas/tese/012.pdf>>. Acesso em: 23 fev 2016.

LINHARES, Sérgio; GEWINDSZNAJDER, Fernando. Biologia Hoje. São Paulo, 2009. 12^a edição. Capítulo 5, pag. 105.

MARQUARDT, André; CESCINETTO, Gabriel; VOGEL, Gustavo. Estudo da Propriedade Antifúngica da Terebintina Extraída da Goma Resina do Pinus. 2014. 14 f. Monografia

(Especialização) - Curso de Técnico em Química, Instituto Federal de Santa Catarina, Jaraguá do Sul, 2014. Disponível em: <https://attachment.fbsbx.com/file_download.php...>. Acesso em: 10 fev 2016.

MARQUES, Marcos Fabio Oliveira et al. Riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica no Morro da Pioneira, Serra da Jibóia, BA, Brasil. 2008. Disponível em: <www.scielo.br/pdf/abb/v22n4/a06v22n4.pdf>. Acesso em: 02 fev 2016.

MELO JUNIOR, Maurício Alves et al. **Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino.** 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000900030>. Acesso em: 10 fev. 2016.

MORAGAS, Washington Mendonça; SCHNEIDER, Marilena de Oliveira. BIOCIDAS: SUAS PROPRIEDADES E SEU HISTÓRICO NO BRASIL. Caminhos de Geografia, Rio Claro, p.1-40, 03 set. 2003. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/caminhosdegeografia/article/viewFile/15315/8614>>. Acesso em: 10 fev 2016.

MELO JUNIOR, Maurício Alves et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000900030>. Acesso em: 06 fev 2016.

MEZENCIO, Profa. Luciane. **MISTÉRIOS CIÊNCIA.** 2014. Disponível em: <<http://profmezencio.blogspot.com.br/>>. Acesso em: 04 fev. 2016.

ROSA, Heitor et al. OCORRÊNCIA DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM ACERVO DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

2008.

Disponível em:

<http://revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/4033/3608>>. Acesso em: 08 fev 2016.

SOUZA, Caroline Gondim et al. XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Atividade celulolítica de fungos isolados do solo do manguezal da Reserva Ecológica de Sapiroanga.

2010. Disponível em: ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11555/1/AT09055.pdf>.

Acesso em: 02 fev 2016.