

Doutoramento em Estudos do Património
ESPECIALIZAÇÃO EM MUSEOLOGIA

**PRESERVAÇÃO DE ESTRUTURAS EM MADEIRA
DE SUORTE DAS COBERTURAS DE EDIFÍCIOS
HISTÓRICOS: A RADIAÇÃO UV-C NO
CONTROLO DE COLONIZAÇÕES FÚNGICAS**

Rita de Cássia Silva Doria

D

2022



Rita de Cássia Silva Doria

**Preservação de estruturas em madeira de
suporte das coberturas de edifícios históricos:
A radiação UV-C no controlo de colonizações
fúngicas**

Tese realizada no âmbito do Programa Doutoral em Estudos do Património –
Especialização em Museologia,
orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Menino Duarte Homem
e pela Professora Doutora Maria Eugénia Ribeiro Pinto

Universidade do Porto

Faculdade de Letras

2022

Rita de Cássia Silva Doria

PRESERVAÇÃO DE ESTRUTURAS EM MADEIRA DE SUPORTE DAS COBERTURAS DE EDIFÍCIOS HISTÓRICOS: A RADIAÇÃO UV-C NO CONTROLO DE COLONIZAÇÕES FÚNGICAS

Tese realizada no âmbito do Programa Doutoral em Estudos do Património –
Especialização em Museologia,
orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Menino Duarte Homem
e pela Professora Doutora Maria Eugénia Ribeiro Pinto

Membros do Júri

Presidente:

Vogais:

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingido o alvo; quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

*Ao meu irmão Alejandro (in memoriam), aos filhos que concebi, Revecça e Hiuri,
ao filho que ganhei Hugo e aos que vieram depois, Carolina e Patrick,
o meu amor e carinho sempre*

Sumário

| | |
|--|-------|
| Declaração de honra | v |
| Agradecimentos | vi |
| Resumo e Palavras-chave..... | ix |
| Abstract & Keywords..... | xi |
| Índice de Figuras | xiii |
| Índice de Tabelas..... | xviii |
| Lista de abreviaturas e símbolos, acrónimos e siglas..... | xx |
| Introdução..... | 1 |
| Motivação e justificação | 1 |
| Objetivos | 3 |
| Estrutura do documento..... | 4 |
| Parte I - Estruturas em madeira de coberturas em edifícios históricos: Características construtivas, propriedades dos materiais, agentes de deterioração e estratégias de preservação..... | 7 |
| CAPÍTULO 1 | 8 |
| (Re)Conhecendo as estruturas em madeira de suporte a coberturas..... | 8 |
| 1.1. Caracterização construtiva e classificação..... | 9 |
| 1.1.1. Quanto à inclinação..... | 10 |
| 1.1.2. Quanto à tipologia..... | 11 |
| 1.2. Relevância das estruturas de cobertura para salvaguarda do edifício histórico e sua eficiência funcional | 17 |
| CAPÍTULO 2 | 20 |
| Natureza e características relevantes da madeira..... | 20 |
| 2.1. Composição..... | 20 |
| 2.2. Características..... | 21 |
| 2.2.1. Higroscopicidade e teor de humidade | 21 |
| 2.2.2. Anisotropia e retratibilidade | 22 |
| 2.2.3. Densidade..... | 22 |
| 2.2.4. Relação com o fogo: Resistência e reação | 23 |
| 2.2.5. Durabilidade: Resistência à biodeterioração | 23 |
| CAPÍTULO 3 | 28 |
| Deterioração da madeira: Agentes gerais e especificidade dos fungos | 28 |
| 3.1. Principais agentes gerais de deterioração | 29 |

| | |
|--|----|
| 3.1.1. Agentes ambientais..... | 29 |
| 3.1.1.1. Temperaturas altas extremas | 31 |
| 3.1.2. Agentes biológicos | 31 |
| 3.1.2.1. Insetos | 32 |
| 3.1.2.2. Microrganismos..... | 35 |
| 3.2. Os fungos e suas especificidades | 35 |
| 3.2.1. Taxonomia e características gerais | 36 |
| 3.2.2. Fungos de interesse para a deterioração da madeira, processos e evidências de atuação específicos | 39 |
| 3.2.2.1. Fungos cromogêneos e bolores | 40 |
| 3.2.2.2. Fungos de podridão..... | 43 |
| CAPÍTULO 4 | 47 |
| Estratégias tradicionais de intervenção de preservação | 47 |
| 4.1. Enquadramento..... | 47 |
| 4.2 Inspeção e manutenção | 51 |
| 4.2.1. Recursos para meios auxiliares em inspeções | 54 |
| 4.3. Produtos preservantes e métodos de aplicação | 55 |
| 4.3.1. Preservantes aquosos tradicionais..... | 56 |
| 4.3.2. Preservantes oleosos tradicionais..... | 58 |
| 4.3.3. Preservantes com solventes orgânicos tradicionais | 59 |
| 4.3.4. Preservantes naturais alternativos | 60 |
| 4.3.5. Procedimentos industriais e não industriais de aplicação | 61 |
| 4.3.6 Toxicidade e impactes ambientais | 63 |
| CAPÍTULO 5 | 65 |
| Potencial estratégia alternativa na intervenção de preservação: A radiação UV-C | 65 |
| 5.1. Princípios e campos conhecidos de aplicação: Desinfecção e esterilização..... | 67 |
| 5.2. Vantagens e limitações | 71 |
| Parte 2 – Estudo laboratorial de carácter exploratório | 75 |
| CAPÍTULO 6 | 76 |
| Contextos históricos de interesse e suporte à experimentação..... | 76 |
| 6.1. Objetivos e critérios de seleção e enquadramento ambiental geral | 76 |
| 6.1.1. Caracterização ambiental sumária..... | 77 |
| 6.2. A Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, Salvador, Brasil..... | 80 |
| 6.2.1 Sistema de cobertura | 82 |
| 6.3. A Igreja Matriz de Santo Ildefonso, Porto, Portugal | 83 |
| 6.3.1. Sistema de cobertura | 85 |

| | |
|--|-----|
| CAPÍTULO 7 | 87 |
| Amostragem..... | 87 |
| 7.1. Objetivos e critérios | 87 |
| 7.2. Material e métodos..... | 88 |
| 7.2.1. Teste preliminar | 88 |
| 7.2.2. Recolha <i>in situ</i> | 90 |
| 7.2.2.1. Identificação dos pontos de recolha | 90 |
| CAPÍTULO 8 | 95 |
| Processamento das amostras | 95 |
| 8.1. Objetivo..... | 95 |
| 8.2. Material e métodos..... | 96 |
| 8.2.1. Identificação macroscópica das madeiras de amostra | 96 |
| 8.2.2. Cultura e isolamento dos fungos presentes nas madeiras de cobertura | 97 |
| 8.3. Caracterização e conservação dos isolados fúngicos..... | 100 |
| 8.3.1. Identificação Morfológica | 100 |
| 8.3.2. Conservação das amostras..... | 102 |
| 8.3.3. Identificação molecular por PCR, sequenciação da região ITS do genoma fúngico | 103 |
| CAPÍTULO 9 | 109 |
| Ensaio com radiação UV-C..... | 109 |
| 9.1. Objetivos | 109 |
| 9.2. Material e métodos..... | 109 |
| 9.2.1. Seleção dos isolados fúngicos para os ensaios exploratórios com radiação UV-C . | 109 |
| 9.2.2. Manufatura, esterilização e montagem das UAs para ensaio | 110 |
| 9.2.3. Preparação das suspensões de esporos fúngicos | 113 |
| 9.2.4. Inoculação das UAs e incubação | 115 |
| 9.2.5. Construção da estrutura física para ensaios com UV-C | 117 |
| 9.2.6. Determinação da dosagem de radiação UV-C, tempos de irradiação (T^r) e intervalos de repouso (I^{rep})..... | 118 |
| 9.2.7. Registos fotográficos | 121 |
| 9.2.8. Limpeza | 122 |
| 9.2.9. Aplicação da radiação não-ionizante UV-C | 122 |
| 9.3. Avaliação quantitativa do efeito direto da radiação UV-C..... | 125 |
| 9.3.1. Critérios de quantificação de crescimento..... | 125 |
| 9.3.2. Análise estatística dos dados, com base nos ensaios realizados | 126 |
| 9.4. Conceito da prova: avaliação do efeito da radiação UV-C em fungo selecionado sobre UAs | 127 |

| | |
|--|-----|
| 9.4.1. Quantificação do crescimento após exposição à radiação UV-C | 128 |
| 9.4.2 Análise estatística do Conceito da prova | 132 |
| CAPÍTULO 10 | 133 |
| Resultados obtidos e discussão..... | 133 |
| 10.1. Identificação dos fungos isolados das madeiras das coberturas | 133 |
| 10.1.1. Identificação fenotípica e molecular..... | 133 |
| 10.2. Fungos selecionados para os ensaios com radiação UV-C e suas características..... | 137 |
| 10.3. Efeito da radiação UV-C no controlo dos fungos inoculados em madeira | 144 |
| 10.3.1. Condições de irradiação | 144 |
| 10.3.2. Análise estatística descritiva | 145 |
| 10.3.2.1. Ensaios com amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) inoculadas com os isolados fúngicos das madeiras de estruturas de cobertura da cidade do Porto: <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium glabrum</i> e <i>Alternaria alternata</i> | 145 |
| 10.3.2.2. Ensaios com amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) inoculadas com os isolados fúngicos das madeiras de estruturas de cobertura da cidade do Salvador: <i>Chaetomium globosum</i> , <i>Penicillium citrinum</i> e <i>Aspergillus sydowii</i> | 154 |
| 10.3.3. Análise estatística inferencial para comparação entre grupos de fungos, em Porto e Salvador | 162 |
| 10.4. Conceito da prova: resultados quantitativos do efeito da radiação UV-C sobre UAs com fungo selecionado | 174 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 179 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 183 |
| APÊNDICES | 205 |
| Apêndice 1 - Memória de cálculo: Dose de radiação UV-C..... | 205 |
| Apêndice 2 - Tabelas de imagens obtidas durante os ensaios com radiação UV-C..... | 207 |
| Apêndice 3 - Gráficos gerados pela estatística descritiva dos Irep para o T ^{ir} de 1 minuto em relação a todos os fungos analisados..... | 258 |
| Apêndice 4: Tabelas de resultados da estatística inferencial da amostra total para as avaliações dos I ^{rep} referentes aos T ^{ir} de 2 e 5 minutos dos fungos de Porto e de Salvador. | 260 |

Declaração de honra

Declaro que a presente tese é de minha autoria e não foi utilizada previamente noutro curso ou unidade curricular, desta ou de outra instituição. As referências a outros autores (afirmações, ideias, pensamentos) respeitam escrupulosamente as regras da atribuição, e encontram-se devidamente indicadas no texto e na lista de referências, bibliográficas, de acordo com as normas de referenciação. Tenho consciência de que a prática de plágio e autoplágio constitui um ilícito académico.

Porto, 27/01/2022

Rita de Cássia Silva Doria

Agradecimentos

O desenvolvimento deste projeto de doutoramento teve o contributo de várias pessoas às quais desejo manifestar o meu sincero agradecimento.

Desde logo às minhas orientadoras, Prof. Doutora Paula Cristina Menino Duarte Homem, do Departamento de Ciências e Técnicas do Património (DCTP) da Faculdade de Letras da Universidade do Porto (FLUP), e Prof. Doutora Maria Eugénia Ribeiro Pinto, do Departamento de Ciências biológicas (DCB) da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP), pela seriedade, atenção e constante disponibilidade para a orientação, bem como pelo inestimável contributo para a sua realização, com conhecimentos, acompanhamento, revisão do documento e muito incentivo.

Aos muitíssimos especiais seres que me ouviram pacientemente todo esse tempo a falar de fungos, meus pais Ernani e Zilah e filhos Revecca, Hiuri e Hugo, minha nora Carolina e meu genro Patrick por todo amor, carinho, atenção, auxílio e suporte.

Ao meu companheiro Óscar Fernando, cujo apoio e incentivo foram constantes, sempre com palavras de carinho e amor, também pelos perfeitos blocos das amostras, confeccionados com esmero e precisão.

Nada teria sido possível sem a colaboração do Laboratório de Microbiologia (LM) do DCB da FFUP, Portugal e do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LAPEM) do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Estado da Bahia, Brasil. O meu agradecimento a todos os profissionais e técnicos que tanto me auxiliaram em muitos momentos.

À professora Maria Herculana Amado pela generosidade da leitura de versão primária deste documento e pelo acolhimento carinhoso, sempre com palavras de incentivo, força e amizade. Meu especial agradecimento e respeito.

À Prof. Doutora Loise Araújo Costa, do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba (UFBP), pelo apoio durante as longas horas de ensinamentos sobre fungos, auxiliando na identificação morfológica dos isolados, pelos longos anos de amizade, boas risadas e incentivo constante.

Ao Doutor Rodrigo Guedes Lang, do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (USP) pelos cálculos de radiação UV-C, o meu agradecimento.

À Rebecca Doria de Oliveira Martins, pela companhia presencial ou virtual em todos os momentos, pelas leituras da tese, confecção de tabelas e pelos deliciosos lanchinhos com café para me manter ativa e animada. Obrigada filha, amor e gratidão.

À Sandra Senra, que conheci ao iniciar o doutoramento, pelo apoio ao longo dos anos em que estive longe da minha família, sempre com uma palavra de incentivo e carinho. Minha gratidão pela amizade que construímos.

À Prof. Doutora Maria São José Alexandre do DCB e ao Prof. Doutor Rui Alexandre Santos Lapa do Departamento de Ciências Químicas (DCQ) da FFUP, pelo apoio às minhas solicitações nos laboratórios.

Ao Prof. Doutor Francisco Hilder Magalhães e Silva do Laboratório de Palinologia do Departamento de Educação (DEDC) da Universidade do Estado da Bahia e ao Prof. Doutor Lázaro Benedito da Silva do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVIM) do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, pelos ensinamentos no campo da biologia, pela amizade e apoio.

À minha grande amiga Rosa Barauna, especialista em Conservação e Restauro de Obras de Arte, pelas longas conversas e discussões sobre a conservação do património

Agradeço a Prof. Doutora Ana Cláudia Barbosa do Instituto de Matemática e Estatística da UFBA, pelo apoio e realização da Análise Estatística.

Às amigas, Cristina Costa, Cristina Mourão, Barbara Duarte, Ana Cristina Pinto e Andrea Gouveia, da FFUP, pelos animados almoços e grande apoio.

Aos amigos da residência Campo Alegre III da UP, Daniella Basílio, Fernando Bittencourt, Cidália Gomes, Kramer, Timóteo Sumbula a minha saudade e gratidão por todos os momentos que juntos residimos e nos apoiamos estando longe de casa.

Aos colegas professores e amigos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, professores MsC. Archimedes Ribas Amazonas, Doutora Heleni Ávila, Doutora Suzane Pinho, Doutor Wellington Castelluti e a Doutora Albani Mendonça Silva pelo apoio e amizade.

À Prof. Doutora Monica Olender pela disponibilidade para a leitura inicial desta tese e pela amizade maravilhosa.

A Carine Santana, pelo incentivo e amizade.

Ao Engenheiro Gaultier Abreu pelas conversas animadas sobre luminotecnica.

À Carolina Monteiro pelo suporte às análises moleculares na FFUP.

Resumo e Palavras-chave

Os edifícios históricos enquadram diferentes tipologias e valências, marcam e distinguem paisagens culturais. As suas coberturas inclinadas, formadas por estruturas em madeira cobertas por telhas, são reflexos e símbolos identitários. Revestem-se, portanto, de elevado valor, quer patrimonial, quer funcional, pela proteção que concedem aos edifícios. Em vários contextos, tal responsabilidade estende-se aos bens culturais móveis neles acolhidos. É o caso de instituições religiosas e culturais, como museus e arquivos. Não obstante, para que se mantenham no exercício eficaz de tal função, há que assegurar a sua preservação. Como espaços, tipicamente, de difícil acesso, amiúde, a sua manutenção, preventiva e corretiva, nem sempre é assegurada. Nem todas as instituições definem e implementam rotinas de inspeção, limpeza ou reparação, o que, no extremo, poderá conduzir à necessidade da sua substituição e, em consequência, à perda de valor cultural do edifício. Também tipicamente, são espaços pouco iluminados e pouco ventilados, gerando condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos do domínio *Eukarya*, como fungos. A colonização progressiva e silenciosa das madeiras estruturais por fungos, progressiva e silenciosa, das madeiras das estruturas, constitui um risco para a sua estabilidade e, potencialmente por contaminação pela circulação do ar, para a dos materiais de suporte aos bens culturais móveis que abriguem e para a saúde dos frequentadores. O mesmo acontece quando, a existirem, as rotinas de manutenção se suportam na aplicação de produtos químicos biocidas, tipicamente de elevada toxicidade.

Perante o problema, colocou-se a hipótese do recurso à radiação UV-C como alternativa com menor impacto ambiental. Metodologicamente, assumiu-se uma revisão inicial da literatura orientada para o tipo de contexto de interesse e para sistemas de intervenção, tradicional e fazendo uso de radiação UV-C. Identificaram-se edifícios históricos com paralelos no Porto, em Portugal, e em Salvador, no Brasil. Nestes locais recolheram-se amostras de madeira infetada, para identificação do género e/ou espécie de fungos mais frequentes, e desenvolveram-se ensaios laboratoriais de carácter

exploratório objetivando aferir as condições de irradiação com UV-C, de equilíbrio entre o efeito letal sobre os microrganismos e a preservação do suporte em madeira. As espécies de fungos identificadas como mais frequentes e sujeitas aos ensaios foram *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium citrinum*, *Chaetomium globosum* e *Alternaria alternata*. Não tendo sido encontrada investigação dedicada que se constituísse como orientadora, ensaiou-se o seguinte protocolo de exposição: Radiação a 254 nm durante períodos de 1, 2 e 5 minutos e repetições entre intervalos de 5 e 20 minutos.

Uma análise descritiva forneceu as variações percentuais relativamente ao controlo não irradiado, tendo revelado que os fungos testados mostram sensibilidade à radiação UV-C, com possibilidade de redução que varia entre 70 e 100%, sendo igual para os tempos de 2 e de 5 minutos. Os resultados obtidos para cada fungo foram tratados estatisticamente. Por análise estatística inferencial não-paramétrica, que reuniu e comparou os dados pelo teste de Kruskal-Wallis e teste *post-hoc* de Dunn, foi constatada uma diferença significativa quando comparada a contaminação fúngica do controlo e a das amostras irradiadas com qualquer dos tempos testados. Contudo, os dados não mostram a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com a aplicação dos diferentes tempos de irradiação e nem entre os diferentes intervalos de repouso propostos. Apesar do tamanho reduzido da amostra e da limitação no número de fungos testados, foi possível confirmar que, diante das condições experimentais usadas na avaliação efetuada, a utilização de UV-C aplicada sobre fungos em superfícies de madeiras é eficaz na redução do seu desenvolvimento. Diante disto, tem potencial de aplicação nos contextos de interesse, com grande possibilidade de ser associado a sistemas automáticos de iluminação, mais fáceis de conceber a partir dos resultados obtidos.

Palavras-chave: Radiação ultravioleta C; Madeira; Fungos filamentosos; Coberturas históricas; Manutenção e preservação

Abstract & Keywords

The historic buildings frame different typologies and valences, mark and distinguish cultural landscapes. Its sloping roofs, formed by wooden structures covered by tiles, are reflective and identity symbols. They are, therefore, of high value, both patrimonial and functional, due to the protection they grant to buildings. In several contexts, this responsibility extends to the movable cultural assets housed in them. This is the case for religious and cultural institutions, such as museums and archives. However, for them to remain in the effective exercise of this function, it is necessary to ensure their preservation. As spaces are typically difficult to access, their preventive and corrective maintenance is not always guaranteed. Not all institutions define and implement inspection, cleaning or repair routines, which, in an extreme situation, may lead to a necessary replacement and, consequently, the loss of building cultural value. Typically, those spaces are poorly lit and badly ventilated, generating favorable environmental conditions for the development of microorganisms of the *Eukarya* domain, such as fungi. The progressive and silent colonization by fungi on wood structures poses a risk to their stability and, potentially by contamination by air circulation, to the materials supporting the movable cultural goods and to the health of visitors. The same happens when maintenance routines, if they exist, are supported by the application of biocidal chemicals, typically of high toxicity.

Facing the targeted problem, the hypothesis of using UV-C radiation was raised as an alternative with less environmental impact. Methodologically, we assumed an initial literature review oriented to the type of context of interest and to intervention systems, traditional, and using UV-C radiation. Historical buildings were identified with parallels in Porto, Portugal, and Salvador, Brazil. Samples of infected wood were collected from those places to identify the most frequent genus and/or species of fungi, and laboratory tests of an exploratory nature were carried out aiming at checking the conditions of irradiation with UV-C, reaching a balance between the lethal effect on microorganisms and preservation of the wooden support. The fungal species identified

as the most frequent and subjected to the tests were *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium citrinum*, *Chaetomium globosum* and *Alternaria alternata*. As no dedicated research was found to act as a guide, the following exposure protocol was tested: Radiation at 254 nm for periods of 1, 2 and 5 minutes and repetitions between intervals of 5 and 20 minutes.

A descriptive analysis provided the percentage variations in relation to the non-irradiated control, revealing that the tested fungi are sensitive to UV-C radiation, and allow a reduction that varies between 70 and 100%, being similar on the 2 and 5 minutes periods. The results obtained for each fungus were treated statistically. By non-parametric inferential statistical analysis, which gathered and compared the data through the Kruskal-Wallis test and Dunn's *post-hoc test*, a significant difference was found when comparing the control fungal contamination and samples irradiated with any of the times tested. However, the data do not show the existence of statistically significant differences between the treatments with the application of different irradiation periods, nor between the different proposed rest intervals. Despite the small size of the sample and the limitation in the number of fungi tested, it was possible to confirm that, under the experimental conditions used for the type of evaluation performed, the use of UV-C applied to fungi on wood surfaces is effective in reducing their development. Given those facts, it has potential for application in contexts of interest, and can be likely associated with automatic lighting systems, which are easier to conceive from the results obtained.

Keywords: Ultraviolet C radiation; Wood; Filamentous fungi; Historical coverage; Maintenance and preservation

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1: Número de vertentes e formatos mais comumente adotados nas coberturas. Modelos gráficos selecionados a partir de Paulo e Brito (2001, p.18-19) | 10 |
| Figura 2: Estrutura rudimentar de cobertura com duas pernas (a) e com adição de escora e o contra nível (b) (Paulo & Brito, 2001, p.1) | 11 |
| Figura 3: Coberturas de tipo Tesoura de Linha Alta (a) e Tesoura de Santo André (b). © Rita Doria | 12 |
| Figura 4: Sistema de Pontalete e Mão Francesa como elementos para a sustentação das coberturas. © Rita Doria | 12 |
| Figura 5: Cobertura de tipo Tesoura ou Asna simples, constituída por linha e perna (a), e composta por linha, perna e pendural (b). © Rita Doria | 13 |
| Figura 6: Armação de cobertura em madeira tipo Tesoura Clássica ou Paladiana (a), encontrada mais raramente, e Tesoura Romana (b), mais comum a partir do século XIX. © Rita Doria | 13 |
| Figura 7: Desenho esquemático de cobertura tradicional, a partir de Moreira (2009, p.13) | 14 |
| Figura 8: Elementos metálicos agregados às sambladuras nas tesouras tradicionais (Appleton, 2011, p.356) | 14 |
| Figura 9: Corte transversal do tronco de uma folhosa. Esquema anatómico da sua estrutura, a partir de Gonzaga (2006, p.21) | 25 |
| Figura 10: Planos anatómicos da madeira e microelementos estruturais para coníferas (a) e folhosas (b), a partir de Gonzaga (2006, p. 23 e 25, respetivamente) | 26 |
| Figura 11: Colónia de fungo formadores de bolor sobre a superfície da madeira. © Rita Doria | 42 |
| Figura 12: Evidências de manchas de colónias de fungo cromogéneo na superfície da madeira. © Rita Doria | 43 |
| Figura 13: Evidências da ação dos fungos basidiomicetos (<i>Brown rot</i>) na madeira (Henriques, 2011, p.39) | 44 |
| Figura 14: Evidências da ação de fungos ascomicetos e basidiomicetos (<i>White rot</i>) (Henriques, 2011, p.39) | 45 |
| Figura 15: Evidências da ação de fungos ascomicetos na madeira (<i>Soft rot</i>), (Henriques, 2011, p.38) | 46 |
| Figura 16: Espectro eletromagnético com destaque para o intervalo da radiação na faixa do ultravioleta (Lanza, 2016, p.1) | 65 |
| Figura 17: Espectro da radiação UV, salientando a banda de 254 nm de radiação produzido por uma lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão (Lucas, 2003, p. 333) | 69 |

| | |
|---|-----|
| Figura 18: Rutura das pontes de hidrogénio em cadeia de ADN após ser submetido a radiação UV-C, adaptado de Allen (2001, p.1) | 70 |
| Figura 19: Localização da cidade de Salvador no estado da Bahia (IBGE, 2019) | 77 |
| Figura 20: Temperaturas máxima e mínima médias anuais em Salvador (Weather Spark, 2018) | 78 |
| Figura 21: Humidade relativa média anual em Salvador (Weather Spark, 2018) | 78 |
| Figura 22: Localização da cidade do Porto, modificado a partir de Maps Portugal | 79 |
| Figura 23: Temperaturas máxima (linha vermelha) e mínima (linha azul) médias anuais no Porto (Weather Spark, 2018) | 79 |
| Figura 24: Humidade relativa média anual no Porto (Weather Spark, 2018) | 80 |
| Figura 25: Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia em Salvador, Bahia, Brasil. © Rita Doria | 81 |
| Figura 26: Localização geográfica da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia, em Salvador (adaptado de Cidade-Brasil, 2018) | 82 |
| Figura 27: Estrutura de cobertura da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia: (a) Vista aérea (Google Maps); (b) e (c) Croquis em vista lateral e frontal da estrutura (Arquivo do IPHAN); (d) Interior. © Rita Doria | 83 |
| Figura 28: Igreja de Santo Ildefonso no Porto. © Rita Doria | 84 |
| Figura 29: Localização geográfica da Igreja de Santo Ildefonso no Porto (Michelin, 2020) | 85 |
| Figura 30: Estrutura de cobertura da Igreja de Santo Ildefonso: (a) Vista aérea (Google Maps); (b) Croqui em vista lateral e frontal da estrutura (Cadastro fornecido pelo arquiteto Joaquim Coimbra Soares da Silva); (c) Interior. © Rita Doria | 86 |
| Figura 31: Madeira de sacrifício com indicações, a vermelho, dos pontos onde foram feitas as incisões para recolha do material. © Rita Doria | 89 |
| Figura 32: Dimensões aproximadas do material a recolher como amostra. © Rita Doria | 89 |
| Figura 33: Desenho esquemático da estrutura de cobertura em madeira da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia, indicando os pontos de recolha A, B, C, D, E e F com os respetivos quadrantes de localização e nível de iluminância. © Rita Doria... .. | 92 |
| Figura 34: Desenho esquemático da estrutura de cobertura em madeira da Igreja de Santo Ildefonso, indicando os pontos de recolha A, B, C, D, E e F com os respetivos quadrantes de localização e nível de iluminância. © Rita Doria | 93 |
| Figura 35: <i>Kit</i> com materiais esterilizados para recolha das amostras. © Rita Doria | 94 |
| Figura 36: Procedimento de recolha da amostra de madeira. © Rita Doria | 94 |
| Figura 37: Placa de Petri contendo fragmentos da amostra. © Rita Doria..... | 98 |
| Figura 38: Culturas puras (a) e tubos com os fungos preservados em <i>Castellani</i> (b). © Rita Doria..... | 102 |
| Figura 39: Unidades Amostrais com dimensões aproximadas. © Rita Doria | 110 |
| Figura 40: Teste de esterilidade da unidade amostral. © Rita Doria..... | 111 |

| | |
|---|-----|
| Figura 41: Grelhas de aço. © Rita Doria | 112 |
| Figura 42: Placa de Petri montada com grelhas (a) e unidade amostral sobre as grelhas (b). © Rita Doria..... | 112 |
| Figura 43: Câmara de Neubauer e gradeamento em linhas perpendiculares (Mongelo, 2012, pp. 21-22) | 114 |
| Figura 44: Distribuição das unidades amostrais (UAs) por exposição: UAs = número de amostras usadas para cada fungo sujeito a ensaio | 115 |
| Figura 45: Imersão das unidades amostrais (UAs) em suspensão de esporos. © Rita Doria..... | 116 |
| Figura 46: Estufa microbiológica com as unidades amostrais nas caixas. © Rita Doria..... | 117 |
| Figura 47: Desenho esquemático da câmara de ensaio e respetivas dimensões. © Rita Doria | 118 |
| Figura 48: Montagem esquemática do processo de irradiação sobre a unidade amostral (UA). © Rita Doria | 120 |
| Figura 49: Indicação e dimensão da área amostral fotografada. © Rita Doria | 121 |
| Figura 50: Câmara de ensaio para irradiação com UV-C. © Rita Doria | 124 |
| Figura 51: Esquema de ensaio de amostra para contagem de CFU/ml 1 hora após inoculação. (T=1h). UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controlo positivo. © Rita Doria | 129 |
| Figura 52: Esquema de ensaio de amostra para contagem de CFU/ml 24 hora após inoculação. (T=24h). UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controlo positivo. © Rita Doria | 130 |
| Figura 53: Esquema de ensaio de amostra para contagem de CFU/ml 10 dias após inoculação. UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controlo positivo. © Rita Doria | 130 |
| Figura 54: Esquema de ensaio de amostra para contagem de CFU/ml 10 dias após inoculação antes da irradiação + 10 dias de incubação após irradiação. UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controlo positivo. © Rita Doria | 131 |
| Figura 55: <i>Aspergillus fumigatus</i> (macroscopia e microscopia). © Rita Doria..... | 140 |
| Figura 56: <i>Penicillium glabrum</i> (macroscopia e microscopia). © Rita Doria..... | 141 |
| Figura 57: <i>Alternaria alternata</i> (macroscopia e microscopia). © Rita Doria..... | 143 |
| Figura 58: <i>Chaetomium globosum</i> (macroscopia e microscopia), (Faia, 2011)..... | 144 |
| Figura 59: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T ^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> para Porto..... | 146 |
| Figura 60: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I ^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> para Porto. T ^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 147 |

| | |
|--|-----|
| Figura 61: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 148 |
| Figura 62: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Penicillium glabrum</i> para Porto..... | 149 |
| Figura 63: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Penicillium glabrum</i> para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 150 |
| Figura 64: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Penicillium glabrum</i> para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 151 |
| Figura 65: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Alternaria alternata</i> para Porto..... | 152 |
| Figura 66: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Alternaria alternata</i> para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 153 |
| Figura 67: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (<i>Abies</i>) infetadas pelo fungo <i>Alternaria alternata</i> para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 154 |
| Figura 68: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Penicillium citrinum</i> para Salvador..... | 155 |
| Figura 69: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Penicillium citrinum</i> para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 156 |
| Figura 70: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) | |

| | |
|---|-----|
| infetadas pelo fungo <i>Penicillium citrinum</i> para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 157 |
| Figura 71: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas pela exposição à radiação UV-C (T^{ir}) no tempo de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus sydowii</i> para Salvador..... | 158 |
| Figura 72: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 1 minuto, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus sydowii</i> para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 159 |
| Figura 73: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus sydowii</i> para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 160 |
| Figura 74: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (<i>Manilkara</i>) infetadas pelo fungo <i>Aspergillus sydowii</i> para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos..... | 161 |
| Figura 75: Redução do número de UFC/ml com o fungo <i>Penicillium citrinum</i> após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (1 hora após inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos..... | 175 |
| Figura 76: Redução do número de UFC/ml com o fungo <i>Penicillium citrinum</i> após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (24 horas após inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos..... | 176 |
| Figura 77: Redução do número de UFC/ml com o fungo <i>Penicillium citrinum</i> após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (10 dias de inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos..... | 176 |
| Figura 78: Redução do número de UFC/ml com o fungo <i>Penicillium citrinum</i> após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (10 dias de inoculação antes da irradiação + 10 dias de incubação após irradiação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos..... | 177 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|-----|
| Tabela 1: Características de algumas espécies arbóreas de folhosas e resinosas (A partir de Berni, Bolza & Christensen, 1979; Chudnoff, 1984; Lepage, 1989; IBAMA, 1997; Santos, J. A., 2015) | 16 |
| Tabela 2: Percentagem média das substâncias macromoleculares, em folhosas e resinosas, especificamente nas coníferas (Adaptado de Klock, Muñiz, Hernandez & Andrade, 2005) | 21 |
| Tabela 3: Vantagens e limitações da utilização das madeiras (Adaptada de Araújo, 2016) | 28 |
| Tabela 4: Fatores e condições que influenciam o desenvolvimento dos fungos (A partir de Sedlbauer, 2001, p.164) | 39 |
| Tabela 5: Procedimentos essenciais à inspeção e manutenção de estruturas de cobertura (Adaptado e modificado de La Pastina Filho, 2005) | 51 |
| Tabela 6: Requisitos aplicáveis aos produtos para preservação de madeiras (Adaptado de Lebow & Anthony, 2012) | 56 |
| Tabela 7: Produtos preservantes aquosos tradicionais mais comuns e características selecionadas (Adaptado de Silva, 2007) | 57 |
| Tabela 8: Produtos preservantes oleosos tradicionais mais comuns e características selecionadas (Adaptada de Jankowsky, 1986 e Silva, 2007) | 58 |
| Tabela 9: Produtos preservantes com solventes orgânicos tradicionais mais comuns e características selecionadas (Adaptada de Silva, 2007) | 60 |
| Tabela 10: Bandas primárias da região ultravioleta e suas características (Adaptado de Batistuzzo, Itaya & Eto, 2006) | 66 |
| Tabela 11: Referência de identificação das amostras | 91 |
| Tabela 12: Composição do meio de cultura <i>Malt Extract Agar</i> (Adaptado de Merck [®] Microbiology Manual, 2010) | 97 |
| Tabela 13: Identificação alfanumérica das unidades amostrais processadas para Salvador e Porto | 99 |
| Tabela 14: Composição do meio de cultura <i>Sabouraud dextrose agar</i> (<i>Technical Sheet Biolife, Itália</i>) | 104 |
| Tabela 15: Protocolo para extração de ADN | 105 |
| Tabela 16: Reagentes utilizados na extração do ADN | 106 |
| Tabela 17: Concentração dos reagentes utilizados na reação de PCR | 106 |
| Tabela 18: Composição da mistura reacional para cada <i>primer</i> | 108 |
| Tabela 19: Composição do meio de cultura <i>Sabouraud dextrose broth</i> | 111 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 20: Composição do meio de cultura <i>Potato dextrose agar</i> (Technical data sheet Biokar Diagnostics, France) | 113 |
| Tabela 21: Especificações técnicas das lâmpadas germicidas Philips UV-C TUV G8 T5 | 118 |
| Tabela 22: Grupo com 9 unidades amostrais (UAs) sujeito a ensaio com ciclos de irradiação tomando em consideração o tempo de exposição, separados por um período de repouso © Rita Doria | 120 |
| Tabela 23: Investigação usada como referência para valores de tempo de irradiação (T^{ir}) com radiação UV-C. © Rita Doria | 123 |
| Tabela 24: Fungos identificados por biologia molecular, amostras do Porto..... | 134 |
| Tabela 25: Fungos identificados por biologia molecular, amostras de Salvador..... | 135 |
| Tabela 26: Fungos selecionados para o ensaio com UV-C..... | 137 |
| Tabela 27: Doses de radiação ultravioleta C (UV-C) aplicadas nos ensaios..... | 144 |
| Tabela 28: Médias das áreas contaminadas e respetivas reduções de crescimento (%) em comparação com o controlo (100%) e em função do tipo de fungo e do tempo de irradiação em minutos (n=3)..... | 162 |
| Tabela 29: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, segundo os tempos de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i)..... | 163 |
| Tabela 30: Caracterização da amostra total segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) na cidade do Porto..... | 164 |
| Tabela 31: Caracterização da amostra total segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) na cidade de Salvador..... | 164 |
| Tabela 32: Mediana de percentual fúngico segundo o T^{ir} sem intervalo (s/i) de acordo com cada espécie de fungo analisado..... | 165 |
| Tabela 33: Caracterização segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) para a espécie <i>Alternaria alternata</i> | 165 |
| Tabela 34: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 1 minuto..... | 166 |
| Tabela 35: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 2 minutos..... | 167 |
| Tabela 36: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 5 minutos..... | 167 |
| Tabela 37: Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 1 minuto para os fungos do Porto..... | 168 |
| Tabela 38: Caracterização da amostra total segundo o intervalo entre as irradiações de 1 minuto para os fungos de Salvador..... | 168 |

Lista de abreviaturas e símbolos, acrónimos e siglas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ACA - Arseniato de cobre amoniacal

AND - Ácido Desoxirribonucleico

AIC - *American Institute for the Conservation of Historic And Artistic Works*

APTI - *Association for Preservation Technology International*

CCA - Arseniato de cobre cromatado

CCB - Borato de cobre cromatado

CCDB - *Canadian Center for DNA Barcoding*

CCMB - Coleção de Cultura de Microrganismos da Bahia

CLSI - *The Clinical & Laboratory Standards Institute*

cm - Centímetro

CTO - *Crude Tall Oil*

CZC - Cloreto de zinco cromatado

DNA – *DeoxyriboNucleic Acid*

DRCN - Direção da Regional de Cultura do Norte

E_e - Irradiância

EL - Lâmpadas de excimer

EN – Norma Européia

et al – e outros (Expressão latina)

FDA - Administração de Alimentos e Medicamentos

FFUP - Faculdade de Farmácia de Universidade do Porto

FLUP – Faculdade de Letras do Porto

g – Grama

g/L – Grama por litro

h - Hora

HR – Humidade Relativa

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICOM-CC - *International Council of Museums - Committee for Conservation*

ICOM – Conselho Internacional de Museus

ICOMOS - Conselho Internacional dos Monumentos e Sítios

IIP - Imóvel de Interesse Público

IPAC - Instituto do Patrimônio Artístico e Cultural

IPHAN - Serviço de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional

In situ – no lugar (Expressão latina)

I^{rep} – Intervalo de repouso

J.m² – Joule por metro quadrado

ITS - *Internal Transcribed Spacer*

KIT – jogo de elementos ou materiais agrupados

Km – Kilometro

KJ.m² – Kilo joule por metro quadrado

LAPEM - Laboratório de Pesquisa em Microbiologia

LAVIM - Laboratório de Anatomia Vegetal e Identificação de Madeiras

LED - Díodos emissores de luz

LO - *Light Oil*

LPM - Lâmpadas de mercúrio de baixa pressão

m - Metro

MEA – Extrato de Agar malte

min – Minuto

ml - Mililitro

mm - Milímetro

MPM - Lâmpadas de mercúrio de média pressão

MVOCs - *Microbial Volatile Organic Compounds*

NCBI - Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia

n^o – Número

nm - Nanómetro

OE – Óleo Ejetor

OIT - Organização Internacional do Trabalho

p - Probabilidade

PCR - Reação em cadeia da polimerase

PDA - *Potato dextrose agar*

pH – Potencial hidrogeniônico

PSF - Ponto de Saturação das Fibras

PL - Lâmpadas pulsadas

PS - Ponto Seco

PWB - *Protein Wash Buffer*

s - Segundos

SAD - Distribuição de Abundância de Espécies

SDA - *Sabouraud Dextrose Agar*

SDB - *Sabouraud dextrose broth*

SDT – Teste semi-destrutivo

SPAB - Sociedade para a Proteção de Edifícios Antigos

T - Temperatura

TBP - Tribromofenol

TBTO - Óxido de estanho tributílico

T^{ir} – Tempo de irradiação

UAs - Unidades Amostrais

UEFS - Universidade Estadual de Feira de Santana

UFBA - Universidade Federal da Bahia

UFC – Unidade Formado de Colónias

UNESCO - Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura

USA – United States of America

UV-A - Ultravioleta A

UV-B - Ultravioleta B

UV-C - Ultravioleta C

UVF – Ultravioleta de fluorescência

UVR – Ultravioleta de refletância

WB - *Wash Buffer*

WHO - *World Health Organization*

W.m⁻² – Watt por metro quadrado

% - Percentagem

°C – Graus Celsius

µm – Micrómetro

µL – Microlitro

© - Direito autoral

< - Menor que

> - Maior que

Motivação e justificação

A investigação que aqui se partilha ganha contornos a partir de questões que foram surgindo durante a inspeção às condições de resistência mecânica e de deterioração de madeiras, pela ação de fungos, cujos resultados foram apresentados no documento intitulado “Avaliação biológica e mecânica por ataque de fungos e identificação taxonómica nas madeiras de construção da Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, Salvador – Bahia” (Doria, 2005).

As questões relacionam-se com as dificuldades que a preservação das estruturas em madeira que suportam as coberturas dos edifícios históricos suscita, uma vez que são muito pesadas e não permitem o desmonte, para serem submetidas a intervenções de manutenção preventiva e corretiva. Tais intervenções justificam-se pela natureza orgânica da madeira e pela sua inerente vulnerabilidade aos agentes ambientais e aos biológicos, aqui com especial interesse pelos fungos, que se desenvolvem lenta, mas continuamente e com sérios efeitos de dano e de fragilização estrutural.

Tanto as coberturas tradicionais dos edifícios históricos como as técnicas usadas na sua construção e conhecimento associado, são testemunhos valiosos de um legado cultural a ser preservado, para além de se revestirem de crucial importância para o bom funcionamento da estrutura do imóvel e para a sustentabilidade dos Planos de Conservação Preventiva dos museus neles instalados.

Face ao crescente destaque que tem sido dado à recuperação e reabilitação de inúmeros exemplares arquitetónicos de relevância histórica que chegaram até à atualidade, é imperativo que as suas coberturas sejam protegidas e preservem, ao máximo possível, a integridade das estruturas de sustentação que conferem estabilidade e segurança a todo o conjunto construtivo, pelo que é relevante tomar

providências para garantir a sua durabilidade e longevidade, definindo e implementando planos adequados de manutenção preventiva e corretiva.

As investigações relacionadas com os processos de deterioração de madeiras têm resultado em relevantes publicações, como as de Brazolin (1997), Larsen e Marstein (2000), McGill et al. (2007), Esteves e Pereira (2009), Appleton (2011), Sousa, Branco e Lourenço (2014) e Parma e Icimoto (2018), que abordam temas como os fatores bióticos e abióticos na degradação, ecologia e uso de agrotóxicos na modificação da madeira e o seu tratamento para fins comerciais.

De facto, com a finalidade de aumentar a vida útil das madeiras das estruturas que sustentam as coberturas, são tradicionalmente empregues preservantes químicos para as proteger da ação de (micro)organismos que delas se alimentam, como é o caso dos insetos e dos fungos, sendo apenas estes o foco desta investigação. A eficácia do efeito biocida de tais produtos é reconhecida. Porém, considerando-se a sua natureza, como por exemplo a do arseniato de cobre cromatado (CCA) e do borato de cobre cromatado (CCB) comumente usados (Bossardi & Barreiros, 2011), verificam-se riscos para o meio-ambiente e para a saúde dos profissionais que aplicam os produtos e, dos utilizadores dos edifícios e para a estabilidade química de materiais de suporte às coleções existentes nos museus neles instalados (Homem, 2014).

É pela utilização recorrente de produtos poluentes e com elevada toxicidade para inibição da biodeterioração da madeira que se identifica a necessidade de se investigarem e desenvolverem processos novos e mais amigos do meio ambiente, como métodos alternativos. Nesse âmbito, ganharam destaque os estudos direcionados para os efeitos da incidência da radiação ultravioleta (UV) em madeiras, apurando os seus limites de penetração nesse material e os efeitos nocivos que pode ocasionar na sua superfície. Desses estudos, destacam-se os efetuados por Hon e Chang (1984), Cavalcante (1986), Kataoka, Kiguchi, Williams e Evans (2007), Lima, Silva, González, Pereira e Costa (2011), Martins, Santos, González e Camargos (2011), Acevedo, Bustos, Lasserre e Gacitua (2013), Lemos (2016) e Castro e Guimarães (2018).

A radiação UV é considerada um recurso não residual e atóxico e a sua eficiência em inibir o desenvolvimento de fungos é comprovada em processos de esterilização e higienização em superfícies de diferentes naturezas (Chang, Hon & Feist, 1982; Willhoft, 1993; Cavicchioli & Gutz, 2003; Guerreiro-Beltran & Barbosa-Cánovas, 2004; Cardoso, 2007; Alexandre, Faria & Cardoso, 2008; Guedes, Novello, Mendes & Cristianini, 2009; Lima *et al.*, 2011; Terao, Cartaxo, Konda & Santos, 2019; Silva, 2017; Braga, 2018); Terao, Cartaxo, Konda & Santos, 2019), constituindo uma potencial solução.

Não obstante, o recurso ainda é visto como um agente nocivo para os acervos patrimoniais, especialmente para os que possuem revestimentos polícromos, o que não se aplica ao contexto de interesse para este estudo. Entretanto, cabe ressaltar que o conceito de nocividade está relacionado com a energia da radiação e com o tempo de incidência a que o material é exposto, isto é, com a dose de exposição.

Atendendo às potencialidades da radiação UV, observa-se que os estudos procuram ampliar o seu uso para atender às necessidades de investigação e conservação de acervos culturais móveis. Porém, ainda não são conhecidos trabalhos com radiação UV, especialmente a UV-C, conhecida como germicida, no que se refere à aplicabilidade em superfícies de madeiras estruturais de serviço, *in situ*, para inibir ou controlar o desenvolvimento de fungos.

Objetivos

Portanto, o objetivo geral da investigação é caracterizar, por agora apenas em contexto experimental de laboratório, os efeitos da radiação UV-C emitida por fonte artificial, a partir de diferentes tempos de irradiação e repetições (intervalos) sobre superfícies de madeiras contaminadas por fungos filamentosos, no sentido de apurar as potencialidades, o interesse e as condições de aplicação no setor cultural, mais propriamente no da manutenção das coberturas de madeira, como alternativa ao uso tradicional e rotineiro de substâncias tóxicas e poluentes, contribuindo para a maior sustentabilidade dos Planos de Conservação Preventiva dos museus instalados em

edifícios históricos com esse tipo de cobertura. Para maior amplitude em termos de contributo, e pelas relações históricas entre Portugal e Brasil, consideram-se ambas as realidades. Assim, mais especificamente, pretende-se:

- Caracterizar o tipo de cobertura em causa, quer do ponto de vista das técnicas de construção quer da sua natureza, comportamento e vulnerabilidades;
- Identificar as espécies fúngicas envolvidas na colonização das madeiras de estruturas que dão suporte às coberturas de edifícios históricos mais comuns em Portugal e no Brasil;
- Apurar, em ambiente de laboratório e com exploratório, o efeito e a capacidade da radiação UV-C no controlo e redução da carga fúngica sobre superfícies de amostras representativas das madeiras mais comuns na construção do tipo de cobertura em foco;
- Apurar as condições mais eficientes de aplicação da radiação UV-C, em termos de comprimento de onda e tempo de exposição.

Estrutura do documento

Este documento está estruturado em duas grandes secções. Para a Parte I, reservam-se as questões relacionadas com a importância das estruturas em madeira de coberturas em edifícios históricos, apresentando as suas características construtivas, propriedades materiais, agentes de deterioração e estratégias de preservação. Na Parte II, dedicada ao estudo laboratorial que se desenvolveu com carácter exploratório, apresentam-se os contextos reais que lhes serviram de suporte, o processo metodológico assumido, bem como os resultados obtidos, discutindo-os.

Assim, na Parte I, incluem-se os primeiros cinco capítulos. No Capítulo 1, apresenta-se uma perspetiva geral relativa à importância da manutenção para a preservação das estruturas em madeira que suportam as coberturas dos edifícios históricos, caracterizando as tipologias e aspetos construtivos dessas estruturas e destacando a sua relevância para a salvaguarda do edifício histórico. O Capítulo 2 foca-

se, de forma sumária e essencial ao interesse do estudo, na natureza e características da madeira. Já no Capítulo 3, onde se discorre sobre os processos de deterioração da madeira, destaca-se a atividade dos fungos, apresenta-se a sua classificação taxonómica e indicam-se os seus efeitos nos materiais. É no Capítulo 4 que se abordam as estratégias tradicionais de intervenção de preservação. Apresenta-se um breve histórico relativo aos manifestos e preocupações para valorização e preservação dos edifícios históricos, à luz das Cartas Patrimoniais de Atenas (1931), de Veneza (1964), de New Orleans (1992) e do Documento de Nara (ICOMOS, 1994) e dos princípios em que se fundamentam as suas recomendações. Em sequência, apresentam-se as principais metodologias de inspeção e manutenção, equipamentos e produtos que foram empregues e os atualmente utilizados para a preservação dessas construções, ressaltando os problemas relacionados com os impactos ambientais e na saúde, em função da sua toxicidade. A radiação UV-C como potencial estratégia alternativa para intervenção de preservação é considerada no Capítulo 5. Nesse contexto, apresentam-se as suas características eletromagnéticas e classificação, indicam-se as fontes artificiais de geração de UV-C e como esta atua sobre os microrganismos. Descrevem-se também os princípios e campos conhecidos de aplicação para desinfeção e esterilização, além das vantagens e limitações de uso em diferentes materiais.

Diferentes aspetos relativos ao estudo laboratorial são explorados do Capítulo 6 ao Capítulo 10 e constituem a Parte II. O Capítulo 6 é dedicado à apresentação dos contextos reais históricos e patrimoniais que lhes serviram de ponto de partida. Fez-se o seu enquadramento e caracterização. O Capítulo 7 foca-se na amostragem. Apresentam-se as etapas desenvolvidas em ensaio preliminar, em que se definem os critérios a serem considerados no trabalho de campo para estabelecer os pontos de recolha nas estruturas de cobertura e qual o melhor procedimento para o realizar *in situ*. Identifica-se, ainda, o material para posterior processamento. É no Capítulo 8 que se descreve o procedimento para o processamento do universo das amostras, recolha, isolamento e obtenção dos fungos, seleção das espécies de interesse e a caracterização dos isolados, por morfologia e técnica molecular, procedendo à identificação

taxonómica de género e espécie. No Capítulo 9 apresentam-se os ensaios de aplicação de radiação UV-C. Explicam-se detalhadamente os procedimentos prévios, quais os fungos a serem irradiados e como se deu o processo de irradiação nas superfícies das amostras de madeira. Por último, no Capítulo 10, apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos: identificação fenotípica e molecular dos fungos isolados nas amostras das coberturas; fungos selecionados para tratamento; tratamento com UV-C de amostras inoculadas e análises estatística dos resultados e, estudo com o fungo *Penicillium citrinum* como conceito da prova.

No final, o documento inclui secção dedicada às Considerações Finais, a que se segue a das Referências de suporte, terminando com uma reservada a Apêndices, incluindo: Apêndice 1, para mais detalhada explicação relativa ao cálculo da dose de radiação UV-C; Apêndice 2, onde se agregam as imagens capturadas durante os ensaios com radiação UV-C; Apêndice 3, com os gráficos gerados para a estatística descritiva dos I^{rep} para o T^{ir} de 1 minuto em relação a todos os fungos analisados; e o Apêndice 4, com as Tabelas de resultados da estatística inferencial da amostra total para as avaliações dos I^{rep} referentes aos T^{ir} de 2 e 5 minutos dos ensaios com fungos do Porto e de Salvador.

Parte I

**Estruturas em madeira de coberturas em edifícios históricos:
Características construtivas, propriedades dos materiais,
agentes de deterioração e estratégias de preservação**

(Re)Conhecendo as estruturas em madeira de suporte a coberturas

Sendo a conservação preventiva um dos vetores de suma importância na área do património cultural, com especial interesse pelo contexto dos museus ou afins, cabe aqui discorrer sobre os fatores que afetam a preservação dos edifícios históricos, onde muitos museus se foram instalando, estando o material e as técnicas empregadas na construção das coberturas dentro do espectro de interesse dessa área. Nesse contexto, é importante que se conheçam e sejam tomadas medidas para preservação dessas estruturas, face ao gradual envelhecimento e alteração do património arquitetónico. Assim, é necessário o empenho e os esforços dos profissionais da área para manter, da forma mais íntegra e original possível, esses elementos, garantindo maior longevidade ao material constitutivo das coberturas.

Por cobertura entende-se a parte superior do edifício que recobre a estrutura construtiva. Permite a impermeabilização e o isolamento de todo o edifício e caracteriza-se por ser a componente externa mais elevada. São espaços pouco frequentados e, normalmente, de difícil acesso. Na sua construção tradicional, particularmente de tipo telhado, é utilizado um conjunto de elementos cerâmicos, as telhas, para seu revestimento (Appleton, 2011). Por baixo desse revestimento existe uma estrutura em madeira composta por uma sequência de elementos, que lhe confere sustentação e lhe atribui uma forma característica (La Pastina Filho, 2005; Moliterno, 2009). São ainda componentes alicerçadores expostos continuamente a intempéries e afetadas por condições termohigrométricas incorretas e inconstantes, o que torna a madeira vulnerável ao processo de deterioração por diversos agentes biológicos, macro e micro (Appleton, 2011).

Além de imprimir um traço inconfundível à construção, essa estrutura exerce um papel importante na sua segurança no que tange à proteção do ambiente interno face ao externo, sendo sua função principal salvaguardar os conteúdos nele abrigados e as pessoas que utilizam o edifício (Meneguetti & Carvalho, 1994), por via da minimização da ação de agentes como a luz solar incidente, chuva, vento e poluentes atmosféricos (Moliterno, 2009). Atua igualmente como um bom isolante térmico e acústico, favorecendo maior conforto aos utilizadores e melhorando os serviços que se desenvolvem no seu interior (Cardão, 1981; Guerra, Cunha, Silva & Knop, 2012). Para além dessas funções, a cobertura também é responsável por auxiliar na preservação dos componentes estéticos, existentes em grande número nas fachadas externas.

Grande parte das estruturas de cobertura que ainda se conhecem, e de que são exemplo vários edifícios nas cidades do Porto, Portugal, e de Salvador, Brasil, remonta às práticas que se desenvolveram sem o suporte de bases técnicas regulamentadoras que orientam os princípios e procedimentos nos processos de execução. Assim, os projetos construtivos mais simples foram implementados com base nas praxes rotineiras das experiências desenvolvidas no quotidiano dos executores e nos conhecimentos adquiridos com o uso dos materiais (Marconi & Lakatos, 2003; Palma, 2009). Esses conhecimentos tendiam a ser assimilados em forma de valores e transmitidos no passar das gerações, o que permitiu assegurar a construção mais elaborada de estruturas robustas e resistentes, capazes de satisfazer as exigências de segurança e a proteção necessária às coberturas e adquirindo condições para suportar a passagem do tempo com estabilidade e dignidade.

1.1. Caracterização construtiva e classificação

As estruturas apresentam distintas geometrias e tipologias, sendo importante enquadrar os seus elementos, conhecer a terminologia correspondente, que se relaciona com características como a área, a natureza e propósito da construção, os níveis de inclinação que se deseja obter, entre outros (Branco & Lourenço, 2014).

1.1.1. Quanto à inclinação

As coberturas podem exibir uma quantidade variável de vertentes (planos) com diferentes geometrias, sendo uma característica comum serem inclinados. De acordo com Appleton (2011) os planos inclinados (águas) permitem um perfeito escoamento das águas pluviais. Essa configuração inclinada dificulta a acessibilidade a esses locais, tendo sido pensadas e dimensionadas para não haver frequência de pessoas e, portanto, são consideradas pouco acessíveis (Paulo & Brito, 2001). Para melhor percepção dessas estruturas, na Figura 1 apresenta-se uma descrição sucinta dos formatos, em função das vertentes, mais comumente assumidas nas coberturas.


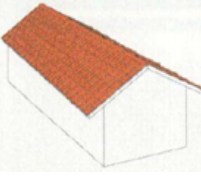
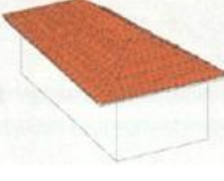
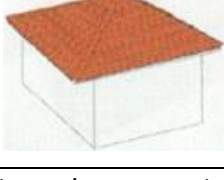
| Número de vertentes | Formato | Descrição |
|---------------------|---|---|
| De uma água |  | Cobertura inclinada formada por uma vertente de fácil execução, recobre construções de pequeno porte |
| De duas águas |  | Cobertura inclinada formada por duas vertentes, da origem à cumeeira e duas empenas (frontispício ou oitão) |
| De quatro águas |  | Cobertura inclinada formada por quatro vertentes que dão origem a quatro rinções |
| Pavilhão |  | Cobertura formada por quatro vertentes iguais a recobrir construções de planta quadrada |

Figura 1: Número de vertentes e formatos mais comumente adotados nas coberturas. Modelos gráficos selecionados a partir de Paulo e Brito (2001, p.18 - 19).

1.1.2. Quanto à tipologia

Os processos empregues para a construção e montagem das estruturas de sustentação das coberturas nos edifícios históricos derivam de um sistema rudimentar inicialmente formado por duas traves (pernas) inclinadas e fixadas na estrutura, unidas pelas extremidades superiores, assumindo um formato triangular (tesoura) (Figura 2a). Em seguida, assumem uma forma mais elaborada e passam a ter a adição de um apoio para as traves inclinadas, as escoras, e mais uma peça horizontal, o contra nível (Figura 2b), cujo resultado se apresenta como um esquema de modelagem simples, mas eficiente, obtendo um excelente resultado para o amparo de todo o sistema construtivo.

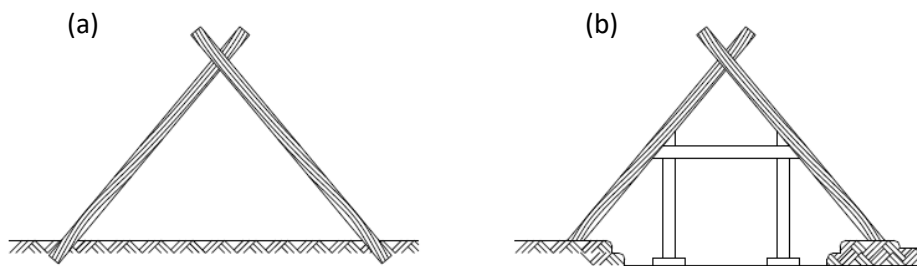


Figura 2: Estrutura rudimentar de cobertura com duas pernas (a) e com adição de escora e o contra nível (b) (Paulo & Brito, 2001, p.1).

Das variantes utilizadas para dar forma às coberturas, destaca-se o tipo conhecido por Tesoura de Linha Alta (Figura 3a) ou “canga de porco” que, de acordo com Vasconcellos (1979), foi muito comum na arquitetura tradicional. Em processo lento, mas gradual, as igrejas e residências passam a utilizar o sistema de caibro armado juntamente com um tirante incorporado para travar toda a estrutura, e, por cima, recebe as ripas, passando a ser conhecida como Tesoura de Santo André (Figura 3b) (Silva, 2013).

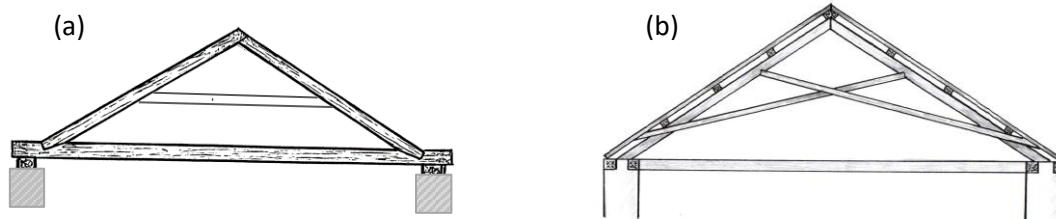


Figura 3: Coberturas de tipo Tesoura de Linha Alta (a) e Tesoura de Santo André (b). © Rita Doria.

Nas construções mais simples, e como solução para vencer e cobrir grandes vãos, adotava-se o sistema de Pontaete ou Mão Francesa (Figura 4), que servia de apoio para suportar o peso da estrutura que formava a cobertura (Appleton, 2011).

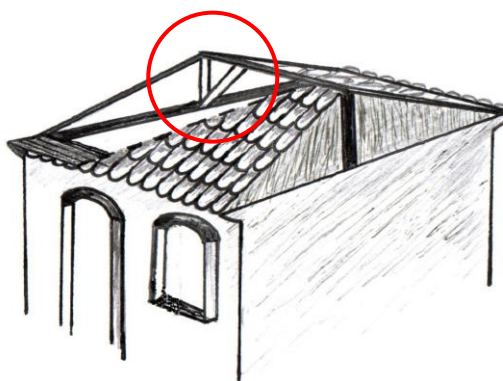


Figura 4: Sistema de Pontaete ou Mão Francesa, como elemento de sustentação das coberturas. © Rita Doria.

A evolução das técnicas impulsionou o desenvolvimento nas construções. Verificam-se variações nos sistemas construtivos e outros métodos são produzidos e incorporados aos processos já existentes, possibilitando melhores arranjos e configurações. A armação de tipo Tesoura ou Asna foi empregue como mais um elemento no sistema construtivo das coberturas. As peças inclinadas (pernas), recebem uma outra horizontal (linha), que vai unir os dois elementos e passa a existir uma estrutura simples travada em formato triangular, a qual assume a função de viga armada e pode ser complementada com um elemento vertical central (o pendural) (Figura 5).

Pode, ainda, ser complementada por elementos secundários como terças e caibros (Appleton, 2011).

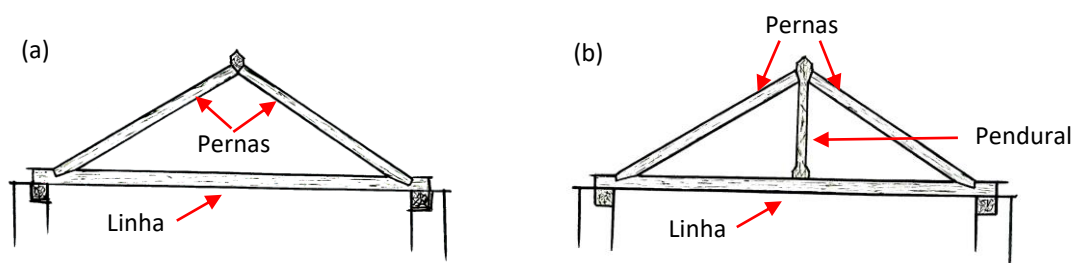


Figura 5: Cobertura de tipo Tesoura ou Asna simples, constituída por linha e pernas (a), e composta por linha, perna e pendural (b). © Rita Doria.

Outras combinações estruturais foram empregues para a sustentação das coberturas como a Tesoura Clássica e a Tesoura Romana (Figura 6) e o seu registo foi confirmado por meio dos exemplares edificados que chegaram à atualidade.

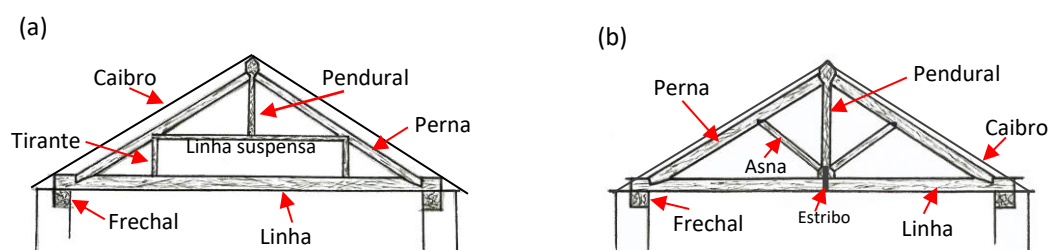


Figura 6: Armação de cobertura em madeira tipo Tesoura Clássica ou Paladiana (a), encontrada mais raramente, e Tesoura Romana (b), mais comum a partir do século XIX. © Rita Doria.

Independentemente dos avanços construtivos, as estruturas de coberturas nestes edifícios continuaram a seguir, sobretudo, os padrões conceptuais tradicionais primários para a sua elaboração, elementares e artesanais, nos quais a madeira se mantém como material predominante para a sua construção (Lopes, 2007). A montagem constitui-se por uma estrutura principal como suporte estrutural (a referida Asna ou Tesoura) e uma secundária, constituída por madres, ripas, varas e fileira, para

servir de apoio aos elementos cerâmicos, o revestimento ou telhamento (Moreira, 2009). A Figura 7 apresenta desenhos esquemáticos da montagem de uma cobertura tradicional.



Figura 7: Desenhos esquemáticos de cobertura tradicional, a partir de Moreira (2009, p.13)

Para as estruturas de cobertura garantirem os objetivos de estabilidade e segurança, que inicialmente eram conseguidos apenas com as sambladuras (encaixes para fazer as ligações e travamentos entre os elementos em madeira), agregam-se conectores capazes de proporcionar maior segurança, como peças forjadas em ferro que passaram a exercer as funções de união entre elementos, para prevenir deformações e proporcionar melhor estabilidade, resistência e segurança. De acordo com Appleton (2011), entre os componentes metálicos mais utilizados encontram-se o pé de galinha simples (a) e dobrado (b), o Tê direito e esquerdo (c), braçadeiras (d), parafuso com anilhas e porcas (e), esquadro (f) e cruzetra (g), conforme Figura 8.

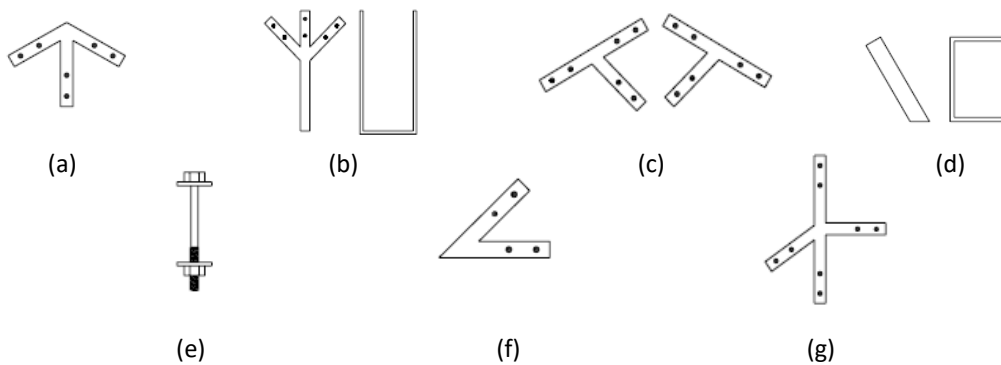


Figura 8: Elementos metálicos agregados às sambladuras nas tesouras tradicionais (Appleton, 2011, p.356).

Ainda que as técnicas usadas na construção das estruturas que sustentam as coberturas dos edifícios históricos sejam consideradas um legado patrimonial que deve ser preservado, reconhece-se que nem todas as que resistiram até à atualidade possuem as mesmas espécies de madeira com as quais foram originalmente construídas. Embora os materiais não sejam preservados, porque, parcial ou totalmente substituídos em decorrência das transformações ocorridas ao longo dos anos, preserva-se a técnica e o espírito do lugar, entendidos enquanto expressões originais do bem cultural. Portanto, constituem-se requisitos indispensáveis para atestar a sua autenticidade, reconhecer e respeitar os aspetos originais e seu valor social e cultural para a sociedade (Pereira, 2011).

Ao tornar-se um material de amplo interesse nas construções, a madeira tem sido utilizada para construir diferentes elementos nos edifícios. Conforme registos levantados por Melo e Ribeiro (2012), madeiras de fibras mais macias e leves, de menor resistência e durabilidade, têm sido empregues na produção de tábuas para soalhos, tetos, divisões, andaimes e serralharia de interiores. As mais densas, apesar de maiores dificuldades no processamento, apresentam maior resistência. Portanto, têm sido usadas nas estruturas de suporte da construção, predominantemente nas armações de cobertura dos edifícios históricos.

Em Portugal e de acordo com Branco, Santos e Cruz (2008), as madeiras mais utilizadas para a construção de estruturas de cobertura foram as de: i) Pinho bravo (*Pinus pinaster*, Ait.); e ii) Eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) especialmente nos edifícios históricos ligados à atividade mercantil; iii) Castanho (*Castanea sativa* Mill.); e iv) Carvalho (*Quercus robur* L.), principalmente nos religiosos e nas construções mais antigas. No Brasil, conforme Dias, M. H. (2011), eram preferidas as madeiras de: i) Sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth); ii) Vinhático (*Plathymenia foliosa* Benth.); iii) Ipê (*Tabebuia alba* (Cham.) Sandwith); iv) Louro (*Euplassa* spp.); v) Jequitibá (*Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze); vi) Pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Spreng); vii) Jenipapo (*Genipa americana* L.); viii) Putumuju (*Centrolobium robustum* (Vell.) Mart. ex Benth.); e ix) Maçaranduba (*Manilkara* spp.).

Observa-se que houve alguma diversidade entre espécies arbóreas dos grupos folhosas e resinosas utilizadas nas estruturas de cobertura, com predomínio das madeiras provenientes de folhosas. As espécies folhosas pertencem ao grupo das angiospérmicas, existindo no mundo cerca de cento e setenta mil espécies cuja maioria ocupa as regiões tropicais e sub-tropicais. Contudo, muitas espécies se adaptaram às regiões temperadas. As espécies resinosas são, em geral, gimnospérmicas, destacando-se as coníferas que se subdividem em várias famílias, das quais se consideram as *Pinaceae*, *Araucariaceae*, *Taxaceae*, *Cupressaceae* e *Taxodiaceae* (Raven, Evert & Eichhorn, 2001). Na Tabela 1 características naturais como resistência, vulnerabilidade, tratabilidade e durabilidade são apresentadas para algumas espécies nos dois grupos de madeiras.

Tabela 1: Características de algumas espécies arbóreas de folhosas e resinosas

| | Resistência | Vulnerabilidade | Tratabilidade (permeabilidade aos produtos de preservação) | Durabilidade natural (cerne) | |
|---------|-------------|--|---|--|----------|
| Folhosa | Maçaranduba | Moderada, a fungos e térmitas subterrâneas | Moderada, a térmitas da madeira seca Baixa, a xilófagos marinhos | Cerne impermeável às soluções hidrossolúveis | Elevada |
| | Sucupira | Elevada, a fungos e térmitas | Elevada, a xilófagos marinhos e da espécie <i>Lyctus</i> | Cerne pouco permeável às soluções, em tratamento sob pressão | Elevada |
| | Eucalipto | Moderada, a fungos e térmitas da madeira seca | Elevada, a térmitas subterrâneas | Cerne impermeável Borne permeável | Moderada |
| | Vinhático | Elevada, a insetos xilófagos sob condições adversas | ----- | Cerne pouco permeável | Elevada |
| | Ipê | Elevada, a fungos e térmitas | Elevada, a carunchos | Cerne impermeável | Elevada |
| | Castanho | Elevada, a insectos (<i>Lyctus</i> e cerambícidos) e a fungos. Baixa, a térmitas | Elevada, a carunchos | Impermeável | Elevada |

| | | | | | |
|----------|-------------------------|--|---|---|----------|
| Resinosa | Carvalho Europeu | Elevada, a fungos, a <i>Lyctus</i> e carunchos | Elevada, do alburno, a <i>Lyctus</i> e carunchos | Permeável | Elevada |
| | Faixa Europeia | Baixa, a fungos, térmitas e carunchos | Elevada, a fungos de classe 5 e carunchos | Permeável | Baixa |
| | Pinho bravo ou nacional | Baixa, a fungos e insectos | Elevada, a fungos cromogéneos e de bolor, térmitas, <i>Lyctus</i> e perfuradores marinhos | Permeável | Baixa |
| | Abeto | Moderada, a fungos | Elevada, a térmitas | Cerne impermeável Alburno, permeabilidade moderada | Baixa |
| | Cipreste | Moderada, a fungos | | Permeável | Moderada |
| | Cedro do Bucacu | Moderada, a fungos e térmitas | Elevada, do alburno, a carunchos | Cerne impermeável Alburno, permeabilidade moderada | Elevada |

Fonte: A partir de Berni, Bolza e Christensen (1979); Chudnoff (1984); Lepage (1989); IBAMA (1997); Santos (2015).

1.2. Relevância das estruturas de cobertura para salvaguarda do edifício histórico e sua eficiência funcional

É condição natural das cidades passarem por transformações que modificam as suas características e as construções existentes passam a fazer parte das novas propostas construtivas. Os avanços tecnológicos e as alterações no modo de vida das sociedades ditam escolhas e tendências estéticas e os edifícios já existentes deixam de despertar interesse e apresentar grande valor, diante das construções que passam a surgir. Muitos exemplares sobrevivem, apesar de já não preservarem as suas características estilísticas e decorativas, incluindo-se as estruturas em madeira nas coberturas que, por inerência à estrutura dos edifícios, enfrentam as mesmas imposições (Melo, 2009).

Não obstante, as alterações que se desdobram nos cenários urbanos contemporâneos, trouxeram um novo olhar relativamente ao edifício histórico e, principalmente às áreas em que estes se inserem, evidenciando a importância de preservar o seu valor patrimonial (Melo, 2009). Essas construções constituem-se como

presença viva, carregando elementos e marcas do passado, refletindo a história dos agrupamentos sociais. A possibilidade de convívio com esse passado por meio de uma nova paisagem urbana, acentua o interesse em relação aos núcleos históricos e desencadeia maiores exigências quanto à sua proteção, provocando uma procura não somente de preservação urbanística como também especulativa voltada para o comércio, turismo e fruição (Peixoto, 2003).

Diante de um contexto de grande preocupação para com o futuro desse legado, especialistas e organismos responsáveis pela preservação do património mundial uniram-se e elaboraram documentos conceituais conhecidos como Cartas Patrimoniais, contendo aspetos que sensibilizam para perspetivas e norteiam as políticas de preservação, orientando e estabelecendo princípios para as intervenções. Nessas, estão contidas diretrizes para as ações administrativas e documentais, preservação dos bens, planos de manutenção e de conservação e restauro para o património histórico, artístico e cultural, contribuindo para garantir sua proteção, questões que são mais detalhadamente abordadas no Capítulo 4.

Nos exemplares ainda existentes nas áreas históricas, é, geralmente, possível observarem-se evidências de problemas relativos à deterioração dos materiais construtivos, decorrentes tanto do envelhecimento natural como da ausência prolongada de rotinas de manutenção. Apesar de apresentarem uma aparente resistência estrutural, a deterioração lenta, mas contínua e progressiva, dos seus materiais construtivos impõe-se sobremaneira contra todos os seus elementos, principalmente nas coberturas tradicionais, cujos elementos estruturais em madeiras ficam mais vulneráveis à ação dos agentes ambientais e biológicos. A estas estruturas, para além das particularidades de contexto, que exercem influência negativa na sua integridade, crescem os problemas de absorção de água pelos vários elementos em madeiras assentes sobre as extremidades das grossas paredes, estruturas que apresentam maior facilidade em proporcionar retenção de água, o que, normalmente, desencadeia uma série de processos de deterioração de carácter sinérgico (Eaton & Hale, 1993; Tampone, 1996).

Como mencionado, as coberturas são responsáveis por intermediar as interações entre o ambiente externo e o interno e auxiliar na preservação do edifício, como um todo. Têm como funções primordiais garantir a estanqueidade, durabilidade e bom desempenho do edifício, promovendo o equilíbrio ambiental, a fim de manter os níveis de temperatura interna ajustados ao conforto térmico, evitar que ocorram infiltrações para que os níveis de humidade no interior da construção não sejam elevados e se mantenham estáveis, para além de garantir uma ventilação natural que poderá auxiliar na manutenção dessa estabilidade, na eliminação de eventuais contaminantes atmosféricos e na mitigação do risco de proliferação de microrganismos, como os fungos.

Acautelar as condições de preservação das madeiras das coberturas será contribuir para o garante das condições de conforto, salubridade e higiene das estruturas (Rato & Brito, 2003). “No caso dos museus, esse ambiente climático interno, criado através do edifício construído, é importante meio de ligação entre os objetos, as pessoas, a conservação do acervo e o bem-estar dos usuários” (Ribeiro, 2010).

Independentemente da sua tipologia, é importante que as coberturas apresentem as condições adequadas às funções que devem exercer, um bom funcionamento, desempenho e uma manutenção regular que assegure o equilíbrio dos ambientes internos. Estando o edifício com problemas estruturais, o que se encontra no seu interior também estará comprometido. Logo, se não beneficiarem de correta manutenção, as estruturas de cobertura podem enfrentar natural enfraquecimento e vir a provocar instabilidade estrutural.

Alcançar o nível de preservação desejado no ambiente interno nas construções em geral, onde se incluem os locais de cobertura nos edifícios históricos de uso corrente ou que abrigam coleções museológicas, requer práticas preventivas planeadas e sistemáticas, com intervenções direcionadas para soluções que minimizem ou neutralizem ao máximo os problemas que possam comprometer o conforto, a segurança e saúde das pessoas e acervos nos museus (Ribeiro, 2010).

Natureza e características relevantes da madeira

Ao longo do processo civilizacional, a madeira foi um material sempre presente no desenvolvimento humano, mantendo-se valorizada e utilizada em distintas aplicações, como transporte, abrigo e defesa, entre muitas outras. Possui qualidades que facilitam o seu uso e encontra-se disponível na maioria dos ambientes do globo terrestre. Embora tenha alta durabilidade, sofre alterações e desgaste em consequência da ação atmosférica, estimando-se uma perda aproximada de 0,5 cm de material a cada século (Patton, 1978). A sua natureza orgânica torna-a especialmente vulnerável ao fogo, aos agentes ambientais e biológicos. Não obstante, em função da sua constituição e estrutura, existem espécies muito resistentes que podem durar centenas de anos (Larsen & Marstein, 2000).

2.1. Composição

Os elementos químicos que compõem a parede celular do tecido vegetal são principalmente celulose, hemicelulose e lignina (ou lenhina). A celulose constitui-se como um polissacarídeo, componente polimérico em maior proporção na madeira e com elevado peso molecular. A hemicelulose, também um polissacarídeo, mais abundante nas folhosas, é o componente polimérico mais higroscópico das paredes celulares, com composição diferenciada, e atua como um ligante. Por fim a lignina, um composto fenólico formado por um sistema aromático com unidades de fenilpropano, que confere maior rigidez ao atuar na união das células e na redução da permeabilidade à água das paredes celulares, possuindo propriedades hidrofóbicas (Gonzaga, 2006; Tsoumis, 2009) e, portanto, conferindo resistência a ações mecânicas e

(micro)biológicas aos tecidos vegetais. Encontram-se também, em baixa concentração, substâncias poliméricas secundárias, os extrativos.

As madeiras provenientes de árvores folhosas, conhecidas por madeiras duras (*hardwoods*), e as de árvores resinosas, onde se incluem as coníferas, também designadas como madeiras brandas (*softwoods*), apresentam diferenças no teor dos elementos químicos constitutivos, cujos valores podem ser vistos na Tabela 2.

Tabela 2: Percentagem média das substâncias macromoleculares, em folhosas e resinosas, especificamente nas coníferas.

| Constituintes | Folhosas (%) | Coníferas (%) |
|---------------|--------------|---------------|
| Celulose | 45 ± 2% | 42 ± 2% |
| Hemicelulose | 30 ± 5% | 27 ± 2% |
| Lignina | 20 ± 4% | 28 ± 2% |
| Extrativos | 3 ± 2% | 5 ± 3% |

Fonte: Adaptado de Klock, Muñiz, Hernandez e Andrade (2005).

2.2. Caraterísticas

A madeira é um material proveniente do tronco de uma árvore morta, cujo tecido é formado, geralmente, por células ocas, alongadas e dispostas paralelamente umas às outras, que desempenham diferentes funções com importantes caraterísticas, que variam conforme a direção das suas fibras (Burger & Richter, 1991). Não se pretende aqui explorar todas as caraterísticas inerentes às madeiras, mas apenas salientar, de forma sumária, as de maior relevância e de interesse para o estudo em questão.

2.2.1. Higroscopicidade e teor de humidade

A madeira é considerada um material higroscópico, apresentando a capacidade de absorver água ou vapor de água ambiental, de forma a estabelecer um equilíbrio com o ambiente (Silva & Oliveira, 2003). O índice de higroscopia é inversamente proporcional à densidade da madeira (Pfeil, 2017).

O teor de humidade varia conforme a espécie e influencia diretamente o seu comportamento quanto à trabalhabilidade, equilíbrio dimensional, resistência mecânica e durabilidade. Corresponde à relação entre a massa de água contida no material lenhoso e a sua massa própria. Um bom indicador para aferir a taxa de água contida na madeira é o Ponto de Saturação das Fibras (PSF), que se situa entre 25% e 30%, na maioria das espécies, podendo baixar até 18% ou ficar próxima dos 40% (Cruz & Nunes, 2008; Araújo, 2016).

2.2.2. Anisotropia e retratibilidade

De acordo com Araújo (2016), a anisotropia é entendida como os diferentes comportamentos da madeira nos vários planos de orientação e está relacionada com a variação dimensional que ocorre no intervalo entre o Ponto Seco (PS), 0% de humidade, e o PSF.

A retratibilidade volumétrica da madeira expressa a variação total ocorrida na variação higroscópica, isto é, está relacionada com a variação dimensional da madeira em função da troca de humidade entre o material e o ambiente envolvente. Assim, a madeira sofre retração, ou contração, e inchamento, ou dilatação, quando ocorre variação da humidade entre o PS e o PSF (Pfeil, 2017). Sendo a madeira um material anisotrópico, as contrações lineares que ocorrem ao longo dos planos de orientação da madeira são, portanto, diferentes e são potenciais responsáveis por um conjunto de danos que podem surgir, como deformações (ou empenos), fissuras e fraturas.

2.2.3. Densidade

A densidade define-se como a razão entre a massa seca e o volume saturado da madeira (Raven et al. 2001; Botelho Jr., 2006). É um dos principais indicadores da resistência e qualidade da madeira, que varia conforme a espécie, tanto no plano longitudinal como no radial. As madeiras mais densas, relativamente às mais leves, são

as que menos se retraem. Para sua boa utilização, é importante conhecer características relacionadas com a densidade, como dureza, resistência a pregos e trabalhabilidade.

2.2.4. Relação com o fogo: Resistência e reação

A madeira é um material combustível e esta presente nos diferentes elementos da construção, tais como revestimentos, portas, janelas, escadas e outros assim como os elementos estruturais, vigas, paredes estruturais e as coberturas. Não obstante, quando submetida a altas temperaturas, mostra-se resistente por um tempo consideravelmente longo. Ao serem queimadas, as madeiras com grandes diâmetros formam uma camada externa de carvão que vai funcionar como isolante, permitindo conservar a resistência mecânica e suportar o fogo por maior período (Szücs, Terezo, Valle & Moraes, 2006; Castro & Guimarães, 2018).

Para melhor assegurar o desempenho às reações do fogo e aumentar direta ou indiretamente a resistência em situações de incêndios, as madeiras podem ser tratadas com produtos retardadores de combustão combinados com proteções de tintas e vernizes ignífugos. Normas específicas e regulamentos classificam o comportamento e as condições de reação ao fogo relativas aos materiais e elementos utilizados nos edifícios (Fonseca, 2017).

Em Portugal, a norma europeia EN 13501-1 (2018), é utilizada para classificar a reação ao fogo (Euroclasses) de produtos e elementos de construção conforme seu grau de incandescência e, no Brasil, as exigências de classificação do comportamento face ao fogo para materiais e elementos de construção são estabelecidas pela norma brasileira ABNT NBR 16626 (2017).

2.2.5. Durabilidade: Resistência à biodeterioração

A durabilidade ou resistência natural da madeira resulta diretamente da sua capacidade de resistir à ação de organismos e de oferecer boas condições ao uso,

exposição e segurança. Embora suporte grande esforço estrutural, a madeira é um material vulnerável aos agentes ambientais, principalmente a potenciais alterações decorrentes da ação de agentes biológicos, em particular dos fungos que, por meio da atividade de nutrição, modificam as suas propriedades e a deterioram (Ritter & Morrell, 1990). As circunstâncias do meio ambiente influenciam as suas condições de conforto e proliferação e contribuem para o processo de deterioração (Brito, 2014).

Conhecer e estimar a resistência natural da madeira e os aspetos relacionados as deteriorações são de grande importância quanto a escolha e uso desse material, sendo também relevante para evitar gastos desnecessários em intervenções de reposição e atenuar o uso de produtos tóxicos para a preservação. A durabilidade natural da madeira em relação à biodeterioração varia de acordo com a espécie e respetivas características intrínsecas. É, ainda, diferente dependendo da secção extraída da tora, sendo o alburno menos resistente do que o cerne. (Szücs et al., 2008). Tratando-se de elementos de cobertura, usualmente foram utilizadas secções provenientes do cerne, que apresentam estrutura mais densas e menos porosa, com elevado teor de substâncias tóxicas na sua composição, os extrativos, que atuam como repelentes naturais e, portanto, naturalmente mais resistentes à ação dos agentes biológicos. Quando de boa qualidade e com uma boa conservação, apresenta elevada resistência ao tempo (Burger & Richter, 1991).

Dependendo do tipo de observação, as características da madeira podem organizar-se em função da escala macroscópica e microscópica.

a. À escala macroscópica

As características macroscópicas da madeira encontram-se organizadas em duas categorias: organoléticas e macroanatômicas. As organoléticas ou sensoriais são as que podem ser percebidas pelos sentidos, como brilho, cor, sabor, odor, textura, grão e dureza (Raven et al., 2001; Botosso, 2009). As macroanatômicas incluem a forma, dimensão e/ou distribuição dos elementos celulares, como vasos, raios parenquimáticos e parênquima axial e os anéis de crescimento que podem ser notados à vista desarmada

ou com recurso de uma lente de aumento (lupa conta-fios) (Botosso, 2009). A observação de um corte transversal (Figura 9) permite perceber as diversas camadas que formam a estrutura macroscópica do tronco, por exemplo, de uma folhosa.

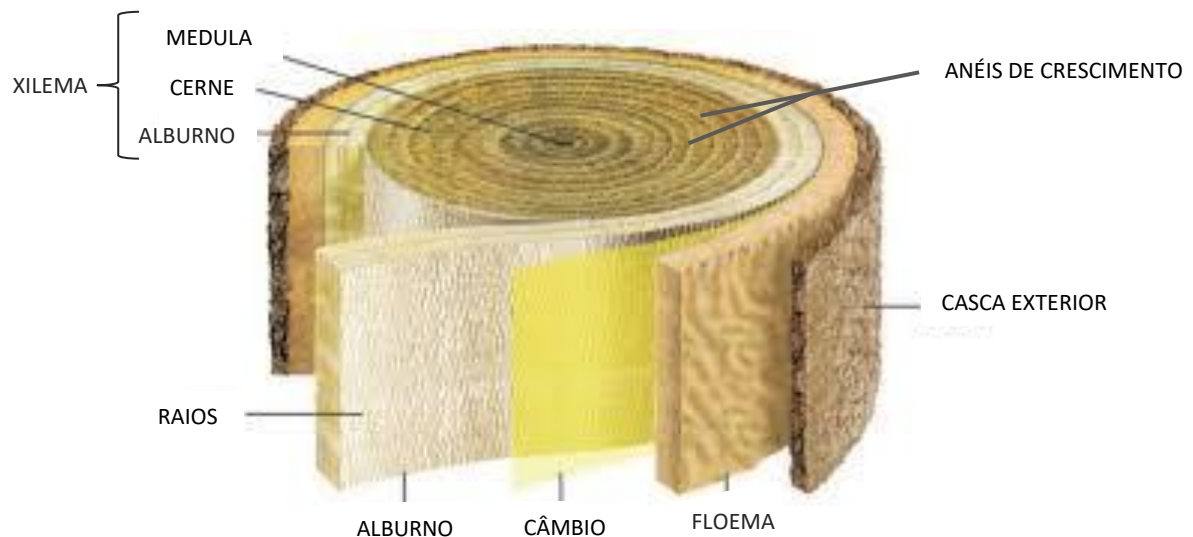


Figura 9: Corte transversal do tronco de uma folhosa. Esquema anatómico da sua estrutura, a partir de Gonzaga (2006, p. 21).

Externamente, a estrutura está envolta por uma casca, parte seca e morta, cuja função é proteger as demais camadas internas. Sobrepõe-se ao floema, ou casca interior, que tem como função principal o transporte da seiva elaborada a ser distribuída ao câmbio e ao alburno. Em seguida, encontra-se o câmbio, parte viva entre a casca e o alburno, que serve para a produção do tecido secundário. Trata-se de película de espessura microscópica e é o tecido que produz o crescimento diametral do tronco, gerando um anel exterior para o floema, e um interior para o xilema, considerada a madeira propriamente dita, que se divide em alburno, cerne e medula (Gonzaga, 2006). O alburno (brancal ou borne), por sua vez, é uma camada porosa, sempre em tonalidade mais clara, e que permite a passagem dos nutrientes. Essas camadas envolvem o cerne (ou durame), parte não-condutora, dura e resistente, geralmente escurecida, cuja

função é conferir sustentação ao tronco. Na parte central está a medula, que armazena substâncias nutritivas (Raven et al., 2001).

Interessa salientar que a coloração escurecida do cerne resulta do elevado teor de extrativos que se concentram nesta região, aromática em alguns casos. Em certas espécies, exercem a função de preservantes naturais. São substâncias tóxicas para os organismos xilófagos pelo que as secções de madeiras mais escuras são consideradas mais duráveis (Raven et al., 2001; Jóia, Fonseca, Silva & Marques, 2006).

b. À escala microscópica

Genericamente, as madeiras provenientes de árvores coníferas e de árvores folhosas apresentam características microscópicas diferentes (Figura 10). A identificação é feita recorrendo a incisões no material, que vão permitir observar, com auxílio de um microscópio ótico, as estruturas anatómicas nos planos transversal, radial e tangencial. Consideram-se também as microestruturas dos tecidos e das células que constituem o lenho, os tipos de pontuações, detalhe das paredes celulares, organização celular dos raios parenquimáticos, dimensão das células, entre outras (Gonzaga, 2006).

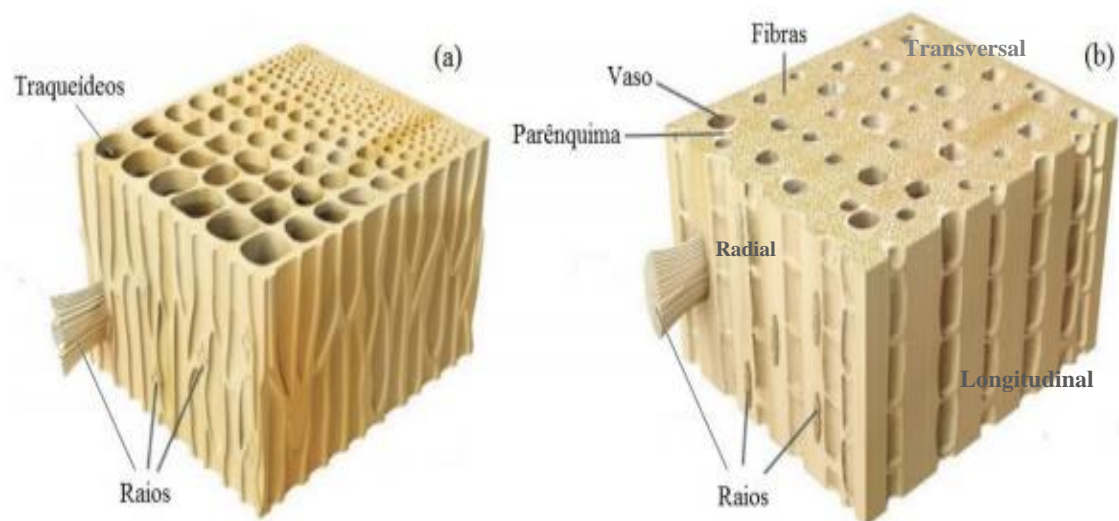


Figura 10: Planos anatómicos da madeira e microelementos estruturais para coníferas (a) e folhosas (b) (Gonzaga, 2006, p. 23 e 25, respetivamente).

Os defeitos na estrutura da madeira podem comprometer as suas características mecânicas e resistência, tanto os que têm origem natural e resultam da estrutura anatômica (nós, fraturas e fissuras), como os causados pelo processamento (Pfeil & Pfeil, 2003; Cruz & Nunes, 2008). Sua presença pode, de certa forma, colocar em causa a utilização total ou parcial de determinada secção da madeira, condicionando sua durabilidade ao possibilitar a entrada de organismos no interior da madeira por meio das pequenas aberturas promovidas pelos defeitos (Baião, 2014).

Deterioração da madeira: Agentes gerais e especificidade dos fungos

A madeira apresenta, portanto, características que a tornam um material com interesse na execução de variadas estruturas. Não obstante, apresenta também algumas limitações. Na Tabela 3, ensaia-se a sistematização das vantagens e limitações da sua utilização.

Tabela 3: Vantagens e limitações da utilização das madeiras.

| VANTAGENS | LIMITAÇÕES |
|--|---|
| Economia de energia na produção | Heterogeneidade |
| Higroscopicidade. Bom isolamento térmico e acústico | Anisotropia |
| Material sustentável e renovável | Variabilidade de características entre espécies |
| Boa relação qualidade/preço | Limitação de dimensões |
| Matéria-prima versátil | Retratibilidade |
| Grande resistência ao choque e deformações pelo fogo | Combustibilidade |
| Alta resistência mecânica | Vulnerável a agentes biológicos |
| Otima trabalhabilidade | |

Fonte: Adaptada de Araújo (2016).

Apesar das vantagens serem em número relevante, a origem natural e a natureza orgânica da madeira tornam-na um material singular, vulnerável a processos de deterioração gerais e específicos dos contextos em que é inserida a exercer as suas funções, para além de exibir características que refletem as condições naturais do

processo de crescimento da árvore de onde provém, que vão influenciar o seu comportamento.

De facto, enquanto ser vivo e tal como todos os outros, a árvore reflete no seu processo de crescimento o ecossistema em que se desenvolveu e as influências específicas dos agentes abióticos e bióticos que dele fazem parte e interagem em relação sistémica. Tais agentes podem ter efeitos físicos, químicos ou físico-químicos.

Os agentes abióticos são representados, entre outros, pelas características geológicas do solo e pelo conjunto que constitui o clima, como a precipitação, a pressão, a temperatura ou a luz. Os agentes bióticos são representados por organismos vivos que formam uma comunidade biológica, a biota, como plantas, animais e microrganismos, como bactérias e fungos. A estrutura e funcionamento dessa comunidade é determinada pelos agentes abióticos e, por sua vez, influencia o ecossistema do qual faz parte. Chang et al. (1982) indicam que os efeitos gerados pela ação dos agentes abióticos sobre a madeira são lentos e provocam uma perda ligeira de material da superfície, em média de 6 mm para 100 anos.

Quando a árvore é abatida e passa a exercer outro tipo de função útil ao homem, através da utilização da sua madeira, as suas características vão, mais uma vez, influenciar e ser influenciadas pelas características dos seus contextos, tanto em termos gerais como específicos.

3.1. Principais agentes gerais de deterioração

3.1.1. Agentes ambientais

Ainda que, supostamente, protegidas por contextos de interior a edifícios, as estruturas em madeira das coberturas podem preservar-se ou sofrer danos e perdas resultantes da ação de agentes ambientais, como a humidade relativa (HR), a ventilação, as radiações, visíveis e invisíveis, ou a temperatura (T), em função das suas condições e reações sinérgicas.

Considerando as características de higroscopicidade e anisotropia da madeira, de todos os agentes ambientais, a HR sobressai como apresentando significativa importância. As suas oscilações conduzem a variações volumétricas na madeira, o que poderá comprometer as suas características mecânicas e resistência (Logsdon, 1998). Essas oscilações, em função da sua frequência e amplitude, podem conduzir a esforços de tensão entre os elementos da estrutura e conduzir a deformações, ou empenos, fissuras e fraturas. Quando não são ultrapassados os limites específicos de cada espécie, as alterações são reversíveis e a madeira mantém a sua resistência (Machado, Dias, Cruz, Custódio & Palma, 2009).

As condições de ventilação, outro agente importante, podem favorecer a diminuição da HR, se promoverem a ajustada renovação e circulação do ar. Ambientes fechados e mal ventilados são predispostos a possíveis anomalias termohigrométricas, possibilitando a retenção da humidade no local, o que levará à sua absorção por parte da madeira e poderá causar a perda da sua resistência e, sinergicamente, facilitar a ação de agentes biológicos (Castro & Guimarães, 2018).

A ação da luz solar pode também causar danos nas madeiras, em função da dose de exposição aos diferentes tipos de radiações. Terá tanto maior capacidade de atuação quanto menor for a proteção garantida pelo revestimento em telha, pelo que a sua manutenção é essencial. Quando a ação protetora de tal revestimento falha e a luz solar age em sinergia com as águas da chuva, provoca a degradação química da lignina existente na superfície da madeira, produzindo alterações de cor, tom e textura, conhecidas como intemperismo (Cruz, 2001; Machado et al., 2009). Apesar disso, esses danos são considerados brandos se atingirem uma camada muito fina da superfície da madeira, não influenciando a resistência do material. As consequências serão apenas de natureza estética (Cruz, 2001). No entanto, no caso de exposição prolongada e da superfície não receber o tratamento adequado, ocorrerá a perda progressiva e contínua dessa camada, o que conduzirá à redução da espessura do travejamento e à alteração das proporções das peças estruturais (Ritter & Morrell, 1990; Calil Jr. et al., 2006).

As ações sinérgicas ambientais podem resultar em fenômenos de dilatação e contração, com efeitos de dano, como perda de elementos, fraturas e deformações, e conduzir a sobrecargas para as madeiras estruturais, resultando em instabilidade, falhas e colapso (Ritter & Morrell, 1990; Cruz & Nunes, 2008; Sousa et al.2014).

3.1.1.1. Temperaturas altas extremas

Como anteriormente referido, a madeira é um material combustível. Portanto, considerando temperaturas altas extremas, o fogo é o agente que mais rapidamente a poderá deteriorar e consumir.

Quando sujeita ao fogo, a madeira decompõe-se libertando compostos voláteis inflamáveis que, expostos ao calor, convertem-se em chamas que, por sua vez, aquecem a madeira ainda não atingida e promovem a libertação de mais compostos gasosos inflamáveis e alimentam a combustão. Não obstante, as peças espessas e robustas de madeira formam uma camada superficial de carvão, que age como uma espécie de isolante, o que impede a rápida saída de vapores inflamáveis e a propagação de calor para o interior da secção. Tal, reduz a velocidade de aquecimento e deterioração do material, contribuindo favoravelmente para melhorar a capacidade de sustentação das cargas da edificação (Lepage, 1986; Cruz & Nunes, 2008).

3.1.2. Agentes biológicos

Em geral e em grande parte, a deterioração da madeira resulta da ação de organismos que dela necessitam para sobreviver e proliferar. Para além de precisarem da madeira como fonte de alimento, esses organismos precisam de condições ambientais apropriadas para se desenvolverem (Brito, 2014; Parma & Icimoto, 2018).

Portanto, as condições termohigrométricas determinam a ocorrência da biodeterioração da madeira e a sua taxa de humidade é responsável por definir os organismos que vão colonizá-la e em que proporções. Contudo, o nível de dependência

dos organismos a esses fatores é variável. Não obstante, o controlo de algum deles pode limitar ou mesmo impedir a ação biológica e favorecer a preservação da madeira (Ritter & Morrell, 1990).

Nesta secção, serão considerados apenas os agentes biológicos que atuam na deterioração da madeira de estruturas de sustentação das coberturas de edifícios históricos, não sendo mencionados agentes relacionados com contextos marinhos, ou outros.

3.1.2.1. Insetos

Os insetos são organismos capazes de extrair porções consideráveis de fibras da madeira e, com isso, podem criar condições favoráveis para disseminar e dar início ao crescimento de fungos cromogéneos e apodrecedores, favorecendo a propagação do material fúngico para outras partes da estrutura. Encontram-se incluídos em algum tipo de simbiose e são considerados agentes deterioradores da madeira as formigas carpinteiras (especialmente no Brasil e devido a estratégias de arborização urbana), os cupins (no Brasil, ou térmitas, em Portugal) e as brocas de madeira (no Brasil, ou carunchos, em Portugal) (Brito, 2014).

a. Formigas carpinteiras

Da família *Formicidae*, as vulgarmente conhecidas por formigas, de que se destaca a espécie *Camponotus pennsylvanicus*, pertencem à ordem dos *Hymenoptera*. Vivem em colónias e desenvolvem galerias na madeira para local de abrigo, sem a utilizar como alimento. Conforme Brito (2014) e Moreschi (2013a), de modo geral as formigas têm preferência por madeiras húmidas não tratadas e macias ou que já se encontrem processadas enzimaticamente por fungos, ou seja, em estágios iniciais do processo de deterioração. Mesmo que as madeiras tenham recebido algum produto imunizante, podem ser alvo da ação das formigas carpinteiras, o que faz delas um

problema para a sua preservação em elementos construtivos, por exemplo de portas, janelas, soalhos, forros, para além das armações de cobertura.

As formigas carpinteiras cultivam diferentes espécies de fungos cuja relação associativa lhes serve para nutrição (Muller, Rehner & Schultz, 1998).

b. Térmitas/Cupins

As térmitas, tal como são conhecidas em Portugal, ou cupins, designação comum no Brasil, são importantes agentes biológicos deterioradores de madeira e pertencem a ordem Isoptera. Muito bem adaptadas a climas tropicais, podem, contudo, desenvolver-se bem em climas temperados. Normalmente, são conhecidas como térmitas de solo ou subterrâneas e de madeira seca. Vivem em colónias e caracterizam-se por serem insetos eussociais (Wood, Johnson, Bacchus, Shittu & Anderson, 1982; Aanen & Eggleton, 2005). Na fase de acasalamento dispersam-se em revoadas. Beneficiam de processo simbiótico ao cultivar os fungos que lhes servem como fonte de nutrição, influenciando o seu desenvolvimento e sobrevivência (Wernegreen, 2004), para além de se alimentarem de todo o tipo de material que contenha celulose, como a madeira, onde escavam galerias.

Para eliminar as térmitas subterrâneas, é necessário encontrar o acesso à sua colónia e atingi-la com produtos tóxicos. Os elementos em madeira infestados por elas devem ser trocados por outros sadios, com boa resistência natural e tratados. Em relação às térmitas de madeira seca, quando a infestação é ligeira, o controlo torna-se mais fácil e procede-se de forma semelhante ao caso anterior. Caso a infestação seja intensa, os elementos da estrutura comprometidos devem ser tratados com produto tóxico a esses insetos, mas que não tragam prejuízos ao homem e nem ao meio ambiente. Em estruturas de grandes dimensões e que não permitem o desmonte, como as armações de cobertura, torna-se quase inviável essa solução (Moreschi, 2013a).

Atualmente, são conhecidas nove famílias de térmitas em todo o mundo, e destas, pelo menos quatro são expressivas no Brasil, nomeadamente *Kalotermitidae*, *Rhinotermitidae*, *Serritermitidae* e *Termitidae* (Lelis et al., 2001). Esta última inclui a subfamília *Nasutitermitinae*, que tem ampla distribuição por todas as regiões tropicais

e a maior diversidade de espécies (Santos, 2016). Em Portugal, as térmitas são representadas pelas famílias, *Rhinotermitidae* com destaque para o género *Reticulitermes*, e família *Kalotermitidae* com os géneros *Kalotermes* [espécie *Kalotermes flavicollis* (Fabricius, 1793)] e *Cryptotermitidae* [espécie *Cryptotermitis brevis* (Walker, 1853)] com ocorrência natural por todo o país, sendo reconhecidas como uma praga para a madeira em serviço, em particular, em construções históricas (Nunes et al., 2005; Ferreira et al., 2013).

c. Carunchos/Brocas-de-madeira

Os insetos vulgarmente conhecidos como carunchos, em Portugal, e brocas-de-madeira, no Brasil, pertencem à ordem dos Coleópteros (*Coleoptera*) e distribuem-se por, pelo menos, 113 famílias. Desenvolvem-se em 4 fases, ovo, larva, pupa e adulto. A fase larval é a mais longa e durante a qual podem ocorrer grandes danos para as madeiras (Ritter & Morrell, 1990). Pode reconhecer-se a sua presença no material pela existência de montículos de pó da madeira e de pequenos orifícios circulares, áreas de saída das galerias que produzem na fase adulta e através dos quais expõem os excrementos (Brito, 2014; Parma & Icimoto, 2018).

Os carunchos desenvolvem-se tanto na árvore viva como na madeira em uso, em diferentes condições de teor de humidade. Considerando estruturas em construções, interessa destacar as famílias *Cerambycidae*, *Anobiidae*, *Bostrichidae* e *Lyctidae*, pelos avultados danos que podem causar, sendo as três últimas as de ocorrência mais frequentes no Brasil. Em contexto museológico, bem como noutros responsáveis pelo património cultural, os carunchos podem existir e danificar a madeira de suporte aos elementos de construção do edifício e decoração dos espaços, bem como dos acervos, de forma discreta, mas contínua (Ritter & Morrell, 1990; Bravery, Berry, Carey & Cooper, 1992).

As espécies das famílias *Cerambycidae*, *Anobiidae* e *Bostrichidae* instalam-se, preferencialmente, nas madeiras dos elementos estruturais e de decoração, quando empregues sem prévio tratamento (Berry, 1994). A família *Lyctidae*, da qual se destaca

a espécie *Lyctus brunneus*, instala-se em todos os tipos de madeiras densas, em todas as regiões do globo, quando apresentam teores de humidade acima de 8% (Ritter & Morrell, 1990).

3.1.2.2. Microrganismos

Os microrganismos possuem preferências em relação a condições de temperatura e, dentro de cada espécie, podem ser classificados como psicrófilos (preferem o frio), mesófilos (preferem temperaturas moderadas) e termófilos (preferem altas temperaturas). Os mais comuns são os mesófilos, cuja temperatura de conforto é de 25 °C a 40 °C.

Em relação à necessidade de oxigénio, de modo geral, todos os microrganismos requerem esse elemento para o processo respiratório, à exceção das bactérias anaeróbias (Tortora, Funke & Case, 2016).

As bactérias são importantes colonizadores e desenvolvem-se quando a madeira se encontra encharcada por semanas ou meses. A exposição do material a elevados teores de humidade provoca o aumento da permeabilidade e, em níveis avançados, a superfície da madeira torna-se amolecida. A deterioração é um processo lento e não causa sérios danos. Porém, se o material se mantiver muito tempo encharcado, pode ser muito agressivo (Brito, 2014).

Os fungos, dado o facto de serem assunto de estudo, são considerados de seguida em secção destacada.

3.2. Os fungos e suas especificidades

Os fungos encontram-se distribuídos por todo o mundo, com variações regionais em função das diferentes condições ecológicas e predomínio nos ambientes terrestres e aquáticos. Desenvolvem interações associadas a outros organismos como parasitas de vegetais, animais, algas e outros fungos; como mutualistas (simbiose), estabelecem e

formam associações com raízes de plantas (micorrizas), rúmen e ceco de mamíferos herbívoros ruminantes (fungos anaeróbios) e ninhos de formigas (Alexopoulos, Mims & Blackwell, 1996). Em ambientes de interior, a relação de simbiose entre fungos e alguns insetos, como as formigas, térmitas e carunchos, possibilita a sua colonização das madeiras nas estruturas de cobertura. As formigas servem como veículo propagador para levar os fungos a locais inacessíveis, colonizando mais facilmente o material (Wernegreen, 2004; Schultz, Mueller, Currie & Rehner, 2005).

São organismos que possuem uma atuação relevante no equilíbrio dos ecossistemas e para a vida humana, pois destacam-se na natureza enquanto sapróbios e a sua principal função ecológica é serem decompositores dos substratos orgânicos (Putzke & Putzke, 2004). Assim, os fungos são os principais organismos de deterioração da madeira e, conseqüentemente, considerados um problema na preservação de um extenso conjunto de elementos culturais de valor patrimonial.

3.2.1. Taxonomia e características gerais

Por taxonomia, entende-se a ciência da classificação que cataloga os organismos em grupos ou *taxa*. O táxon pode indicar uma unidade em qualquer nível de um sistema de classificação. A estrutura hierárquica da classificação científica usada em biologia considera os níveis, ou *taxa*: Vida, Domínio, Reino, Filo ou Divisão, Classe, Ordem, Família, Género, Espécie. Os fungos estão classificados no Domínio *Eukarya*, onde se encontra o Reino *Fungi* cuja classificação atual foi proposta por Hibbett et al. (2007) que, baseada em dados moleculares e em estudos taxonómicos anteriores, considera os filas *Microsporidia*, *Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Bastocladiomycota*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota* determinando que os dois últimos formam o sub-reino *Dikarya*. O grupo conhecido como fungos conidiais ou assexuais sem valor taxonómico, é caracterizado pela reprodução assexuada e relacionado com o sub-reino *Dicarya*. Tradicionalmente, os fungos que possuem maior importância nos processos de deterioração de madeiras são, em maioria, pertencentes a esse sub-reino.

O filo *Ascomycota* (fungos ascomicetos) é composto por grande quantidade de espécies habituais (familiares) e economicamente importantes, onde se incluem os bolores (fungos com hifas septadas) e algumas leveduras. Com reprodução típica, os ascos, produzem esporos meióticos (ascósporos) em grandes quantidades, com mais de 64 mil espécies descritas. O filo *Basidiomycota* (fungos basidiomicetos), também possui hifas septadas e estruturas de reprodução típicas, os basídios, existindo inúmeras espécies conhecidas e importantes, como os cogumelos, orelhas-de-pau e as ferrugens. São conhecidas mais de 32 mil espécies (Tortora et al., 2016).

Os fungos são organismos ubíquos, em maioria saprófitas e encontram-se vastamente distribuídos no globo terrestre. Não possuem clorofila e, na generalidade, são filamentosos e multicelulares (Putzke & Putzke, 2004). Encontram-se dispersos em quantidade considerável na atmosfera juntamente com outros microrganismos, substâncias poluentes gasosas e particuladas e podem depositar-se sobre as superfícies expostas das madeiras formando camadas que se convertem em nutrientes, o que contribui para a deterioração desse material (Sáiz-Jiménez, 1995; Gaylarde & Gaylarde, 2002). Formam colónias miceliais constituídas por estruturas em forma de filamentos bem finos, semelhantes a fios de algodão, apresentando, habitualmente, um diâmetro compreendido entre 6 e 15 μm . Estes filamentos do micélio vegetativo do fungo são conhecidos por hifas e servem para o fixar ao substrato, nutri-lo e edificar as estruturas reprodutoras. Nutrem-se por meio de processos enzimáticos capazes de romper as moléculas orgânicas, inclusive a celulose e lignina, e metabolizam os compostos de carbono presentes na madeira, alterando os componentes químicos e estruturais, decompondo assim o substrato (Raven et al., 2001).

Na generalidade, os fungos são aeróbios e, para o seu crescimento e reprodução, dependem de um ambiente em que a percentagem de oxigénio seja considerada ótima, isto é, concentrações similares à atmosférica que é de 20%. Contudo, existem alguns que se desenvolvem com baixas concentrações ou mesmo em anaerobiose (Mendes & Alves, 1988).

Para além do oxigénio, também a temperatura e a humidade são fundamentais para o crescimento e a multiplicação dos fungos sobre a madeira. A temperatura considerada ótima é aquela em que cada espécie pode crescer melhor. De modo geral, desenvolvem-se bem com temperaturas que se encontram entre 21 °C e 30 °C, incluindo-se nessa faixa a maioria dos fungos deterioradores (Mendes & Alves, 1988; Ritter & Morrell, 1990). O desenvolvimento dos fungos nas madeiras ocorre, geralmente, quando a percentagem de humidade está acima de 20% (Mendes & Alves, 1988; Brito, 2014) embora alguns sejam capazes de se desenvolver sobre materiais que apresentem um teor de apenas 7% ou 8% de humidade (Ponta & Havermans, 2017).

No que diz respeito ao processo de reprodução, este pode ocorrer na forma sexuada ou assexuada, quando são formados os esporos ou conídios de diferentes tipos. Constituem estruturas de reduzidas dimensões que se espalham livremente. São difundidos no ambiente pelo vento e, naturalmente, podem ser encontrados sobre as superfícies expostas. Em condições adversas, os esporos podem ficar inativos por longos períodos (Ritter & Morrell, 1990; Raven et al., 2001).

A Tabela 4 mostra os fatores considerados decisivos para germinação e crescimento dos fungos, e respetivas variações dos valores mínimos e máximo.

Tabela 4: Fatores e condições que influenciam o desenvolvimento dos fungos.

| Fator | Unid. | Condições | | Observações |
|---|-------|-----------|--------|---|
| | | Mínimo | Máximo | |
| Temperatura superficial | °C | -8 | 60 | Está condicionada à espécie de fungo e à fase de desenvolvimento (germinação de esporos ou crescimento de micélio). |
| Humidade relativa próxima da superfície | % | 70 | 100 | |
| Nutrientes do substrato | - | - | - | Os nutrientes podem ser encontrados em sujidades acumuladas. |
| pH da superfície | - | 2 | 11 | Depende da humidade relativa e da temperatura do ar e é influenciado pelos fungos. |
| Teor de oxigénio na atmosfera | % | 0,25 | - | Sempre presente. |
| Tempo | h/d | 1 | - | Depende da temperatura e da humidade relativa. |

Fonte: A partir de Sedlbauer (2001, p.164).

3.2.2. Fungos de interesse para a deterioração da madeira, processos e evidências de atuação específicos

No estágio de desenvolvimento, os fungos atuam sobre a superfície das madeiras de modo a causar alterações na matéria orgânica que a compõe. Essas alterações são, na maior parte dos casos, ações contínuas que resultam em processos conhecidos como de deterioração (Ritter & Morrell, 1990). À medida que a atuação pelos fungos se apresenta mais ativa sobre o substrato, condições facilitadoras são criadas para que outras espécies fungicas agressivas se estabeleçam em camadas mais profundas no material (Lumley, Gignac & Currah, 2001). Allsopp, Seal e Gaylarde (2004) consideram que esta é uma das ações mais indesejáveis, por desencadear sérios problemas à durabilidade e preservação do material. Além disto, originam dificuldades nos tratamentos ou acarretam danos que se apresentam irreversíveis (Ritter & Morrell, 1990; Lelis et al., 2001) gerando vultosos prejuízos financeiros e perdas de referências

inestimáveis do património de interesse histórico e cultural, além de provocar problemas na saúde dos utilizadores e profissionais (Allsopp et al., 2004).

Nesses processos, a humidade é um fator que atua como estimulador das diferentes formas de deterioração (Lebow & Anthony, 2012). Quando a percentagem de HR é superior a 20%, verificam-se danos que alteram o seu desempenho, desencadeando o processo de biodeterioração. Assim, usualmente, são aplicados como índices ideais para a preservação, os percentuais que compreendem o intervalo entre 20% e 25%, ou seja abaixo do desejável para o desenvolvimento dos fungos.

No entanto, tal intervalo é muito difícil de atingir e manter nos contextos normais de coberturas, especialmente em ambientes tropicais e junto ao mar. De modo geral, as madeiras de estruturas em coberturas nos edifícios históricos localizam-se em locais fechados e pouco ventilados, cuja tendência a formar bolsas de ar estancos favorece a retenção da humidade, que será absorvida pelo mesmo material e, portanto, apresentará dificuldades em manter tais níveis de HR, tornando-se vulneráveis à ação de fungos (Gaylarde & Gaylarde, 2002). Assim, os tratamentos biocidas aplicados nas superfícies representam um papel importante para a durabilidade das madeiras (Tampone, 1996; Viitanen et al., 2010).

A ação de deteriorar, *de per si*, representa a existência de um estágio mais intenso para atingir o processo de decomposição da matéria propriamente dito, no qual os fungos penetram pelas paredes celulares do tecido vegetal, após iniciar lentamente o seu crescimento, e progridem para o interior das madeiras (Highley & Dashek, 1998). Com base no tipo de deterioração que os fungos desenvolvem nas madeiras, podem ser divididos em duas categorias: fungos cromogéneos e bolores; e fungos de podridão.

3.2.2.1. Fungos cromogéneos e bolores

Os fungos cromogéneos (*wood-stain fungi*) e os formadores de bolores (*wood-molds fungi*) pertencem ao Filo *Ascomycota* e representam o grupo primário de infeção, o que primeiro coloniza e produz alterações nas camadas superficiais das madeiras

(Vianna Neto & Milano, 1984). Nutrem-se das substâncias de reserva das células da camada externa e da matéria orgânica que se deposita no material do alburno. Não obstante, não comprometem a resistência físico-mecânica da madeira (Botelho Jr., 2006).

A contaminação das madeiras por este tipo de microrganismos, geralmente, ocorre pela germinação de esporos transportados por insetos, outros animais ou pelo vento, favorecida por uma HR superior a 22% e valores de temperatura entre 10 °C a 30 °C (Cruz & Nunes, 2008). A manifestação de fungos cromogêneos e bolores é mais comum em ambientes externos. No entanto, pode ocorrer em espaços de interior mal iluminados e que apresentem infiltrações, condensação ou mesmo rotura de tubulações, entre outros problemas de construção e/ou manutenção (Ross, 2010).

Os primeiros estágios da colonização da madeira por esses fungos são incipientes e podem passar despercebidos, não exibindo sinais que indiquem a ocorrência de modificações na sua superfície. Quando essas situações ocorrem em estruturas que se encontram instaladas em espaços de difícil acesso e pouca iluminação, como é o caso das madeiras nas armações de cobertura, uma inspeção apenas visual talvez não permita identificar com segurança se a ação do fungo está a provocar mancha e/ou bolor, sendo necessário um estudo histológico do material (Hanada, Sales-Campos, Abreu & Pfenning, 2003; Zabel & Morrell, 2020). Entretanto, quando ocorrem grandes aumentos nos índices de humidade no ambiente, a presença das hifas sobre o material torna-se mais visível, proporcionando melhores condições para a identificação da formação de colónias. Esse aspeto deve ser também observado nas superfícies dos barrotes de sustentação que ficam apoiados na alvenaria, considerado um ponto crítico nos processos iniciais de deterioração (Doria, 2015). Uma característica que pode confirmar a sua existência no local é o forte odor que emanam, proveniente da libertação dos esporos (Viitanen et al., 2010). Portanto, é importante reconhecer a aparência das alterações que se desenvolvem a fim de serem detetadas logo que se torne minimamente visível no substrato e ser possível controlar o seu desenvolvimento, impedindo a ocorrência de danos mais sérios. Para tanto, realizar inspeções juntamente

com intervenções regulares de prevenção, apresentam-se como soluções positivas (Henriques, 2011).

Os fungos formadores de bolor (Figura 11), contaminam a superfície da madeira e produzem uma leve camada de textura algodanosa, como resultado de grande acumulação de esporos que germinam sobre o substrato, podendo variar a coloração do branco ao negro (Botelho Jr., 2006).



Figura 11: Colônia de fungos formadores de bolor sobre a superfície da madeira. © Rita Doria.

Quando a superfície se encontra intensamente colonizada, observa-se uma redução na resistência ao impacto. Não obstante, as demais propriedades mecânicas são preservadas e pouco afetadas (Scheffer, 1973; Allsopp et al., 2004). De modo geral, a remoção desses fungos é realizada com auxílio de lixamento, escovação ou aplainamento (Lelis et al., 2001).

Os fungos cromogêneos causam problemas mais sérios. Desenvolvem-se e causam manchas profundas na madeira que, em muitas ocasiões, podem ser confundidas com marcas provenientes de infiltrações. Quando a coloração se torna muito evidente, observam-se claramente as lesões provocadas pela ação desses fungos, cujas manchas são formadas em decorrência do processo de pigmentação enzimática promovido por hifas hialinas que apresentam colorações variadas: tons de ocre, azuladas, esverdeadas, castanhas ou negras (Vianna Neto & Milano, 1984; Botelho Jr., 2006). Sob condições favoráveis, a ação de alguns desses fungos cromogêneos pode dar origem a biodeterioração provocando redução significativa na resistência da madeira

(Figura 12), aumentando a permeabilidade e conseqüente desenvolvimento de fungos de podridão (Martins, 2009; Brito, 2014; Araújo, 2016).



Figura 12: Evidências de manchas de colônias de fungo cromogéneo na superfície da madeira. © Rita Doria.

3.2.2.2. Fungos de podridão

Os fungos de podridão (*decay fungi*) pertencem ao Filo *Basidiomycota* e produzem profundas alterações nas propriedades físicas e mecânicas da madeira, pela capacidade em degradar enzimaticamente os principais componentes da parede celular vegetal (Lepage, 1986; Lelis et al., 2001; Thomasson, Capizzi, Dost, Morrell & Miller, 2015). Ocorrem em madeiras de coberturas principalmente onde existem infiltrações, consertos mal feitos e elevada humidade e são indicativos de deterioração, conduzindo a perda de resistência, amolecimento, desagregação e descoloração da madeira (Calil et al., 2006). O mesmo grupo de autores considera que madeiras que apresentem HR abaixo de 20% estarão livres da deterioração por parte dos fungos.

De acordo com Moreschi (2013a), estes fungos são classificados e encontram-se subdivididos em conformidade com a natureza da sua ação e aspetos que apresentam na madeira deteriorada.

a. Fungos de podridão cúbica ou parda (*Brown rot fungi*)

A podridão cúbica (*Brown rot*) ou parda (Figura 13), desenvolvida por fungos basidiomicetos é causadora da mudança na estrutura da madeira, que assume uma

coloração acastanhada e de aspeto seco, como se a superfície se tivesse queimado, e, em casos avançados, forma fissuras que parecem cubos (Arriaga, Peraza, Esteban, Bobadilla & Garcia, 2002; Machado et al., 2009; Araújo, 2016). O seu desenvolvimento resulta em graves danos que podem atingir camadas mais profundas do material, destruindo a celulose e hemicelulose das paredes celulares do tecido vegetal (Teixeira, Costa & Santana, 1997; Highley & Dashek, 1998). A evolução e continuidade desse processo desencadeiam a deterioração com perda proporcional de massa e diminuição da resistência física e mecânica da madeira (Tampone, 1996).

Esse tipo de podridão pode apresentar-se húmida ou seca, de acordo com a localização e condições climáticas em que se manifesta. Quando seca, a infeção ocorre em zonas com baixa humidade e de forma muito agressiva, desenvolvendo-se rapidamente por toda a extensão da madeira e, inclusive, por outros materiais como as alvenarias e as argamassas. Na podridão húmida, a infeção ocorre em zonas molhadas e mal ventiladas da construção, afetando mais as espécies de madeira resinosa (Sousa et al., 2014).



Figura 13: Evidências da ação dos fungos basidiomicetos (*Brown rot*) na madeira (Henriques, 2011, p. 39).

b. Fungos de podridão branca ou fibrosa (*White rot fungi*)

A podridão branca ou fibrosa (*White rot*), desenvolvida por fungos ascomicetos e basidiomicetos, desencadeia um processo considerado o mais agressivo entre os demais, com alto poder enzimático, provocando a destruição dos principais componentes da madeira: celulose, hemicelulose e lignina, sendo esta completamente

destruída (Teixeira et al.,1997; Highley & Dashek, 1998). O material perde a coloração natural e passa a ter uma aparência esbranquiçada e textura fibrosa (Moreschi, 2013a). Em decorrência deste processo observam-se, em estágios avançados, características macroscópicas tais como bolsas, manchas ou linhas esbranquiçadas entre os veios da madeira (Figura 14). Com o progressivo consumo dos constituintes básicos, a perda de massa pode atingir 97% (Guimarães, Rosa & Castro, 2018).



Figura 14: Evidências da ação de fungos ascomicetos e basidiomicetos (*White rot*) (Henriques, 2011, p. 39).

c. Fungos de podridão branda (*Soft rot fungi*)

A podridão branda (*Soft rot*), podendo também ser chamada de podridão mole, é decorrente dos fungos assexuais e alguns do Filo *Ascomycota* (Cruz & Nunes, 2008), que infetam zonas da madeira que apresentam concentração excessiva de humidade e pouca ventilação. São exemplos as madeiras em locais de cobertura e sótãos, em contato com o solo, entre outros (Botelho Jr., 2006).

Moreschi (2013a) ressalta que a infecção ocorre nas camadas superficiais da madeira e não ultrapassa os 2 cm de profundidade. Ao ser removida mecanicamente, essa camada deixa à mostra a camada subjacente que ainda está sadia, o que facilita um novo contágio. Salienta, ainda, que: quando húmida, a madeira sofre uma redução de dureza, o que facilmente se constata após breve pressão sobre o material; quando seca, o seu aspeto passa a ter uma cor mais escurecida, apresenta fissuras, desagregação e textura irregular (Figura 15).



Figura 15: Evidências da ação de fungos ascomicetos na madeira (*Soft rot*), (Henriques, 2011, p. 38)

Segundo Oliveira et al. (1986), o amolecimento revela que a madeira está em fase mais avançada no processo de alteração e o contato frequente com a água acelera a evolução do processo. Isto é uma possibilidade real nos espaços em que se localizam as madeiras de cobertura, considerando os defeitos, o fenómeno da condensação e as infiltrações por calhas e/ou telhas danificadas que se apresentam nestes locais, quando não há ou é ineficiente a manutenção. Zabel e Morrell (2020) ainda assinalam que a humidade viabiliza uma crescente perda das propriedades de resistência da madeira e Guerra et al. (2012) observaram que esta probabilidade acontece entre os valores de 40% e 80% de HR.

Estratégias tradicionais de intervenção de preservação

De acordo com o *International Council of Museums - Committee for Conservation*, atualmente, a conservação está relacionada com “Todas as medidas e ações destinadas a salvaguardar o património cultural tangível e, ao mesmo tempo, garantir a sua acessibilidade às gerações presentes e futuras” (ICOM-CC, 2008).

4.1. Enquadramento

No final do século XIX, mais exatamente em 1877, nasceu em Londres a *Society for the Protection of Ancient Buildings* (SPAB), fruto de grandes discussões e inquietações relacionadas com a conservação dos edifícios antigos. Fundada por William Morris, objetivava realizar ações para a manutenção regular, permanente e intervenções curativas dessas construções, preservando ao máximo o material original, sem interferir na sua autenticidade (Jokilehto, 1986) Essa perspectiva já sugere uma preocupação em relação ao conjunto dos elementos originais que constituem a construção, incluindo as estruturas das coberturas em madeira. A 1ª conferência internacional sobre monumentos históricos realizou-se na capital da Grécia, onde foi elaborada a Carta de Atenas (1931).

Tal documento instituiu importantes mudanças nas questões voltadas para a sua maior valorização e proteção, sendo considerado um marco para esse património e forneceu orientações para o amparo legal às técnicas construtivas e aos materiais a serem empregues nas intervenções de restauro e métodos de conservação para melhor preservação desse património cultural. Salienta a importância da manutenção regular e

permanente e adota-a como ação fundamental e prioritária para a conservação do monumento, em detrimento das reconstruções integrais, considerando os danos e perdas inerentes.

No âmbito das duas Grandes Guerras, a Europa assistiu à destruição de numerosos exemplares do seu património cultural edificado, registando-se perdas irreparáveis. O cenário desolador urgiu por ações que possibilitassem preservar o que ainda restava do património. Assim, no período pós-2ª Grande Guerra, foi criada em Paris, no ano de 1945, a Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (UNESCO) e vários organismos não-governamentais seus dependentes, como o Conselho Internacional de Museus (*International Council of Museums - ICOM*) e o Conselho Internacional dos Monumentos e Sítios (*International Council on Monuments and Sites - ICOMOS*), que definiu o conceito de património natural e cultural, no qual se incluía o arquitetónico, estabelecendo convenções e incentivando os países a assiná-las para salvaguarda do seu património. Esse foi um referencial para que instrumentos de defesa e proteção do património fossem determinados. Outros documentos foram produzidos, destacando-se a Carta de Veneza (ICOMOS, 1964), que ampliou e aprofundou as noções já existentes de monumento histórico e estabeleceu os princípios para a conservação, restauro, documentação e publicações referentes aos edifícios e sítios históricos. Nessa carta, também as questões relacionadas com a autenticidade e respeito pelos materiais originais se apresentam, mais uma vez e em reforço dos princípios da Carta de Atenas, como preocupação, admitindo o uso de técnicas e materiais modernos, mas reforçando a necessidade de serem cientificamente comprovados, para auxiliar nas intervenções.

A conservação vai assentar no primeiro nível de intervenção a ser aplicado ao património histórico por meio de atividades de manutenção, o que permitirá manter e garantir a integridade do bem cultural pelo maior tempo possível, preservando sem alterar suas feições e constituição física. Em sequência, as intervenções de conservação vão orientar-se pela necessidade de evolução de usos e costumes, mas vão ser estabelecidas claras limitações. O restauro, não deixando de ser importante para o

retorno à utilização e fruição do património (Desvallées, Mairesse, Soares & Cury, 2013), foi considerado como de carácter excecional.

Com a publicação da Carta de New Orleans (APT/AIC, 1992), observam-se reflexões mais profundas acerca da preservação integrada, dos cuidados que se devem ter em atenção relativamente ao edifício histórico e os princípios que devem ser adotados para as práticas da preservação conjunta, passando esses a serem percebidos na sua totalidade. O edifício histórico, enquanto invólucro para abrigo e proteção de coleções museológicas, assume um valor patrimonial equiparado ao acervo. Portanto, estendem-se as ações de conservação para além das coleções. Volta a reforçar-se a relevância da documentação criteriosa durante todo o processo de intervenção.

As armações tradicionais de cobertura fazem parte da composição dos edifícios históricos e, em geral, representam estruturas originais e de grande relevância para o bom desempenho da construção. Portanto, merecem iguais preocupações, em termos de manutenção, para sua preservação. A importância da preservação dessas estruturas foi assinalada pelo ICOMOS e é realçada no Documento de Nara (ICOMOS, 1994), no Japão, onde se retomam as discussões relativas ao modo de proceder à verificação da autenticidade do património cultural. Até então, o critério de autenticidade estava associado unicamente ao aspeto material e à técnica construtiva do bem, sendo esses considerados muito simplistas diante da diversidade das culturas existentes. Passou-se, assim, a agregar a condição de excecionalidade, reconhecendo como realidade a diversidade das tradições culturais, cuja verificação de autenticidade dar-se-á no contexto espaço-tempo do próprio bem (Lira, 2009). A partir daí, incluem-se novos aspetos não materiais e dinâmicas como “forma e projeto, material e substância, uso e função, tradições e técnicas, localização e espaço, espírito e sentimento, bem como outros fatores externos e internos” (ICOMOS, 1994). Estruturas em madeira como as que sustentam as coberturas nos edifícios históricos guardam informações valiosas quanto a sistemas de construção, tradicionais e identitários, que as tornam singulares e representantes de especial feição no cenário das cidades.

Nessa perspectiva, mais tarde e na cidade do México, foram estabelecidos os “Princípios para a Preservação de Estruturas Históricas em Madeira”, discutidos e firmados a partir da 12ª Assembleia do ICOMOS (1999). Esse documento reconhece que o número de estruturas históricas em madeira é cada vez menor, em decorrência da sua vulnerabilidade, falta de manutenção, abate e substituição, nem sempre com conhecimento e em respeito pelos materiais e técnicas de construção em causa. Determina que todas as estruturas em madeira de edifícios ou outros tipos de construções de importância patrimonial contendo esse material e pertencentes a uma determinada área histórica, devem receber o mesmo respeito, atenção e proteção, pela sua importância cultural. E mais, faz referência ao valor que essas estruturas em madeira representam e à importância em preservar ao máximo a sua autenticidade histórica, conforme preceituam os ditames da Carta de Veneza. Quando houver alguma necessidade de intervenção, deverá ser criteriosa, a mínima possível e atempada. No caso de confirmação de atividade biológica de deterioração nas madeiras, essas deveriam receber imediata intervenção para minimizar os potenciais danos e perdas (ICOMOS, 1999).

É, portanto, recomendação do ICOMOS (1999), a aplicação de uma metodologia que contemple de modo equânime estas variáveis, a fim de proceder à preservação das madeiras e de todo o seu valor informacional e documental. Não obstante, mesmo diante da existência desses instrumentos norteadores para alicerçar as intervenções do património cultural, ainda se assiste a diferentes opiniões sobre qual o método mais correto para preservar as madeiras, principalmente as que compõem as estruturas de cobertura. Portanto, conhecer o comportamento da madeira enquanto material estrutural bem como a sua durabilidade, é primordial para entender como conservá-la, além de ser fundamental para a estabilidade e a manutenção do património edificado, garantindo a segurança e a integridade física das estruturas existentes (Sousa et al. 2014).

4.2 Inspeção e manutenção

Apesar de serem elementos importantes para o edifício, as armações de cobertura nem sempre têm recebido os devidos cuidados que lhes devem ser dispensados, sobretudo quando se trata de estruturas com valor histórico, cuja maioria apresenta deficiência estrutural e/ou sofreu intervenções equívocas e está fragilizada (Cruz, 2011). Apesar de serem contextos escondidos e de difícil acesso, tendencialmente esquecidos, considera-se de grande importância o estabelecimento e a implementação de rotinas de visita e inspeção como estratégia de manutenção e preservação das coberturas históricas.

A inspeção apresenta-se, portanto, como uma ferramenta de diagnóstico, composta por um conjunto sistematizado de procedimentos que devem ser realizados periodicamente e cuja finalidade é identificar a necessidade de ações preventivas e corretivas na construção, conforme se indica na Tabela 5.

Tabela 5: Procedimentos essenciais à inspeção e manutenção de estruturas de cobertura.

| Procedimentos de Inspeção Periódica / Manutenção | | | |
|--|---------------|---|---|
| Local a inspecionar | Periodicidade | Problemas a verificar | Procedimentos a adotar |
| Revestimento externo de telhas e do sistema da captação e escoamento das águas pluviais. | Bimensal | Telhas quebradas, deslocadas ou mal encaixadas. | Substituir e/ou reposicionar. |
| | | Canais, calhas, rincões e outros condutores entupidos. Furos, oxidação, emendas soltas nas calhas e condutores. | Remover detritos, lavar com escova de cerdas naturais. Corrigir os defeitos. |
| Madeiras das estruturas do telhado e do sistema de sustentação do forro. | Semestral | Condições de ventilação. | Instalar/reparar sistema de ventilação. |
| | | Eventuais desaprumos, deformações e desagregações. Evidências de atividade de insetos ou microrganismos. Estado de conservação das instalações hidráulicas e elétricas. | Corrigir, reforçar, restaurar peças comprometidas. Tratamento/controlo. Corrigir eventuais vazamentos ou problemas com circuitos elétricos. |

| | | | |
|--|-----------|--|--|
| Superfícies das madeiras: forro e elementos estruturais. | Diária | Manchas de retenção de água. | Identificar local de infiltração e reparar. |
| | Quinzenal | Evidências de atividade de insetos ou microrganismos. Condições de higiene e limpeza. | Tratamento/controlo. Limpeza. Remover detritos maiores, varrer e aspirar. |

Fonte: Adaptado e modificado de La Pastina Filho (2005).

Rotinas de inspeção permitem detetar e corrigir anomalias e falhas de manutenção e também fornecer dados sobre as condições físicas em que se encontram as estruturas. Esses processos podem e devem ser complementados por ensaios *in situ* e análises laboratoriais, que fornecem dados relativos ao estado do material (Arêde & Costa, 2002).

Especificamente em relação às estruturas de cobertura, manter o exercício de atividades regulares para intervenções é essencial e eleva o seu desempenho, minimizando os processos aos quais a madeira está sujeita, sejam pelo envelhecimento natural ou ocasionados por agentes de deterioração. Tendo em vista a importância da integridade material que desempenham no edifício histórico, a preservação dos seus elementos originais tem preferência em relação às substituições. A elas devem ser asseguradas ações que decorram de inspeções periódicas, como limpeza de manutenção, desinfeção e/ou desinfestação não-tóxica, pequenas reparações e, quando imprescindível à estabilidade estrutural, substituição de partes danificadas ou deterioradas que respeite os princípios orientadores das intervenções em património cultural e que minimize os riscos (Lepage, 1986; Donnelly & Flegg, 2007; Brito & Calil Jr, 2013), assegurando a sua preservação.

Um aspeto importante prende-se com a necessidade de que as inspeções sejam realizadas por técnicos habilitados, que possuam conhecimento específico do material e das técnicas tradicionais de construção. As inspeções são necessárias e devem ocorrer mesmo que não haja suspeita de anomalias e/ou desenvolvimento evidente de agentes biológicos. Após inspeção, procede-se à avaliação das informações de recolha com base

na interpretação das evidências dos problemas, para posteriormente serem realizadas as intervenções de manutenção (Cruz, 2011).

As operações de manutenção apresentam-se como um elemento importante na gestão de estruturas em madeiras das coberturas, permitindo o planejamento de intervenções regulares que implicam menores custos (Barbas, 2015). Em função dessa importância, a manutenção, preventiva e corretiva, deve estar enquadrada no plano de preservação do edifício. O bom exercício da manutenção, aliado às práticas de conservação preventiva, proporcionam maior durabilidade aos materiais que constituem as estruturas e os acervos patrimoniais, com redução das necessidades de intervenções curativas e minimizando ou evitando perdas valiosas (Camacho, 2007). Nesse sentido, alude-se à Carta de Burra de 1979 (ICOMOS Australia, 2013), na qual a preservação representa a própria manutenção física do material com vista ao retardar do seu processo de deterioração (Brites, 2011).

As inspeções são, portanto, fundamentais para verificar, atempadamente, a existência de problemas na estrutura, quer se apresentem sob a forma de processos insipientes de biodeterioração ou de deformações estruturais. Se houver a necessidade de substituição de algum elemento por outro, o material novo deverá ser de igual natureza, as intervenções deverão ser pontuais e devidamente documentadas e dispensar-se-ão maiores interferências. Porém, se forem identificados problemas mais complexos, como danos que comprometam uma grande parcela da estrutura e justifiquem a completa troca do material, é fundamental que se realizem ensaios complementares a fim de averiguar a existência de comprometimentos graves da segurança estrutural (Barbas, 2015).

Mesmo com a existência de tantas normas e orientações que amparam as inspeções, ainda se verifica um acentuado número de edifícios históricos que apresentam um elevado índice de deterioração, decorrente da falta de manutenção regular, sobretudo pela ineficiência ou inexistência de um plano que contemple essa atividade no âmbito de uma gestão integrada. Assim, manter rotinas de manutenção, para serem aplicadas corretamente nas armações de cobertura, amplia as possibilidades

de vida útil das madeiras, preserva o património cultural e diminui custos operacionais de gestão (Barbas, 2015).

4.2.1. Recursos para meios auxiliares em inspeções

Sempre que se justifique, a inspeção deve ser complementada com meios auxiliares de exame, que envolvem recursos que podem ser empregues *in situ*, como:

- Extensómetros, para medir as deformações que existam (Santos, J. A., 2007);
- Ultrassons e ondas de tensão, para medir a velocidade da propagação das ondas e identificar defeitos nos elementos de madeira (Candian & Sales, 2009; Marto, 2013);
- Ensaios de resistência mecânica, a partir de corpos de provas confeccionados com amostras de pequenas dimensões, para avaliar o grau de comprometimento da estrutura de madeira pela colonização de fungos (Doria, 2005; Fiorelli, Dias & Coiado, 2009);
- Teste do martelo, que consiste em dar leves batidas na madeira e reconhecer, pela diferença sonora, a existência de espaços vazios ou comprometidos (Dijk, 2014);
- Teste de resistência à perfuração com auxílio de um Resistograph® ou um Pilodyn®. Consiste na introdução de uma broca muito fina no material, para dirimir dúvidas sobre alguma zona na estrutura que apresente indício de deterioração, a fim de confirmar a sua resistência e a extensão do problema. Contudo, pelo carácter patrimonial dessas armações, existem restrições à utilização destes processos (Dijk, 2014; Neves & Henriques, 2014);
- Xilohigrómetros, para medir a humidade da madeira.

Para além desses meios de exame complementares, será importante ter presente o interesse de algumas análises laboratoriais, que irão auxiliar na confirmação da presença de fungos nas superfícies das madeiras, na sua fase inicial, e fornecer informações valiosas para a intervenção (Zabel & Morrel, 2020).

Desenvolvido mais recentemente, um método que está a despertar atenção é a detecção de compostos orgânicos voláteis microbianos (*Microbial Volatile Organic Compounds* - MVOCs), que permite analisar metabolitos de fungos filamentosos volatizados no ar ambiente e na poeira, dando a conhecer o tipo e a intensidade da contaminação que se desenvolve nos materiais. Em locais fechados, como as coberturas dos edifícios históricos, este método torna-se adequado por permitir a confirmação da presença destes compostos como indicadores de crescimento fúngico em camadas mais internas da madeira, o que pode representar contaminação nociva para a saúde humana (Fiedler, Schütz & Geh, 2001) e para a estabilidade dos acervos museológicos, cujo risco de contaminação aumenta de magnitude. Dessa forma, a detecção dos compostos voláteis produzidos pelos fungos pode ser uma ferramenta analítica de grande auxílio a ser utilizada tanto nos ambientes de cobertura como nos demais espaços internos do edifício.

4.3. Produtos preservantes e métodos de aplicação

Diferentes substâncias compõem os produtos preservantes e os protocolos para a sua aplicação em tratamentos de madeiras podem ser simples ou mais sofisticados. O importante é que os resultados obtidos atendam ao que se pretende atingir, isto é, assegurem a proteção do material da melhor forma possível.

Para os produtos fungicidas e inseticidas usualmente conhecidos serem impregnados na madeira, precisam de um solvente, água ou óleo, que servirá de veículo penetrante com a finalidade de atingir mais profundamente todo o material. Estes preservantes são compostos por sais metálicos com variados produtos químicos na sua formulação. É importante ressaltar que o controlo químico pode induzir a resistência dos fungos ao produto biocida, o que leva ao aumento da quantidade dos produtos a serem utilizados assim como elevam os riscos para a saúde e meio ambiente. Nesse sentido, é necessário o desenvolvimento de métodos alternativos eficazes e não tóxicos para o tratamento das madeiras, principalmente as de serviço (Machado, Calil Júnior,

Polito & Pawlicka, 2006). Independentemente da variedade, para que possam ser utilizados, devem cumprir os requisitos indicados na Tabela 6.

Tabela 6: Requisitos aplicáveis aos produtos para preservação de madeiras.

| | |
|-------------------------|---|
| EFICIÊNCIA | Ampla espectro de toxicidade para o microrganismo xilófago, com profunda e uniforme penetração no material. |
| SEGURANÇA | Toxicidade baixa. Não apresentar risco para o ser humano e nem para o meio ambiente. |
| RETENÇÃO E DISTRIBUIÇÃO | Boa capacidade de fixação, insolubilidade em água e boa homogeneidade sobre a superfície da madeira. |

Fonte: Adaptado de Lebow e Anthony (2012).

Embora necessários, estes requisitos dificilmente serão todos assegurados num único produto. Portanto, a inspeção irá proporcionar uma avaliação criteriosa sobre o estado de conservação do material e, posteriormente, selecionar o produto mais adequado para alcançar maior durabilidade e o melhor método para a sua aplicação, tendo sempre em consideração as especificações e exigências do fabricante. É de igual importância conhecer o nível de toxidade do produto, tanto para os organismos colonizadores quanto para o ser humano, lembrando sempre que estes são os elementos que auxiliam a boa conduta para que se obtenha um resultado eficaz no tratamento (Gonzaga, 2006).

Os produtos usados na preservação de madeiras podem ser fungicidas e inseticidas, e são classificados consoante o veículo utilizado para solver, a saber, produtos aquosos que utilizam a água como solvente, produtos oleosos e produtos em solvente orgânico (Silva, 2007).

4.3.1. Preservantes aquosos tradicionais

Os preservantes aquosos possuem a vantagem de serem encontrados no comércio a baixo custo, na forma de pó ou pasta para serem diluídos em água e

aplicados à temperatura ambiente, o que facilita a sua preparação. Reúnem na sua composição vários produtos químicos tóxicos, como arsénio, crómio, cobre, boro, zinco e flúor. Isso, em princípio, aumentará a sua eficácia no combate a um espectro mais alargado de fungos e insetos. Embora a reunião de muitos componentes tenda a representar maior eficiência, isso pode gerar uma reação contrária à desejada (Silva, 2008). Os produtos tradicionalmente mais usados indicam-se na Tabela 7.

Tabela 7: Produtos preservantes aquosos tradicionais mais comuns e características selecionadas.

| Produto | Caraterísticas selecionadas |
|---|--|
| Arseniato de cobre amoniacal (ACA) | Alta permeabilidade. Baixa corrosão para metais. Tóxico para grande número de xilófagos. |
| Arseniato de cobre cromatado (CCA) | Aplicação por pressão. Alta durabilidade. Eficaz para madeiras em contato com o solo. Eficaz contra insetos e fungos apodrecedores. Não ataca metais. Aparência esverdeada. |
| Borato de cobre cromatado (CCB) | Aplicação em autoclave. Eficaz para madeiras que não fiquem em contato com o solo. Ignífugo, fungicida e inseticida, com melhor ação contra <i>Lyctus.sp.</i> |
| Cloreto de zinco cromatado (CZC) | Boa fixação. Baixa corrosão para metais. Indicado para locais de baixa temperatura e alta humidade. |
| Composto de sais de flúor, crómio, arsénio e fenol (FCAP) | Altamente tóxico para organismos xilófagos. Aparência esverdeada. |
| Composto de boro | Aplicação por imersão ou pulverização. Eficaz para madeiras suscetíveis a <i>Lyctus</i> e fungos cromogéneos. |

Fonte: Adaptada de Silva (2007).

No mercado atual ainda são encontrados produtos aquosos como os sais de amónio quaternário e as aminas quaternárias tendo, no entanto, maior destaque os

mais recentes como carbamatos, piritrina e piretróides, 2-(tiocianometiltio) benzotiazol (TCMTB), azaconazol, 3-iodo-2-propinil Butilcarbamato (IPBC), 1,2,3,6 tetrahydro-N (1,1,2,2) tetracloetiltio ftalimida (Captafol) e Metileno Bis Tiocianato (MBT) (Silva, 2007).

4.3.2. Preservantes oleosos tradicionais

Os preservantes classificados como oleosos são todos os que se aplicam na sua forma oleosa, sem a necessidade da adição de um veículo. Tipicamente de coloração escura e forte odor, apresentam alta viscosidade à temperatura ambiente, boa resistência à lixiviação e são altamente eficazes para atuar como inseticidas e fungicidas (Silva, 2007). Na Tabela 8 indicam-se os tradicionalmente mais usados, com destaque para o alcatrão e para os creosotos.

Tabela 8: Produtos preservantes oleosos tradicionais mais comuns e características selecionadas.

| Produto | Caraterísticas selecionadas |
|-------------------------------|--|
| Alcatrão | Destilado de carvão mineral, principalmente do betuminoso, isto é, da hulha. Cor escura e forte odor. Aplicado por método do banho quente-frio e autoclave para impregnação. Eficaz para madeiras em contacto com o solo. |
| Creosoto de alcatrão de hulha | Subproduto da destilação da hulha. Destilado do alcatrão. Um dos mais antigos preservantes. Cor escura. Excelente toxicidade para fungos, térmitas e perfuradores marinhos. Deixa resíduos na superfície. |
| Creosoto de madeira | Subproduto da destilação da madeira. Destilado do alcatrão. O alcatrão de madeira foi o preservante mais antigo conhecido na história. Muito usado em madeiras para dormentes na ferrovia. Utilização interrompida no início do século XX, em favor do creosoto mineral e dos preservantes hidrossolúveis. |

| | |
|-------------------------------------|---|
| Óleo de antraceno ou Carbolineum | <p>Fração do alcatrão de hulha, com ponto de ebulição mais elevado que o creosoto comum (mineral).</p> <p>Para aplicações domésticas, no meio rural, através dos métodos de pincelamento, pulverização e imersão da madeira.</p> <p>Elevada viscosidade, o que lhe confere alta resistência à lixiviação e volatilização, mas dificulta a sua penetração na madeira.</p> |
| Quinolinato de cobre-8 | <p>À base de quelatos de cobre, com derivados voláteis de petróleo.</p> <p>Incolor e inodoro.</p> <p>Muito eficaz como fungicida (principalmente contra fungos manchadores e emboloradores).</p> <p>Eficaz para madeiras verdes ou recém-abatidas.</p> <p>Sem interferência em pinturas posteriores.</p> <p>Muito baixa toxicidade para o homem e animais. Aprovado pela Administração de Alimentos e Medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i> - FDA) dos Estados Unidos, para o tratamento de embalagens de madeiras que ficam em contato com alimentos.</p> <p>Custo muito elevado e uso muito restrito.</p> |
| Naftenato de cobre | <p>Muito eficaz contra fungos.</p> <p>Eficaz em madeiras imersas, destinadas a embarcações de luxo, mas também em madeiras em contacto com o solo.</p> <p>Aplicação por pincelagem ou imersão.</p> <p>Confere coloração esverdeada à superfície.</p> <p>Custo muito elevado.</p> |
| Óxido de estanho tributílico (TBTO) | <p>Eficaz para madeiras fora do contato com o solo.</p> <p>Muito eficaz ação fungicida e bactericida.</p> <p>Baixa toxicidade para o homem e animais.</p> <p>Boa compatibilidade com acabamentos.</p> <p>Custo elevado e uso restrito.</p> |

Fonte: Adaptada de Jankowsky (1986) e Silva (2007).

4.3.3. Preservantes com solventes orgânicos tradicionais

Os preservantes com solventes orgânicos são produtos fungicidas e/ou inseticidas que precisam de ser diluídos com um veículo orgânico para penetrar na

madeira. O pentaclorofenol e o tribromofenol (TBP) têm sido os mais tradicionalmente usados. Na Tabela 9 apresentam-se algumas das suas características.

Tabela 9: Produtos preservantes com solventes orgânicos tradicionais mais comuns e características selecionadas.

| Produto | Caraterísticas selecionadas |
|---------------------|---|
| Pentaclorofenol | <p>É organoclorado, obtido pela reação entre o fenol e o cloro (C₆Cl₅OH).</p> <p>Grande resistência à lixiviação, por ser praticamente insolúvel em água, à temperatura ambiente.</p> <p>A dissolução em óleo <i>diesel</i>, ou gasóleo, não altera a coloração das superfícies, enquanto a utilização de óleo queimado e óleo de caldeira escurecem-nas.</p> <p>Não corrói os metais.</p> <p>Elevada toxicidade para os agentes xilófagos. Excelente ação fungicida e uma boa ação inseticida.</p> <p>Elevada toxicidade para o meio ambiente e extremamente prejudicial à saúde humana. Utilização atualmente proibida por lei.</p> <p>Apenas o seu sal sódico (pentaclorofenato de sódio) ainda é usado na prevenção de fungos manchadores em madeira recém-abatida ou recém-desdobrada.</p> |
| Tribromofenol (TBP) | <p>Substituto do pentaclorofenato de sódio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - mais barato; - menos tóxico para a saúde e ambiente; - menos eficiente. <p>Eficaz contra fungos manchadores e contra o <i>Lyctus</i> sp.</p> <p>Utilizado em muitos países da Ásia.</p> |

Fonte: Adaptada de Silva (2007).

4.3.4. Preservantes naturais alternativos

Diante a alta toxicidade e restrições a que são submetidos os preservantes tradicionalmente em uso, alguns produtos com menor nível de toxicidade estão a ser desenvolvidos e utilizados para preservar madeiras. As pesquisas apontam para

alternativas eficientes com uso de substâncias de origem natural que permitem inibir o desenvolvimento dos organismos fúngicos. Contudo, o acesso ainda apresenta alto custo (Bossardi & Barreiros, 2011).

As substâncias naturais estão representadas pelos extrativos de plantas aromáticas, como os óleos essenciais e os extratos de plantas venenosas, além dos óleos extraídos de sementes, por exemplo das sementes de neem (ou nim) (*Azadirachta indica* A. Juss) e de mamona (*Ricinus communis*) (Sbeghen, 2001; Goktas, Mammadov, Duru & Ozen, 2008). Também as madeiras produzem extrativos como o tanino, corantes, resinas, óleos, ácidos gordos e ceras, que se adequam como produtos de proteção das madeiras. O emprego desses produtos alternativos pode ser de forma isolada ou combinada com diluentes e produzem boa ação preservante para as madeiras (Gonzaga, 2006).

Outras alternativas foram testadas por Dias e Barreiros (2017) como o *Crude Tall Oil* (CTO), resíduo extraído do processamento de polpa de papel de árvores coníferas e seus subprodutos de refinação, o *Light Oil* (LO) e o Óleo Ejetor (OE), todos eles mostrando-se capazes de proteger a madeira da ação de fungos de podridão branca.

4.3.5. Procedimentos industriais e não industriais de aplicação

Os procedimentos de intervenção podem ser entendidos como métodos industriais e não-industriais e são sempre precedidos de inspeção e estudo prévios, sendo esses definidos conforme mais se ajustem aos contextos.

Os métodos industriais são processos de aplicação por pressão em autoclave, mais sofisticados, utilizados em madeiras que vão ser utilizadas em locais onde há o risco de deterioração ou atividade efetiva e contínua de insetos. Portanto, não são métodos que se possam utilizar para o tratamento de madeiras em serviço como as estruturas de cobertura dos edifícios históricos. No entanto, são aqui descritos os mais utilizados na atualidade para madeiras recém-abatidas. Esses tratamentos são realizados em grandes equipamentos industriais e estão subdivididos como Célula Cheia e Célula Vazia. O

primeiro pode ser observado nos métodos *Bethell*, *Burnett*, Duplo Vácuo e *Cellon* ou *Drilon 30*, em que utiliza o vácuo para extrair o ar contido no interior das células do tecido vegetal e facilitar a penetração profunda do produto de preservação. No procedimento de Célula Vazia, podem referir-se os métodos *Rüping*, *Lowry* e *MSU*, em que não ocorre o vácuo inicial para que o ar saia do interior das células vegetais (Ravasi & Lilge, 2012a).

Os procedimentos não industriais são vistos como os mais convenientes para intervenções de manutenção em madeiras de coberturas, o que está relacionado com o tamanho e a dificuldade na desmontagem das estruturas e, portanto, com a impossibilidade de serem tratadas fora do seu *locus*. Considerados simples e de baixo custo de investimento, não é usada pressão e, dessa forma, a penetração do produto atinge uma moderada profundidade. Contudo, proporcionam bons resultados na prevenção da ação de organismos deterioradores e na extensão da vida útil da madeira em serviço. São facilmente aplicáveis, sem a necessidade de mão-de-obra qualificada, realizados com materiais ou equipamentos elementares. Porém, ressalta-se que esses processos só se justificam se forem bem executados para que o material fique adequadamente tratado preventivamente. Na atualidade, os métodos mais utilizados de aplicação de produtos são por pincelagem, pulverização, difusão, substituição de seiva (capilaridade), imersão simples ou prolongada, banho quente-frio e o processo de *Boucherie*¹ (Ravasi & Lilge, 2012b; Moreschi, 2013b). A seguir, são descritos os mais utilizados, isto é, por pincelagem e por pulverização:

a. Aplicação por pincelagem

A aplicação é feita com pincel sobre a superfície da madeira seca e os produtos utilizados podem ser líquidos ou diluídos em algum solvente, para permitir maior penetração, retenção, homogeneidade e melhor eficácia. Para tanto, as especificações exigidas para os produtos e aplicação devem estar em conformidade com os requisitos

¹ Processo desenvolvido por Auguste Boucherie, em 1838, para preservar madeira verde em forma de toras. Usava a pressão para introduzir o produto por uma extremidade e, pela outra, expelia a seiva (Moreschi, 2013b).

do fabricante. Os produtos oleosos e os com solventes orgânicos possuem maior capacidade de penetração e, portanto, são mais eficazes que os produtos aquosos que, devido à afinidade da água com a madeira (celulose), costumam fazer inchar o material e dificultar a absorção do produto (Moreschi, 2013b).

b. Aplicação por pulverização

A aplicação por pulverização de produtos preservantes tem efeito similar ao obtido por pincelagem. Contudo, aumenta o risco de contaminação do ambiente. No entanto, pode ser interessante quando a aplicação por pincel for impraticável, por se não poderem atingir determinadas superfícies na estrutura, como pequenos espaços e encaixes de peças estruturais já montadas (Moreschi, 2013b).

4.3.6 Toxicidade e impactes ambientais

O risco para a saúde humana e para o ambiente pelo uso de um produto químico depende tanto da sua reatividade como do nível de toxicidade exibido sob certas condições de exposição. A aplicação desses produtos nem sempre garante a segurança desejada. Portanto, deverá ser feita uma avaliação criteriosa prévia à sua utilização.

As reações produzidas por produtos químicos usados na proteção das madeiras de coberturas podem representar sérios riscos para a saúde humana e para a contaminação do ar ambiente. É possível que reações tóxicas ocorram pela interação com outros produtos que tenham sido aplicados anteriormente nas madeiras. Também o oxigénio do ar, a luz e/ou a água podem interagir com substâncias reativas e dar origem a novas substâncias. Portanto, o melhor critério para evitar o risco é conhecer as substâncias que constituem os produtos químicos e o grau de compatibilidade para o seu uso (Brickus & Aquino Neto, 1999).

A presença de substâncias tóxicas em ambientes confinados de coberturas poderá comprometer a qualidade do ar nesses locais, com consequências deletérias para a saúde dos profissionais que executam os serviços de inspeção e manutenção

dessas estruturas (Homem, 2013). Portanto, o motivo de preocupação reside nos efeitos tóxicos residuais causadores de irritações nas vias respiratórias e olhos, podendo evoluir para infecções, além do efeito carcinogénico de algumas substâncias. Desta forma, recomenda-se que sejam utilizados apenas nos locais onde não haja exposição humana prolongada (Fonseca, Marchi & Fonseca, 2008). Há também que considerar os seus efeitos tóxicos em outros ambientes internos existentes na construção, que se encontram abaixo dos locais de cobertura, causando impactes lesivos tanto aos ocupantes na edificação como também a toda uma gama de estruturas (WHO, 2011), para além dos efeitos nos materiais de suporte aos acervos museológicos (Homem, 2013).

Muito se tem tentado desenvolver em prol do controlo e diminuição do seu uso e das suas consequências nocivas. De acordo com a Organização Internacional do Trabalho (OIT), está em andamento um diverso trabalho de mobilização e conscientização junto a governos, empregadores e trabalhadores para agirem contra essas exposições. A OIT estimou ter havido, no ano de 2004, 35 milhões de casos de intoxicação ou mesmo óbitos, relacionados com a exposição direta e indireta aos produtos químicos (Kato, Garcia & Wünsch Filho, 2007).

No que diz respeito às madeiras de estruturas e elementos existentes nas construções, Singh (2000) destaca a grande preocupação das autoridades de saúde ambiental e o seu incentivo ao esforço de desenvolvimento de soluções alternativas.

Potencial estratégia alternativa na intervenção de preservação: A radiação UV-C

Foi o físico de origem alemã Johan Ritter que, em 1801, identificou a região ultravioleta (UV) do espectro eletromagnético ao aperceber-se da oxidação do cloreto de prata quando exposto à luz do sol. Constatou que o facto fora causado por uma forma de radiação impercetível, para além do limite do violeta, que integra o espectro luminoso, dando origem à sua denominação, no final do século XIX. Tem como fonte natural a luz solar, energia radiante que se propaga na forma de ondas eletromagnéticas constituídas por partículas carregadas de fótons. No espectro eletromagnético (Figura 16), estas ondas encontram-se na região não-ionizante que compreende o intervalo entre o espectro visível e raios-X, entre 100 e 400 nm (nanômetros), descrita por Koutchma, Forney e Moraru (2009) como intervalo germicida pela capacidade de inativar os microrganismos.

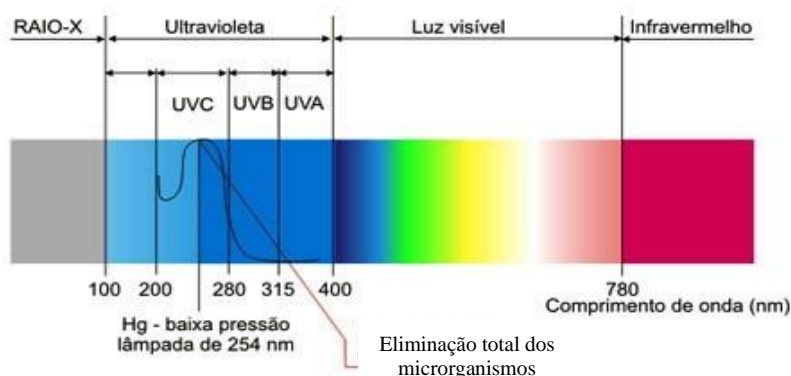


Figura 16: Espectro eletromagnético com destaque para o intervalo da radiação na faixa do ultravioleta (Lanza, 2016, p. 1).

A região UV integra radiações eletromagnéticas que possuem alta energia e está dividida em três bandas: ultravioleta A (UV-A), ultravioleta B (UV-B) e ultravioleta C (UV-C). Considerando o seu comprimento da onda, podem interagir diferenciadamente com a matéria (Tabela 10) e possuem diferente capacidade de penetração na atmosfera terrestre e a incidência sobre a superfície dos materiais (Koutchma et al., 2009).

Tabela 10: Bandas primárias da região ultravioleta e suas características.

| Banda | Comprimento de onda | | Caraterísticas |
|-------|---------------------|-----------|-----------------|
| | Classificação | (nm) | |
| UV-A | Longo | 315 - 400 | Não germicida |
| UV-B | Médio | 280 - 315 | Eritematogénica |
| UV-C | Curto | 200 - 280 | Germicida |
| | | 100 - 200 | Região do vácuo |

Fonte: Adaptada de Batistuzzo, Itaya e Eto (2006)

Considerando as três bandas, a da radiação UV-A possui o comprimento de onda mais longo. Não é absorvida pela camada de ozono e facilmente incide na superfície terrestre. A da UV-B possui comprimento de onda moderado, é parcialmente absorvida pela camada de ozono e atinge também a superfície. A da UV-C enquadra os comprimentos de onda mais curtos e totalmente absorvidos pela camada de ozono. Sendo os de maior energia, exibem características germicidas que permitem inativar e matar uma extensa gama de microrganismos (Scheer, 2017).

Conforme salienta Aguiar et al. (2002), apesar das regiões UV estarem definidas e o efeito germicida da faixa que compreende o intervalo UV-C ser conhecido desde 1878, as primeiras aplicações com tecnologia UV confiáveis ocorreram apenas passados 77 anos, na Suíça e na Áustria, no tratamento de águas. Durante esse intervalo, não houve grandes impulsos para a sua utilização devido ao baixo nível de confiança no recurso e processo tecnológico. Contudo, no ano de 1930, foram desenvolvidos novos estudos que demonstraram a eficácia da radiação UV-C como na descontaminação do ar ambiente (Riley & O'Grady, 1961; Xu et al. 2003) e a sua aplicação para inativar

microorganismos presentes na água passou a ser amplamente utilizada desde 1990 (Bolton (2000)).

A radiação UV-C, na banda dos 200 a 280 nm, destaca-se, assim, como um dos principais agentes responsáveis pelo controlo de fungos e bactérias, com capacidade para reduzir o inóculo de propágulos importantes e permite limitar a sua dispersão no ambiente. Pelo seu efeito germicida, tem sido utilizada como um dos vários processos de higienização e desinfeção de superfícies em diferentes substratos, originando significativas reduções da carga microbiana (Bintsis, Litopoulou-Tzanetaki & Robinson, 2000; Zabel & Morrell, 2020). A partir deste pressuposto, a radiação UV-C poderá ser um potencial eficaz agente físico em processos auxiliares de preservação, pelo controlo do desenvolvimento de fungos, contribuindo para a manutenção e conservação das madeiras, principalmente em locais de difícil acesso e serviço, prolongando a sua vida útil.

5.1. Princípios e campos conhecidos de aplicação: Desinfeção e esterilização

A radiação UV-C está a ser largamente aplicada em processos físicos, com importantes conquistas no campo científico e industrial, obtendo êxito como técnica alternativa aos métodos químicos para inativação e ação de redução e controlo microbiano, isto é, para desinfeção e esterilização. Os dois procedimentos diferem quanto à capacidade de eliminação dos esporos microbianos. Desinfeção é o processo que elimina todos os microorganismos ou objetos inanimados patológicos, com exceção dos endosporos bacterianos. Portanto, não elimina totalmente todas as formas de vida microbiana. A eliminação ou destruição completa de todas as formas de vida microbiana alcança-se apenas através da esterilização (Kalil & Costa, 1994).

De acordo com Montgomery (1985), a radiação UV-C age por transferência de energia, interferindo na biossíntese, eliminando ou retardando o crescimento dos organismos infetantes. Penetra apenas superficialmente, em consequência da fraca intensidade com que atinge a matéria, que é de 0,08 mm (Hon & Chang, 1984), e está a

ser utilizada, principalmente, sobre superfícies em áreas onde a contaminação tende a ser constante, locais ou zonas cujos agentes infetantes são transportados pelo movimento do ar e se depositam sobre a superfície dos produtos e materiais (Borrego et al., 2012).

Assim, em conformidade com Bintsis et al. (2000), a intensidade da radiação UV-C empregue é muito importante nos processos de desinfeção, sendo expressa como irradiância (E_e) ou intensidade de fluxo ($W.m^{-2}$). O processo de irradiação consiste em expor os microrganismos presentes nas superfícies a uma dose de radiação de efeito germicida, definindo-se dose como a intensidade de energia luminosa que incide numa área e num determinado tempo de exposição. Geralmente, é expressa como exposição radiante (J/m^2 ou kJ/m^2). A eficácia germicida da dose tem relação direta com a sensibilidade apresentada pelos diferentes microrganismos a expor à radiação UV-C. Quando a dose da radiação não é aplicada corretamente, existe o risco de ocorrer fotoreativação, um problema ocasionado pela recuperação indesejada do ácido desoxirribonucleico (ADN) de uma parcela dos microrganismos que foram inativados. Por isso, ao expor o microrganismo a uma dose subletal de radiação UV-C, isso pode reverter as reações fotoquímicas e haver a recuperação da atividade microbiana, ou pode danificar e enfraquecer a superfícies do substrato, favorecendo a proliferação dos patógenos (Fan, Huang & Chen, 2017). Logo, é importante a utilização de uma dosagem correta para atingir o efeito germicida desejado.

O método de obtenção de radiação UV-C consiste no recurso a fontes de iluminação artificial, isto é, de lâmpadas. Nessas, a emissão radioativa é obtida através de um tubo de quartzo muito transparente contendo uma mistura de vapores de mercúrio ou xénon, geradora de uma descarga elétrica capaz de excitar os átomos que, ao voltarem ao estado normal de energia, emitem radiação no comprimento de onda UV-C (Lucas, 2003). No comércio encontram-se disponíveis lâmpadas de de vapor de mercúrio de baixa (*Low Pressure Mercury* - LPM) e média pressão (*Medium Pressure Mercury* - MPM), lâmpadas de excimer (*Excimer Lamps* - EL), lâmpadas pulsadas (*Pulsed Lamps* - PL) e díodos emissores de luz (*Light-Emitting Diode* - LED). As mais utilizadas são

as de mercúrio de baixa pressão que emitem, primordialmente, luz monocromática e cerca de 85% da sua energia no comprimento de onda de 254 nm, que é a radiação de maior efeito germicida. São, portanto, consideradas fontes confiáveis nas intervenções para a desinfecção de natureza diversa, de qualidade e baixo custo, com relativa simplicidade operacional e de funcionamento (Daniel, 2001; Cavicchioli & Gutz, 2003; SCHEER, 2017).

Em estudo sobre a capacidade da radiação UV causar alterações aos microrganismos, vários autores (López-Malo & Palou, 2005; Tseng & Li, 2007; Duck Health, 2017), fazem referência ao espectro da radiação UV-C na faixa germicida de comprimento de onda entre 200 – 265 nm, com pico de emissão a 254 nm (Figura 17), atendendo ao facto da vulnerabilidade dos microrganismos ser considerada de melhor absorção pelo ADN até 260 nm e, portanto, capaz de causar um dano letal ao microrganismo. Comprimentos de onda superiores a 300 nm anulam tal efeito letal.

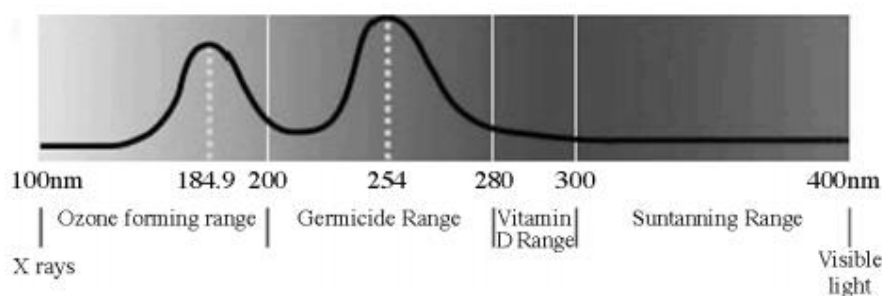


Figura 17: Espectro da radiação UV, salientando a banda de 254 nm de radiação produzido por uma lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão (Lucas, 2003, p. 333).

O ADN, constituído por dois filamentos em forma helicoidal e quatro nucleotídeos ligados por pontes de hidrogénio, é a estrutura molecular que carrega toda a informação genética da célula, sendo responsável pela replicação microbiana e síntese proteica e considerado o elemento constituinte mais sensível do microrganismo. Quando atingido pela radiação UV-C, ocorre a rutura das pontes de hidrogénio, que se afastam e não se conseguem voltar a unir (Figura 18). Isto gera desestruturação e

alteração celular que impede o processo de replicação dessa molécula. Conseqüentemente, reduz a carga microbiana por inviabilizar o desenvolvimento e a reprodução do microrganismo (Cutler & Zimmerman, 2011).

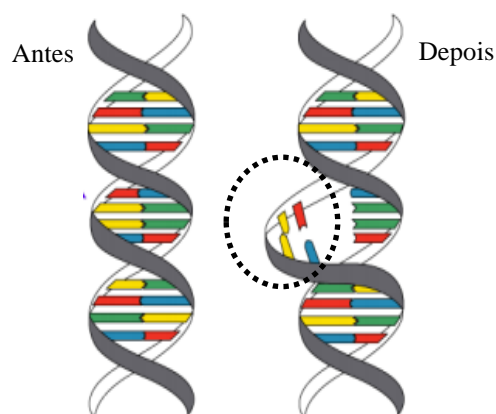


Figura 18: Rutura das pontes de hidrogênio em cadeia de ADN após ser submetido a radiação UV-C, adaptado de Allen (2001, p.1).

Como exemplos de contextos de sucesso da radiação UV-C, podem ser citadas as aplicações em líquidos (Henrique, 2015), ar ambiente (Napolitano, Mahapatra & Tang, 2015; Liu, Tseng, Wang, Dai & Shih, 2019), frutos, legumes, tubérculos, oleaginosas (Liu et al., 1993; Crisosto, Seguel & Michailides, 1997; Stevens et al., 1998; Machado, Coutinho & Antunes, 2005; Bassetto, Amorim, Benato, Gonçalves & Lourenço, 2007; Cia et al., 2009; Terao et al., 2019) e materiais inorgânicos variados (Silva, 2000; Ozcelik, 2007; Alexandre et al., 2008).

Na área da museologia e da conservação de bens culturais, a radiação UV foi utilizada inicialmente para identificação de alterações nas pinturas a óleo, como o craquelê, e caracterização de pigmentos. Para além de pinturas a óleo sobre tela, Rorimer (1931) realizou experiências no acervo do *Metropolitan Museum of Art*, em Nova Iorque, com o objetivo de examinar o estado de conservação e enquadrar a idade de alguns objetos de coleções de arte em marfim, mármore, cerâmica, têxtil e madeira. Mostrou-se também eficiente no exame de objetos arqueológicos, explorando-se alguns dos seus fenômenos.

Conforme realça Cosentino (2015), a radiação UV pode ser utilizada em métodos técnicos fotográficos, como a fluorescência UV (*Ultraviolet Fluorescence* - UVF) e a refletância UV (*Ultraviolet Reflectance* - UVR), considerados seguros e não invasivos para uso na caracterização de materiais, avaliação do estado de conservação de artefactos e revestimentos, como vernizes, detecção de intervenções de conservação e restauro anteriores e de crescimento fúngico nas superfícies das obras. Warda et al. (2011) salientam que, para essas intervenções, a dose de radiação UV deve ser mantida dentro de um limite razoável para possibilitar o seu emprego sem, no entanto, especificar esse limite.

Em busca de soluções para desinfecção em espaços culturais constantemente expostos a agentes biológicos nocivos para os profissionais e frequentadores, Gutarowska, Pietrzak e Skóra (2014) recorreram à aplicação da radiação UV no comprimento de onda germicida de 254 nm, em superfícies e ar ambiente em áreas de depósitos em arquivos e bibliotecas e reservas em museus, conseguindo significativa redução da carga microbiana. O mesmo recurso apresentou-se promissor, com ótimos resultados em materiais de embalagem e acondicionamento de artefactos em museus, conforme foi observado nos estudos desenvolvidos por Elamin, Takatori, Matsuda, Tsukada e Kirino (2018).

5.2. Vantagens e limitações

As investigações relacionadas com a desinfecção e esterilização com recurso à radiação no comprimento de onda germicida de 254 nm, inclusive em contexto museológico, têm demonstrado, portanto, significativa redução da incidência de fungos sobre superfícies e ampliação da vida útil de diferentes produtos.

Estudos para avaliar a ação específica de desinfecção de isolados fúngicos sob o efeito da radiação UV-C emitida por lâmpadas germicidas foram dirigidos por Nowakowicz-Dębek, Wlazło, Krukowski¹, Pawlak e Trawińska (2013), que destacam a sua capacidade para diminuir o tamanho das populações de fungos do género

Penicillium sp., *Aspergillus sp.* e *Aspergillus fumigatus* e/ou reduzir a disseminação de algumas espécies fúngicas e também bacterianas sobre superfícies sólidas. Também Guerreiro-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2004) e Begum, Hocking e Miskelly (2009) destacam que a radiação UV-C está a ser perspectivada como alternativa vantajosa relativamente às intervenções em que se utilizam produtos químicos.

Assim, podem sintetizar-se as seguintes vantagens: Trata-se de um processo físico em que se recorre a energia como agente germicida; que não é tóxico e, portanto, não causa prejuízos ao meio ambiente nem aos utilizadores e não produz resíduos químicos; não aquece a superfície do produto tratado; não gera radioatividade ionizante; é realizado a seco; tem ação imediata; a dose é pequena em relação ao tempo de aplicação da radiação; a sua utilização é simples; consome pouca energia; e é de baixo custo, se comparada aos demais processos existentes (Koutchma et al., 2009).

Em contraponto, podem ser referidas como limitações a capacidade de reparação do dano causado ao ADN microbiano, em caso de ser empregue uma dose subletal, e o facto de possuir penetrabilidade limitada em materiais mais densos (Gardner & Shama, 2000). Usualmente, superfícies duras e resistentes, materiais granulares e diversos tipos de embalagens tais como as plásticas, cartão, metal e vidro, necessitam de receber irradiação intensa e direta para que sejam descontaminadas.

As superfícies com texturas irregulares, onde, geralmente, se depositam partículas sólidas, apresentam um nível de dificuldade maior em relação à intervenção com radiação UV-C. Tal textura provoca um “efeito de sombra”, ou seja, a acumulação de partículas nas reentrâncias pode servir de barreira e proteger parte dos microrganismos da incidência direta da radiação (Alexandre et al., 2008). Isso ocorrendo, uma porção da radiação é absorvida pelas partículas e os microrganismos recebem menos ou não são atingidos. Com isso, haverá uma redução da incidência uniforme de radiação sobre a superfície do material, atenuando a intensidade da radiação para transpor a matéria (Bintsis et al., 2000; López-Malo & Palou, 2005). Logo, para melhor atingir um efeito deletério sobre os microrganismos, torna-se necessária uma limpeza prévia da superfície para que a aplicação da radiação germicida se realize

de modo intenso e direto sobre a região que se deseja desinfetar (Hon & Chang, 1984). Portanto, a limpeza prévia dos materiais a serem irradiados determina o nível de eficiência do processo e, como recurso complementar para garantir tal eficiência, o ar ambiente pode também receber aplicação de radiação UV. De acordo com as indicações de Bintsis et al. (2000), deve considerar-se a limpeza e o prazo de validade da lâmpada, fonte irradiadora, e, se necessário, podem realizar-se irradiações com curtos intervalos de tempo, a fim de assegurar melhor eficiência no processo de descontaminação em relação ao efeito sombra. Não obstante, não dá indicações quanto ao tempo de tais intervalos.

Outra dificuldade regista-se no caso de a superfície receber doses de radiação de comprimento de onda inferior a 200 nm, consideradas insuficientes como recurso de efeito letal, não atingindo o propósito microbiocida de inibir o crescimento das estruturas reprodutivas dos fungos (Cardoso, 2007). Além disso, a sua eficácia está dependente das espécies de fungos que se desenvolvem sobre a superfície, das condições ambientais, do tempo e quantidade de radiação a que o material está sujeito (Begum et al., 2009).

A incidência de radiação UV nas madeiras pode causar reações indesejadas, acarretando a sua deterioração por esvanecimento, fissuração e fratura, tornando-se mais acentuada quando associada à HR elevada (Acevedo et al., 2013). Para conhecer o nível de dano na superfície das madeiras, Anderson, Pawlak, Owen e Feist (1991) utilizaram uma câmara de envelhecimento acelerado, na qual experimentaram três procedimentos distintos: envelhecimento apenas com radiação UV, apenas com HR elevada e os dois conjuntamente. Concluíram que o procedimento que contou unicamente com aplicação da radiação UV resultou em mudanças muito brandas nas propriedades químicas da madeira à superfície.

Oliveira, Monteiro, La Scala Júnior, Barbosa e Mochi (2016) destacam os estudos realizados por Wraight, Inglis e Goettel (2007), voltados para a sensibilidade de esporos e para os efeitos da radiação solar (rica em radiação UV) sobre isolados fúngicos, que evidenciam a capacidade da radiação UV diminuir o tamanho das populações de fungos

e/ou reduzir a disseminação de algumas espécies no ambiente, além de possibilitar a redução do uso de fungicidas químicos. É de ressaltar que existem diferenças entre os microrganismos quanto à sensibilidade à radiação UV, que pode variar conforme a espessura e composição da parede celular, a presença de proteínas absorventes de UV ou as diferenças na estrutura dos próprios ácidos nucleicos (Koutchma et al., 2009). Além disso, muitas espécies fúngicas apresentam resistência à radiação UV devido à produção de melanina, que lhes confere vantagens pela maior proteção a uma ampla faixa do espectro eletromagnético (Walker et al., 2010). Contudo, determinados níveis de radiações ionizantes estimulam o crescimento e proliferação desses fungos (Robertson et al., 2012).

Perante estudos acerca do uso da radiação UV-C, Guedes et al. (2009) fazem referência aos trabalhos desenvolvidos por Rysstad e Kolstad (2006) e por Günter, Kapulstina, Popeyko e Ovodovi (2007), que investigam probabilidades de maiores benefícios no uso da radiação UV para outras aplicações e propósitos, para além dos já conhecidos e atuais.

Apesar do uso da radiação UV-C apresentar importantes aplicações no campo científico em diversos processos e métodos destinados à desinfecção e controlo de agentes nocivos que se desenvolvem sobre diferentes substratos, não foram encontradas referências a estudos sobre tratamentos com atuação da radiação UV-C em superfícies de materiais densos como as madeiras. Contudo, tendo em conta o que se enumerou, é potencialmente promissora a estratégia de utilização dessa radiação na preservação de madeiras.

Parte II

Estudo laboratorial de caráter exploratório

Contextos históricos de interesse e suporte à experimentação

6.1. Objetivos e critérios de seleção e enquadramento ambiental geral

Embora se pretendesse desenvolver um estudo laboratorial de caráter exploratório, considerou-se de interesse ter um contexto histórico e patrimonial real como suporte a ponto de partida e operacionalização do processo de investigação, para determinação do género e/ou das espécies fúngicas mais frequentes nas colonizações microbiológicas das madeiras desses contextos, como representantes de outros similares. Atendendo às suas características ambientais distintas e pretendendo ainda contribuir para o conhecimento e tomada de decisão informada quanto às realidades portuguesas e brasileiras, consideraram-se estruturas em madeira de cobertura de edifícios históricos dos dois países. Como critérios orientadores, edifícios com coberturas tradicionais, de armações em madeira, de acesso fácil, em estado de conservação similar e bom, e enquadrados no mesmo período de construção. Nesse sentido, os edifícios selecionados foram a igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, localizada na cidade de Salvador - Brasil, e a igreja Matriz de Santo Ildefonso na cidade do Porto – Portugal, ambas do século XVIII.

Conservar essas madeiras de estrutura condiciona ao controlo de diferentes fatores, sendo os índices de Temperatura (T) e de Humidade relativa (HR) os mais importantes. Quando elevados, esses índices são propícios à proliferação de agentes biológicos nas madeiras, principalmente naquelas que se encontram em locais com pouca ventilação, luminosidade e sujeitos a uma manutenção escassa.

6.1.1. Caracterização ambiental sumária

A cidade de Salvador está inserida numa região metropolitana que tem como coordenadas geográficas a latitude de -12.9704 e a longitude de -38.5124 ($12^{\circ} 58' 13''$ Sul, $38^{\circ} 30' 45''$ Oeste), uma área de $693,29 \text{ km}^2$ e cuja altitude é de 12 m em relação ao nível do mar (Cidade-Brasil, 2018). Na Figura 19 observa-se a sua localização, no litoral do Estado da Bahia, que compõe a Federação Brasileira, conforme Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

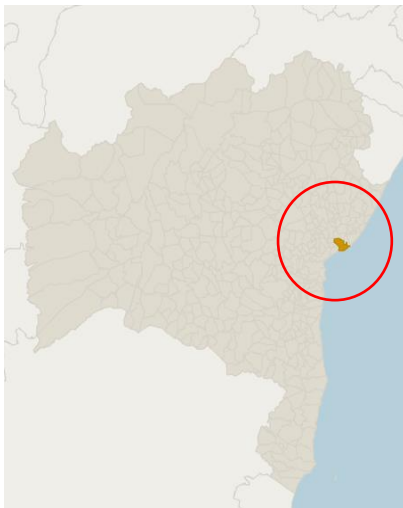


Figura 19: Localização da cidade do Salvador no estado da Bahia (IBGE, 2019).

O clima de Salvador é caracterizado como tropical húmido com influência de massa tropical marítima, com chuvas ao longo de todo o ano. Em geral, mantém uma temperatura média em torno de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 20). Dificilmente este índice de T é inferior a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ou superior a $33 \text{ }^{\circ}\text{C}$, com verões quentes e invernos mornos com muita precipitação (Cavalcanti, Ferreira, Dias & Silva, 2009).

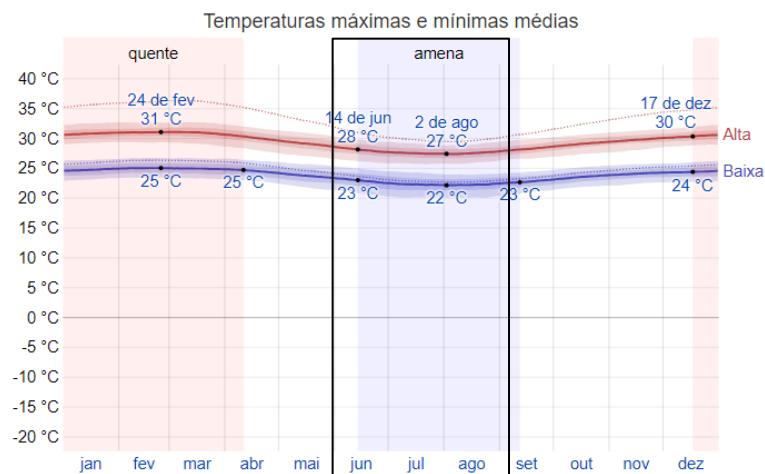


Figura 20: Temperaturas máximas e mínimas médias anuais em Salvador (Weather Spark, 2018).

Em relação à HR, a sua variação sazonal é considerada moderada, com uma média anual de 92% para praticamente todos os meses do ano. É observada uma diminuição gradual entre os meses de junho e julho, e uma subida em agosto, de acordo com a Figura 21 (Weather Spark, 2018).



Figura 21: Humidade relativa média anual em Salvador (Weather Spark, 2018).

A cidade do Porto (Figura 22), onde a igreja de Santo Ildefonso está edificada, é um distrito com área de 2395 km², o 17.º maior distrito português, e está situado ao Norte do país.



Figura 22: Localização da cidade do Porto, modificado a partir de Maps Portugal (2019).

O distrito do Porto possui um clima classificado de temperado mediterrâneo. Na Figura 23 observa-se que os meses de julho, agosto e setembro correspondem à estação do verão, e apresentam uma temperatura máxima diária acima de 22 °C e mínima média de 15 °C (Weather Spark, 2018).

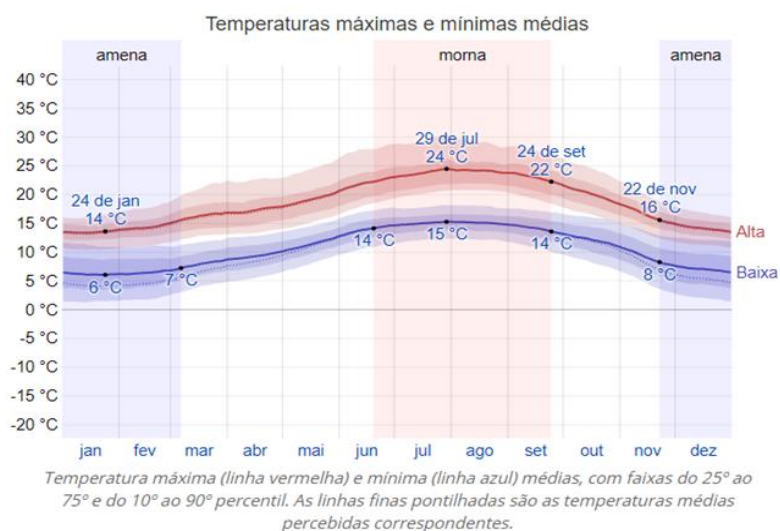
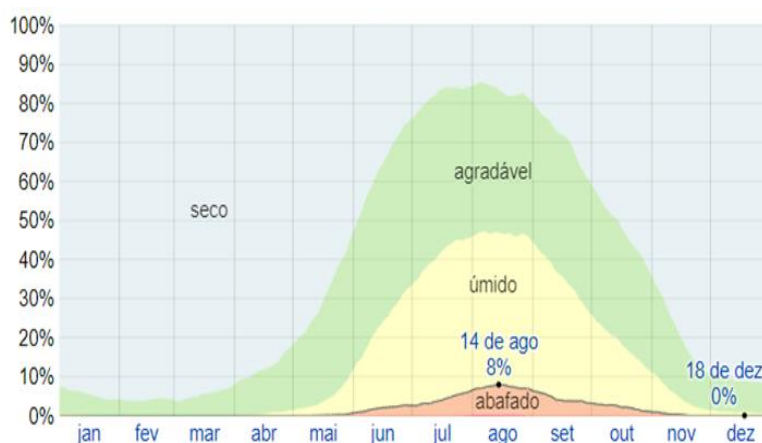


Figura 23: Temperatura máxima (linha vermelha) e mínima (linha azul) médias anuais no Porto (Weather Spark, 2018).

A mesma base de dados aduz que a HR no Porto não tem grandes variações ao longo do ano (Figura 24), apresentando, entre julho e setembro, níveis muito baixos, considerados abafados, variando entre 1% a 7% (Weather Spark, 2018).



Percentagem do tempo passado nos vários níveis de conforto de humidade, caracterizados pelo ponto de orvalho: 13°C < confortável < 16°C < húmido < 18°C < abafado < 21°C < opressivo < 24°C < extremamente húmido

Figura 24: Humidade relativa média anual no Porto (Weather Spark, 2018).

6.2. A Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, Salvador, Brasil

A igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia, (Figura 25) é considerada monumento nacional, está classificada como Imóvel de Interesse Público e inscrita no livro de tombo pelo Instituto de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) (Decreto nº 25, 1937). A primeira construção ocorreu entre os anos de 1549 e 1623, existindo referência sobre uma segunda construção, sem data exata. Esse segundo templo foi demolido em 1736 e, em seu lugar, foi construído um novo edifício cujo projeto, atribuído a Manuel Cardoso de Saldanha, foi enviado de Portugal para ser executado em calcário de tipo lioz, típico da região de Lisboa, nomeadamente de Sintra. Exibe estilo marcante, característico da arquitetura portuguesa do Alentejo, tendo sido inaugurado no ano de 1765 (Azevedo & Lima, 1997).



Figura 25: Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia em Salvador, Bahia, Brasil. © Rita Doria.

A igreja situa-se dentro dos limites metropolitanos da cidade de Salvador, em zona denominada “cidade baixa”, e fazendo parte do centro histórico da cidade (Figura 26). É uma área rochosa, à beira de uma encosta e muito próxima ao mar. O monumento está ladeado por outros edifícios de igual valor histórico, artístico e cultural, sendo, maioritariamente, datados dos séculos XVIII e XIX (Azevedo & Lima, 1997).

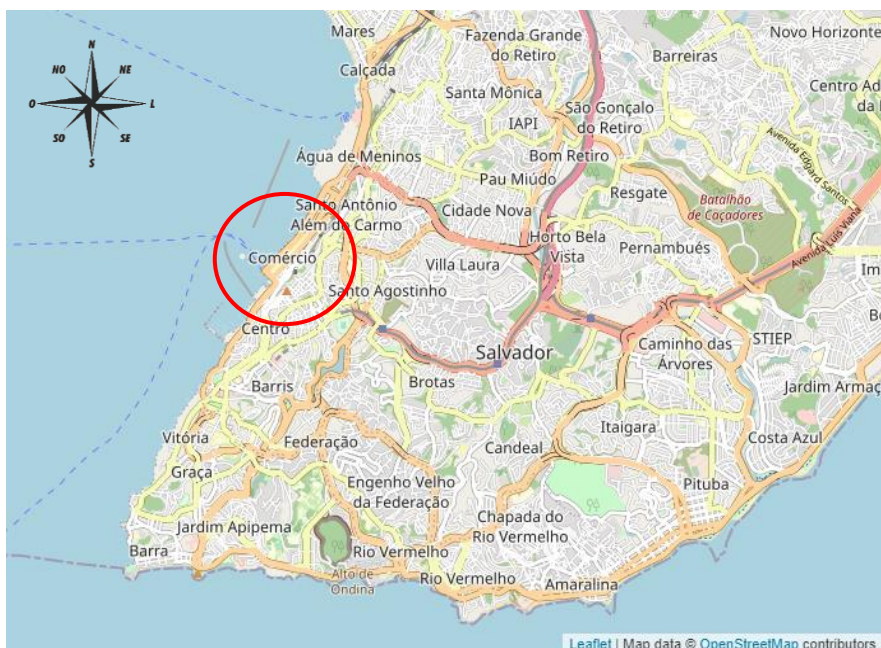


Figura 26: Localização geográfica da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia, em Salvador, adaptado de Cidade-Brasil (2018).

6.2.1 Sistema de cobertura

A cobertura da igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia possui uma estrutura em madeira coberta com telha de cerâmica. É formada por duas águas e seis tacaniças, tendo a fachada principal voltada para o quadrante Noroeste. Estes detalhes podem ser observados na Figura 27.

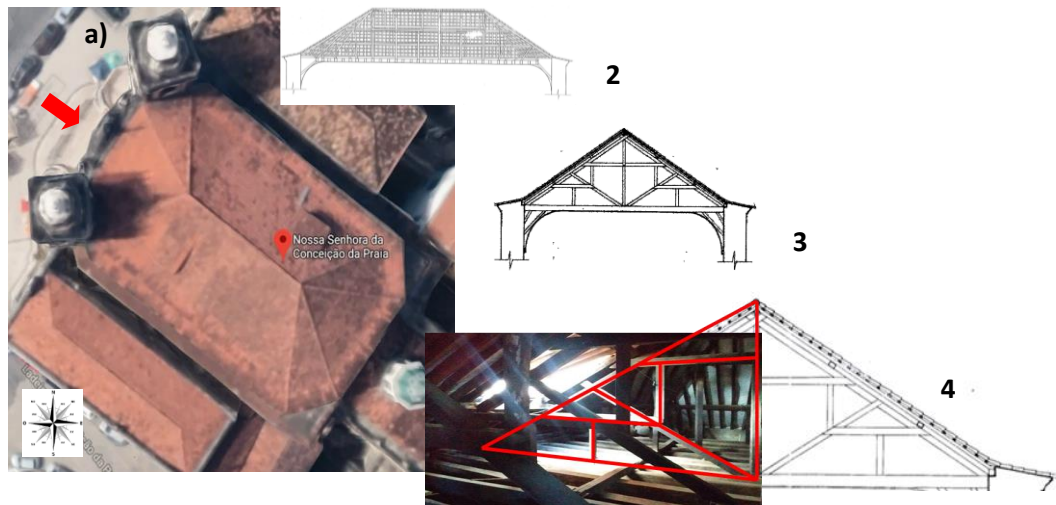


Figura 27: Estrutura de cobertura da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia:
a) Vista aérea (Google Maps, 2018);
b) e c) *Croquis* em vista lateral e frontal da estrutura (Arquivo do IPHAN);
d) Interior. © Rita Doria.

Com o decorrer dos anos, a igreja passou por várias obras de restauro e foram as estruturas em madeira da cobertura que mereceram maior atenção e foram alvo de mais intervenções. Em 1986 ocorreu uma completa reforma de todo o madeiramento das armações, assim como a troca do telhamento da cobertura que preservava ainda características originais (Azevedo & Lima, 1997). Não foram encontrados registos sobre o género ou espécie de árvore cuja madeira foi utilizada na estrutura original. Contudo, análises taxonômicas realizadas em diferentes partes da estrutura reabilitada (Doria, 2005), indicaram que a espécie de madeira existente é a *Manilkara elata* (Fr. All.) Monac, vulgarmente conhecida por Maçaranduba.

6.3. A Igreja Matriz de Santo Ildefonso, Porto, Portugal

A Igreja Matriz de Santo Ildefonso (Figura 28) teve um processo de edificação longo, entre os anos de 1709 e 1739. Encontra-se classificada como Imóvel de Interesse Público (IIP) (Decreto nº 129, 1977).



Figura 28: Igreja de Santo Ildefonso no Porto.

© Rita Doria.

Belo exemplar da arquitetura religiosa da cidade do Porto, nela são observadas características nos estilos barroco, neoclássico e neobarroco. Apresenta nave em formato octogonal ao centro e capela-mor com retábulo em talha, cuja construção decorreu entre 1730 e 1737. Em 1739, as torres foram integradas e, para tanto, foi necessário um avanço na fachada principal que passou a exibir duas cruzes, uma atrás da outra, a representar ambas as fases de construção sofridas pela igreja (Briosa, 2012). No século XX o pavimento da nave foi renovado com madeira de Riga Nova. Atualmente, as estruturas que sustentam a cobertura, completamente restauradas, são em madeira de Abeto, conforme informação pessoal do arquitecto vinculado ao projecto, Dr. Joaquim Coimbra S. da Silva².

Geograficamente, está enquadrada na Baixa Portuense, área em que

² Arquitecto e engenheiro civil, doutor pela Escola Técnica Superior de Arquitectura da Universidade de Valladolid – Espanha. Representante da Direcção-Geral do Património, do Ministério das Finanças, nas Comissões Mistas de Coordenação, Técnicas de Acompanhamento de Território e Desenvolvimento Urbano, Coordenação e Desenvolvimento Regional e outros.

predominam imponentes e importantes edifícios histórico desta cidade, e próxima da Foz do Douro (Figura 29).



Figura 29: Localização geográfica da Igreja de Santo Ildefonso no Porto (Michelin, 2020).

6.3.1. Sistema de cobertura

A armação que forma o sistema de cobertura da Igreja de Santo Ildefonso é constituída por um conjunto de elementos denominados tesouras de linha suspensa ou canga de porco e que, em Portugal, são chamadas asnas de linha alta. Neste formato de estrutura, as pernas ou empenas são longas e apoiadas sobre a alvenaria das paredes, e recebe a linha alta, que é colocada para travamento da tesoura, a fim de formar um quadro rijo e evitar a flexão das pernas e os empuxos laterais, como mostra a Figura 30 (La Pastina Filho, 2005).

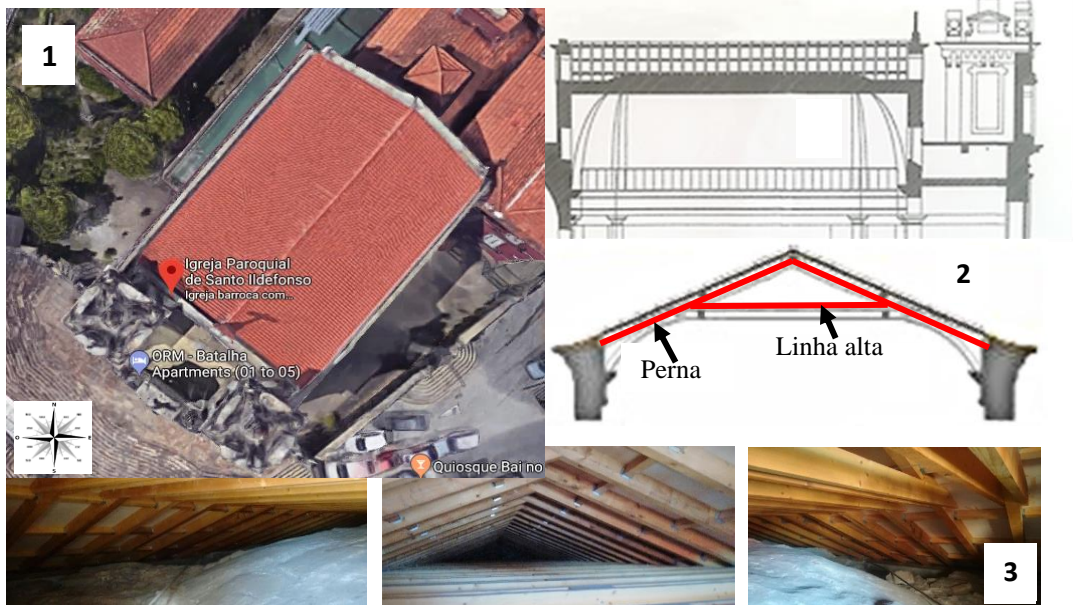


Figura 30: Estrutura de cobertura da Igreja de Santo Ildefonso:

1: Vista aérea (Google Maps).

2: *Croquis* em vista lateral e frontal da estrutura (Cadastro fornecido pelo arquiteto Joaquim Coimbra Soares da Silva)

3: Interior. © Rita Doria.

Amostragem

Nas estruturas de cobertura dos dois edifícios históricos selecionados, os procedimentos de recolha do material a ser preservado respeitaram as normas de segurança, no que diz respeito ao uso de materiais, equipamentos, manipulação, limpeza e desinfeção, equipamentos de proteção pessoal e demais considerações emanadas da *World Health Organization* (WHO, 2011).

7.1. Objetivos e critérios

Com a finalidade de definir a localização mais adequada dos pontos e o processo de recolha de amostras, foram tidos em conta os seguintes critérios:

- Contraste, quanto a níveis de iluminância;
- Contraste, quanto a indícios de infiltrações de água;
- Maior facilidade de acesso para recolha;
- Menor efeito de dano possível.

A necessária autorização para fotografar e proceder à recolha do materil foi solicitada às autoridades competentes. Em Salvador, tramitou pela Irmandade de N. Senhora da Conceição da Praia e Instituto do Patrimônio Artístico e Cultural (IPAC) e, no Porto, pela Direção da Regional de Cultura do Norte (DRCN).

7.2. Material e métodos

As metodologias para recolha de amostras de madeiras numa estrutura, enquadram métodos classificados como destrutivos, não destrutivos e semi-destrutivos. Neste caso, o protocolo de atuação seguiu o método semi-destrutivo (*semi-destructive testing* – SDT), sendo considerada madeira de sacrifício e indicando-se, a vermelho, os pontos onde se recolheu o material, por incisão. Trata-se da técnica invasiva mais apropriada para obter pequenas porções de material a partir de estruturas de valor patrimonial que precisam de ser submetidos a ensaios laboratoriais. É um procedimento que não representa perigo para a segurança, estabilidade ou durabilidade da estrutura, e não promove alterações nos valores históricos e artísticos do bem cultural (Kloiber, Milos, Machado, Piazza & Yamaguchi, 2015).

7.2.1. Teste preliminar

O teste preliminar foi realizado sobre secção de madeira de sacrifício, a medir 35x20x10 cm (Figura 31), adquirida na Madeireira Total, na cidade de Salvador. Como instrumento de corte foi usado um formão de ponta chanfrada e afiada, revelando ser de fácil manuseamento, boa firmeza e precisão na obtenção do material. Para auxiliar, um pequeno martelo e uma pinça foram também usados.

Na secção de madeira de sacrifício foram feitas, em diferentes pontos, algumas incisões com formão afiado. Estes testes permitiram avaliar a eficiência do material de corte a usar, definir a melhor técnica para a recolha, e estabelecer o tamanho do fragmento a recolher. Com este procedimento, o processo posterior, de recolha de amostras na estrutura de cobertura, ficou facilitado e foi possível assegurar um menor risco de danos na estrutura. As bordas das peças em madeira (quinas), mostraram ser o local mais apropriado para a recolha das amostras nas coberturas.

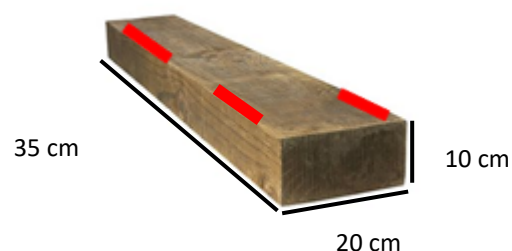


Figura 31: Madeira de sacrifício com indicações, a vermelho, dos pontos onde foram feitas as incisões para recolha do material. © Rita Doria.

Na secção de madeira de sacrifício foram feitas, em diferentes pontos, algumas incisões com formão afiado. Este teste permitiu avaliar a eficiência do utensílio de corte a usar, definir a melhor técnica para a recolha e estabelecer a dimensão da amostra. Com este procedimento, o processo posterior, de recolha de amostras na estrutura de cobertura, ficou facilitado e foi possível assegurar um menor risco de danos para a estrutura. As extremidades das peças em madeira, mostraram ser o local mais apropriado para a recolha das amostras nas coberturas.

A fim de garantir a melhor solução e salvaguardar a segurança e preservação da integridade da estrutura, foi definida a recolha *in situ* das amostras com dimensões aproximadas de 0,3 mm x 0,3 mm x 30 mm (Figura 32).

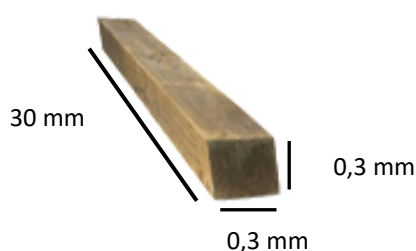


Figura 32: Dimensões aproximadas do material a recolher como amostra. © Rita Doria.

Para a definição de tais dimensões, tomou-se como base os trabalhos de Hoadley (1990), Dark e Rose (1993), Andreacci e Melo Junior (2011), Melo Junior (2012), Peixoto (2012), Saccoman, Teixeira, David, Peres e Yamashita (2016), que apontam para uma variação entre 1 e 30 mm para as porções de madeira com fins de identificação

taxonômica e análise biológica e recomendam, para efetuar os cortes, a utilização de bisturi, navalha, faca, cinzel ou formão, lâminas finas e um arco de serra.

7.2.2. Recolha *in situ*

Após o teste preliminar e definição do protocolo de atuação a implementar, identificaram-se as áreas a serem amostradas, atendendo aos critérios definidos, com a marcação *in situ* dos pontos para recolha do material a ser processado em laboratório.

7.2.2.1. Identificação dos pontos de recolha

A recolha de amostras na Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia decorreu no mês de junho de 2015. Passados 12 meses, em julho de 2016, a recolha foi realizada na Igreja Matriz de Santo Ildefonso, por questões de disponibilidade profissional para deslocações.

Definiram-se 6 pontos de amostragem para cada estrutura, identificados com letras maiúsculas do alfabeto latino (A, B, C, D, E, F). Para distinção entre geografias, adotaram-se letras minúsculas (s ou p), em que “s” identifica a cidade de Salvador e “p”, a cidade do Porto.

Com o objetivo de conseguir a maior representatividade possível de espécies fúngicas presentes no local, para cada ponto de amostragem definido foram recolhidas duas amostras, distanciadas um metro e identificadas com os números 1 e 2. As referências adotadas para identificação das amostras estão apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11: Referência de identificação das amostras

| Salvador | | Porto | |
|----------|-----|-------|-----|
| A1s | A2s | A1p | A2p |
| B1s | B2s | B1p | B2p |
| C1s | C2s | C1p | C2p |
| D1s | D2s | D1p | D2p |
| E1s | E2s | E1p | E2p |
| F1s | F2s | F1p | F2p |

Nas Figuras 33 e 34, em desenho esquemático de cada estrutura de cobertura e para sua melhor percepção, estão assinalados os locais de recolha das amostras, onde é indicado o respetivo nível de iluminância. Em termos médios, os níveis assumidos foram:

≤ 10 Lux – Muito baixo

$> 10 \leq 30$ Lux – Baixo

$> 30 \leq 60$ Lux – Moderado

É possível constatar que os níveis moderados estão, naturalmente, associados a locais mais próximos de aberturas (portas e frestas) e os muito baixos, tipicamente, a locais mais afastados.

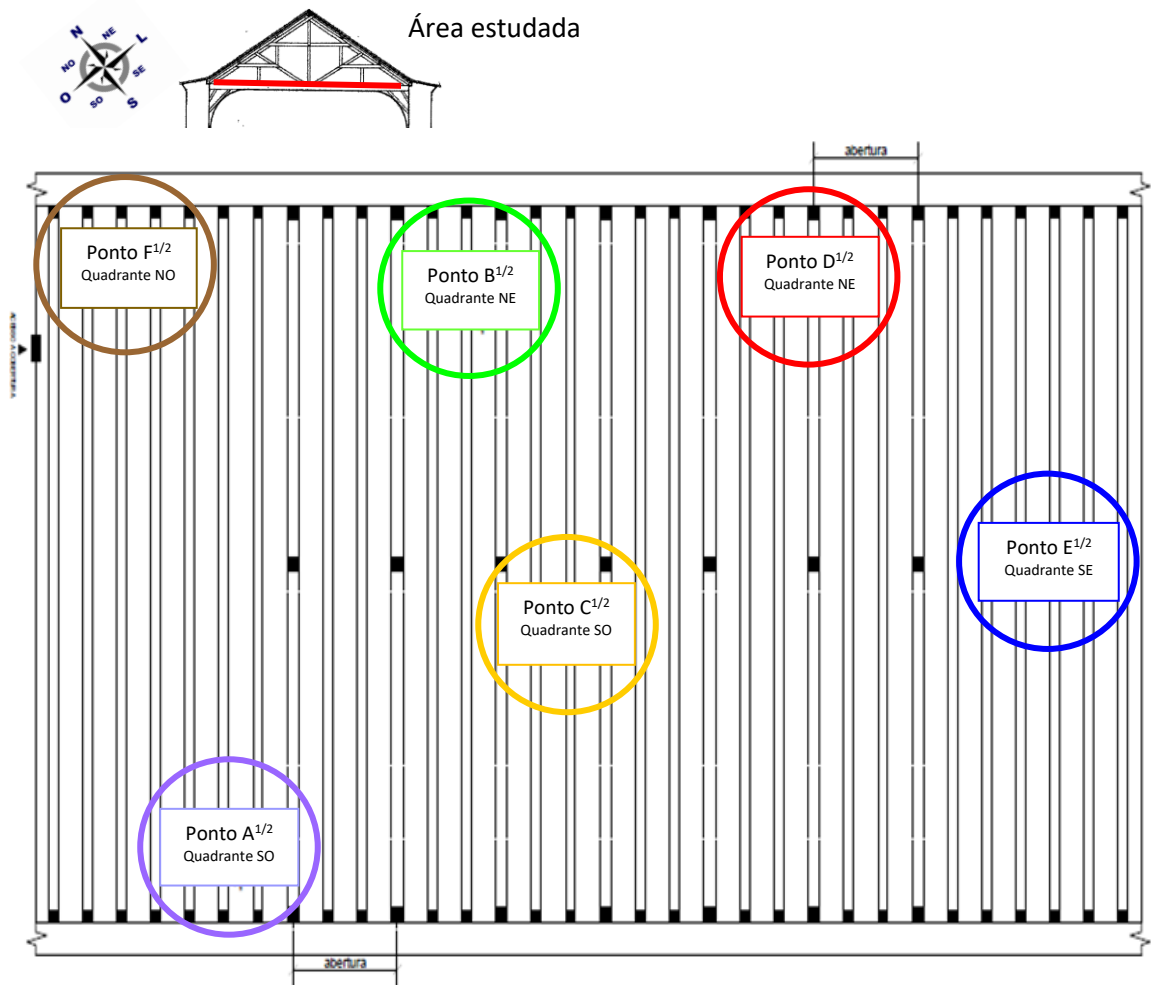


Fig. 33: Desenho esquemático da estrutura de cobertura em madeira da Igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia, indicando os pontos de recolha A, B, C, D, E e F com os respectivos quadrantes de localização e nível de iluminação. © Rita Doria.

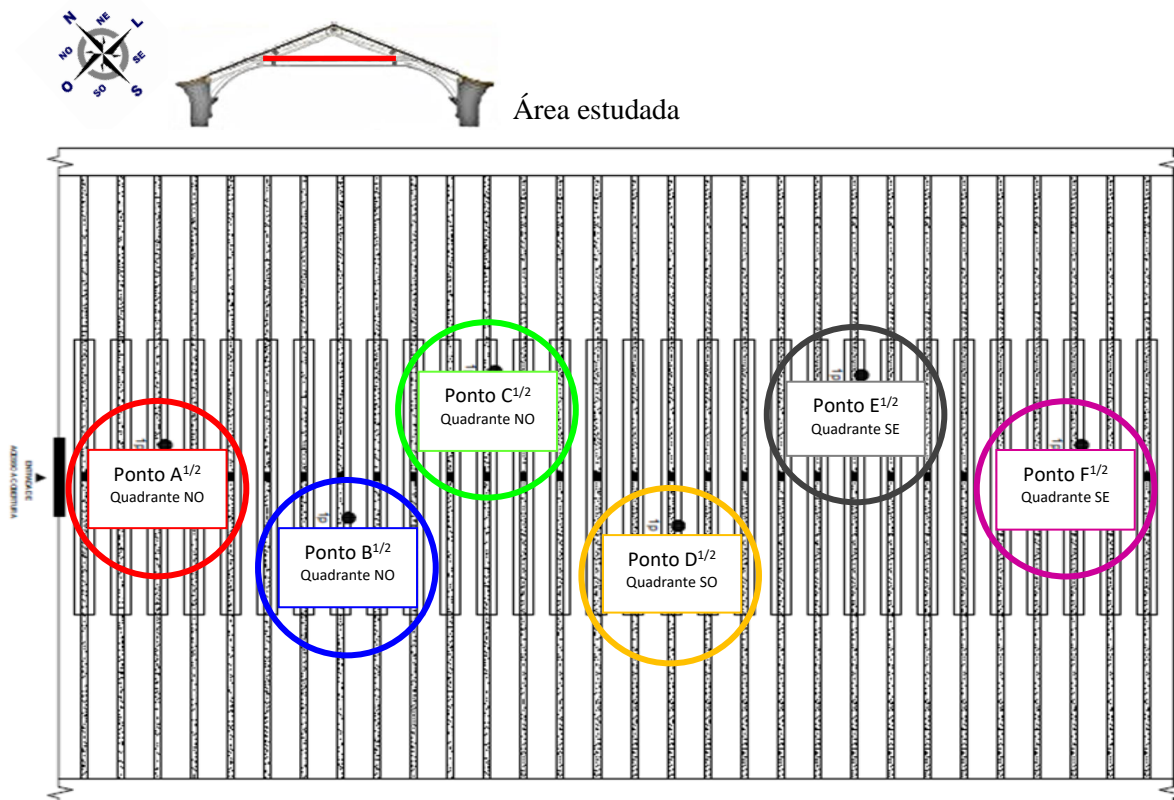


Fig. 34: Desenho esquemático da estrutura de cobertura em madeira da Igreja de Santo Ildefonso, indicando os pontos de recolha A, B, C, D, E e F com os respetivos quadrantes de localização e nível de iluminação. © Rita Doria.

Para a recolha *in situ*, foram preparados 6 conjuntos (*kits*) de material organizado e esterilizado para cada edifício. Cada *kit* continha um formão afiado, pinça e contentores estéreis para o transporte individual das amostras. Para o transporte do material até às coberturas dos edifícios foi usada uma caixa plástica opaca com tampa, previamente desinfetada por imersão em hipoclorito de sódio a 1% durante 10 h (Figueiredo, 2018). Após retirada da solução, foi seca com papel toalha e no seu interior foram depositados os *kits* (Figura 35). A caixa foi lacrada e só aberta no local da recolha.

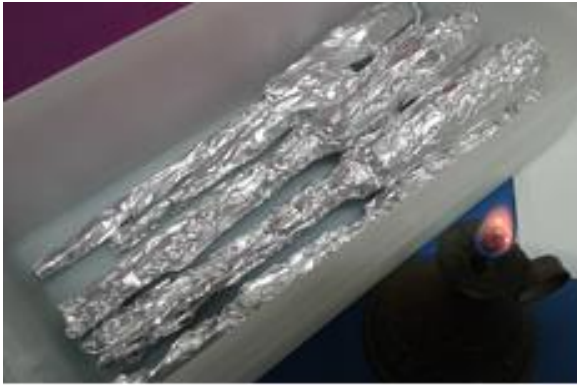


Figura 35: *Kit* com materiais esterilizados para recolha das amostras. © Rita Doria.

A recolha das amostras nas estruturas de cobertura obedeceu ao protocolo de atuação definido a partir do teste preliminar. Para cada ponto de recolha foi utilizado um kit para obter as amostras. A incisão consistiu em premir levemente o formão sobre a madeira e, assim, conseguir uma marca a servir de guia para atingir o tamanho desejado da secção a ser removida. Com leves e firmes marteladas na base do formão, foram obtidos os fragmentos do material necessário (Figura 36). Estes foram imediatamente depositados nos contentores estéreis, lacrados e etiquetados com as informações básicas (data e ponto de recolha). Todo o manuseamento foi realizado com uso de luvas cirúrgicas em nitrilo, que foram descartadas a cada ponto amostrado.



Figura 36: Procedimento de recolha da amostra de madeira. © Rita Doria.

Após a recolha e identificação das amostras, estas seguiram para o laboratório para serem processadas num tempo máximo de 24 horas.

Processamento das amostras

O processamento das amostras de madeira, provenientes da recolha nas estruturas de cobertura, foi realizado nas localidades de origem de cada construção. As amostras obtidas em Salvador foram processadas no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (Lapem) do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade de Feira de Santana (UEFS), Estado da Bahia, Brasil e as recolhidas na cidade do Porto tiveram o seu processamento no Laboratório de Micologia/Serviço de Microbiologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Farmácia de Universidade do Porto (FFUP), Portugal.

As espécies de madeira das estruturas de cobertura de interesse, a igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia e igreja de Santo Ildefonso, encontram-se mencionadas nos itens 6.2.1 e 6.3 respetivamente. A identificação das espécies adquiridas para a confeção das amostras (UAs) utilizadas no tratamento com UV-C foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal e Identificação de madeiras (LAVIM) do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

8.1. Objetivo

Confirmar a identidade das madeiras novas empregues neste trabalho e isolar os fungos presentes nas madeiras das estruturas das coberturas, em duas construções históricas de interesse, a igreja de Santo Ildefonso na cidade do Porto, Portugal a igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia em Salvador, Brasil.

8.2. Material e métodos

As madeiras utilizadas neste estudo são de árvore conífera e de árvore frondosa, ambas de boa qualidade, resistência mecânica e uma durabilidade natural. As madeiras de Conífera possuem o alburno e o cerne de cor clara, com pouca diferença de tonalidade entre ambos. É uma espécie pouco resinosa, com odor suave, macia e fácil de ser trabalhada, com fibra reta e leve, podendo ser impregnada com muita facilidade. De observar que é pouco resistente a ataques de insetos e é difícil preservá-la convenientemente, apesar dos tratamentos existentes. Quanto às madeiras de Frondosa ou Folhosa, possuem uma estrutura lenhosa mais complexa do que a das coníferas, sendo madeiras pesadas e duras, com uma coloração castanha avermelhada. Por apresentarem pouca porosidade, são muito difíceis de impregnar, mas são bem resistentes ao ataque pelos fungos apodrecedores devido aos compostos fenólicos presentes na sua constituição (Gonzaga, 2006).

8.2.1. Identificação macroscópica das madeiras de amostra

As madeiras utilizadas na confecção das amostras (UAs) empregues no tratamento com radiação UV-C foram identificadas a nível de género, separadamente e com igual processo. Inicialmente, os pequenos blocos foram amolecidos por cozimento em água e glicerina (Ferreirinha, 1958), e processados em micrótopo de deslize (Leica SM2000R), obtendo planos com espessura de cerca de 15 a 17 micrómetro (μm) aproximadamente. A estrutura dos planos cortados foi observada com uma lupa conta-fios. Para a montagem das lâminas semi-permanentes, os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio e água destilada, seguido de lavagem em água destilada, desidratados em etanol 20 e 50% e corados em *safrablau* (Kraus & Arduin 1997) e depositados sobre lâmina histológica que recebeu por cima uma lamela e foi vedado com verniz vitral e observados em microscópio óptico (Sass, 1940). O reconhecimento macroscópico (taxonomia) das madeiras seguiu a classificação proposta por Botosso (2009).

8.2.2. Cultura e isolamento dos fungos presentes nas madeiras de cobertura

Embora o procedimento de recolha e transporte das amostras tenha sido idêntico para as duas estruturas, no processamento laboratorial é de realçar uma diferença de metodologia associada à técnica assética usada. Assim, as amostras colhidas em Salvador foram tratadas em câmara de fluxo laminar, enquanto que as provenientes do Porto foram tratadas de forma idêntica, mas usando condições de técnica assética de bico de Bunsen. Assim, as amostras estudadas no Brasil foram manipuladas em câmara biológica de fluxo laminar (marca Pachene, modelo PA200, fabricação Brasil), previamente higienizada com álcool a 70%. No seu interior foram colocados os materiais necessários ao processamento das amostras para cultura: pinças, lâminas de bisturi e placas de Petri de meio de cultura *Malt Extract Agar* (MEA) (Merck®, Germany), cuja composição está indicada na Tabela 12. Os materiais foram esterilizados com lâmpadas germicidas de UV-C da própria câmara, por um tempo de 15 min (Cobb, 2016).

Tabela 12: Composição do meio de cultura *Malt Extract Agar*

| Componentes | Quantidades (g/l) |
|----------------------------|----------------------------|
| Extrato de malte | 30,0 |
| Peptona de farinha de soja | 3,0 |
| Agar | 15,0 |
| pH | 5,4±0,2 |
| Métodos de esterilização | Condições de esterilização |
| Calor húmido em autoclave | 121 °C/20 min. |

Fonte: Adaptado de Merck® Microbiology Manual (2010).

Após esse tempo, com a câmara ligada e os UV-C desligados, foram introduzidos os contentores com o material de recolha, abertos e manipulados em separado, de forma a evitar qualquer contaminação com o ar ambiente.

Com auxílio de uma pinça e um bisturi foi, inicialmente, separada uma fração de cada uma das amostras, com medidas aproximadas de 4x4x5 mm, para serem utilizadas na identificação taxonómica das madeiras.

O restante de cada amostra foi destinado à inoculação em meios de cultura, com a finalidade de isolamento e obtenção de culturas puras dos fungos presentes nas amostras. Assim, cada amostra foi fracionada em 10 pequenas porções, de tamanho semelhante. Cada fragmento foi depositado aseticamente no interior de uma placa de Petri contendo meio de cultura MEA estéril (Figura 37). Além disso, para cada ponto de amostragem foram obtidas 10 placas de cultura.



Figura 37: Placa de Petri contendo fragmentos da amostra. © Rita Doria

As 10 placas de cada ponto de amostragem foram identificadas com um algarismo romano (I-X), além de serem marcadas com as demais informações relativas ao ponto de recolha da amostra, resultando em uma numeração alfa numérica (Tabela 13). Todo o processo foi realizado igualmente nas duas localidades, alcançando um total de 240 unidades amostrais, 120 para Salvador e 120 para Porto.

Tabela 13: Identificação alfanumérica das Unidades Amostrais processadas para Salvador e Porto

| | | | | | | | | | | |
|------------|-------|--------|---------|--------|-------|--------|---------|----------|--------|-------|
| Pontos "A" | As1 I | As1 II | As1 III | As1 IV | As1 V | As1 VI | As1 VII | As1 VIII | As1 IX | As1 X |
| | As2 I | As2 II | As2 III | As2 IV | As2 V | As2 VI | As2 VII | As2 VIII | As2 IX | As2 X |
| | Ap1 I | Ap1 II | Ap1 III | Ap1 IV | Ap1 V | Ap1 VI | Ap1 VII | Ap1 VIII | Ap1 IX | Ap1 X |
| | Ap2 I | Ap2 II | Ap2 III | Ap2 IV | Ap2 V | Ap2 VI | Ap2 VII | Ap2 VIII | Ap2 IX | Ap2 X |
| Pontos "B" | Bs1 I | Bs1 II | Bs1 III | Bs1 IV | Bs1 V | Bs1 VI | Bs1 VII | Bs1 VIII | Bs1 IX | Bs1 X |
| | Bs2 I | Bs2 II | Bs2 III | Bs2 IV | Bs2 V | Bs2 VI | Bs2 VII | Bs2 VIII | Bs2 IX | Bs2 X |
| | Bp1 I | Bp1 II | Bp1 III | Bp1 IV | Bp1 V | Bp1 VI | Bp1 VII | Bp1 VIII | Bp1 IX | Bp1 X |
| | Bp2 I | Bp2 II | Bp2 III | Bp2 IV | Bp2 V | Bp2 VI | Bp2 VII | Bp2 VIII | Bp2 IX | Bp2 X |
| Pontos "C" | Cs1 I | Cs1 II | Cs1 III | Cs1 IV | Cs1 V | Cs1 VI | Cs1 VII | Cs1 VIII | Cs1 IX | Cs1 X |
| | Cs2 I | Cs2 II | Cs2 III | Cs2 IV | Cs2 V | Cs2 VI | Cs2 VII | Cs2 VIII | Cs2 IX | Cs2 X |
| | Cp1 I | Cp1 II | Cp1 III | Cp1 IV | Cp1 V | Cp1 VI | Cp1 VII | Cp1 VIII | Cp1 IX | Cp1 X |
| | Cp2 I | Cp2 II | Cp2 III | Cp2 IV | Cp2 V | Cp2 VI | Cp2 VII | Cp2 VIII | Cp2 IX | Cp2 X |
| Pontos "D" | Ds1 I | Ds1 II | Dps III | Ds1 IV | Ds1 V | Ds1 VI | Ds1 VII | Ds1 VIII | Ds1 IX | Ds1 X |
| | Ds2 I | Ds2 II | Ds2 III | Ds2 IV | Ds2 V | Ds2 VI | Ds2 VII | Ds2 VIII | Ds2 IX | Ds2 X |
| | Dp1 I | Dp1 II | Dp1 III | Dp1 IV | Dp1 V | Dp1 VI | Dp1 VII | Dp1 VIII | Dp1 IX | Dp1 X |
| | Dp2 I | Dp2 II | Dp2 III | Dp2 IV | Dp2 V | Dp2 VI | Dp2 VII | Dp2 VIII | Dp2 IX | Dp2 X |
| Pontos "E" | Es1 I | Es1 II | Eps III | Es1 IV | Es1 V | Es1 VI | Es1 VII | Es1 VIII | Es1 IX | Es1 X |
| | Es2 I | Es2 II | Es2 III | Es2 IV | Es2 V | Es2 VI | Es2 VII | Es2 VIII | Es2 IX | Es2 X |
| | Ep1 I | Ep1 II | Ep1 III | Ep1 IV | Ep1 V | Ep1 VI | Ep1 VII | Ep1 VIII | Ep1 IX | Ep1 X |
| | Ep2 I | Ep2 II | Ep2 III | Ep2 IV | Ep2 V | Ep2 VI | Ep2 VII | Ep2 VIII | Ep2 IX | Ep2 X |
| Pontos "F" | Fs1 I | Fs1 II | Fps III | Fs1 IV | Fs1 V | Fs1 VI | Fs1 VII | Fs1 VIII | Fs1 IX | Fs1 X |
| | Fs2 I | Fs2 II | Fs2 III | Fs2 IV | Fs2 V | Fs2 VI | Fs2 VII | Fs2 VIII | Fs2 IX | Fs2 X |
| | Fp1 I | Fp1 II | Fp1 III | Fp1 IV | Fp1 V | Fp1 VI | Fp1 VII | Fp1 VIII | Fp1 IX | Fp1 X |
| | Fp2 I | Fp2 II | Fp2 III | Fp2 IV | Fp2 V | Fp2 VI | Fp2 VII | Fp2 VIII | Fp2 IX | Fp2 X |

Legenda:

Letra romana maiúscula = ponto de amostragem;

Letras romanas minúsculas = iniciais das cidades onde ocorreram as recolhas, s-Salvador e p-Porto;

Numeração árabe (1 e 2) = amostras em cada localização;

Numeração romana (I-X) = subamostras, 10 em cada ponto.

As placas de meio de cultura MEA, semeadas, foram acondicionadas em cuba plástica higienizada com álcool a 70% e coberta com papel pardo, que ficou à temperatura ambiente de $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, para estimular o crescimento de fungos (Ortiz *et al.*, 2014). Após o terceiro dia de incubação, as placas passaram a ser monitorizadas

diariamente, macroscopicamente e com microscópio estereoscópico binocular (Nikon E400). Nesta fase, observou-se o desenvolvimento de estruturas fúngicas na superfície do meio e no substrato. Cinco amostras fúngicas foram repicadas para novas placas de meio de cultura MEA, com auxílio de uma agulha estéril. Em todo o processo foi usada técnica asséptica.

Para a obtenção das culturas puras de cada fungo isolado, sucessivos subcultivos foram realizados a fim de assegurar o crescimento de um único tipo de fungo.

8.3. Caracterização e conservação dos isolados fúngicos

A caracterização dos fungos isolados foi baseada em características fenotípicas (morfologia macroscópica e microscópica) e moleculares.

8.3.1. Identificação Morfológica

A identificação morfológica de todos os fungos purificados a partir das madeiras de recolha foi realizada de acordo com a taxonomia clássica, assente em observações macroscópicas e microscópicas, cuja finalidade foi obter um panorama geral que permitisse proceder à seleção dos isolados a serem submetidos à análise molecular.

- Observação à escala macroscópica

Diversas características macroscópicas, da superfície e do reverso das colónias obtidas no meio de MEA, foram usadas para agrupar e identificar os isolados obtidos. São de destacar:

Diversas características macroscópicas, da superfície e do reverso das colónias obtidas no meio de MEA, foram usadas para agrupar e identificar os isolados obtidos. Dessas características são de destacar:

- Diâmetro das colónias e velocidade de crescimento;
- Textura ou consistência: cremosa, mucóide, cotonosa, aveludada, serosa, camurçada, granulosa, pulverulenta, membranosa e verrucosa;
- Pigmentação da superfície e do reverso e difusão do pigmento para o meio de cultura;
- Topografia: plana, convexa, umbilicada, pregueada, cerebriforme, lisa, fissurada ou rugosa;
- Aspeto dos bordos: regulares, irregulares, radiados;
- Cor: branca, preta, verde, vermelha e outras.

Assim, com base nestas características fenotípicas, foi possível agrupar os isolados que apresentavam similaridades.

- Observação à escala microscópica

Foram preparadas montagens a fresco, entre lâmina e lamela, do material proveniente da cultura de cada isolado fúngico. Para isso, utilizou-se, com algumas adaptações, a metodologia proposta por Senanayake et al. (2020), que consistiu na remoção de uma pequena porção da colónia, com uma agulha de tipo insulina flambada, que foi depositada sobre uma lâmina contendo uma gota de azul de lactofenol e recoberta por uma lamela. Cada lâmina foi observada ao microscópio ótico (Nikon Eclipse E400) para identificação com base nas características do micélio somático e das estruturas reprodutivas, sexuadas e assexuadas, seguindo critérios da literatura especializada (Seifert, Morgan-Jones, Gams & Kendrick, 2011).

Após caracterização morfológica, à escala macro e microscópica, os isolados foram agrupados pelos diferentes géneros fenotipicamente identificados e, para cada um dos isolados fúngicos, foram obtidas três repicagens em cultura pura para, em seguida, serem preservadas para estudos posteriores e coleção.

8.3.2. Conservação das amostras

Para a preservação dos isolados fúngicos provenientes das amostras, e após a sua purificação e caracterização fenotípica, foi usado o método de *Castellani* (1939). De cada conjunto de três amostras (triplicata técnica), retirou-se uma amostra a ser encaminhada para a coleção de cultura de cada laboratório em que se realizaram os procedimentos. Os isolados obtidos em Salvador foram depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos da Bahia (CCMB/UEFS) e mantidos à temperatura ambiente. Os isolados obtidos no Porto foram conservados a -80 °C em caldo de *Sabouraud* adicionado de 15% de glicerol e estão depositados na coleção do Laboratório de Micologia da FFUP. As duplicatas restantes destinaram-se às etapas seguintes da investigação. O processo de conservação é fundamental, uma vez que os fungos ficarão preparados para ensaios didáticos, experimentais ou mesmo para fazer comparações futuras (Sola, Oliveira, Feistel & Rezende, 2012), sendo mantidos viáveis, estáveis e inalterados em suas estruturas morfológicas, fisiológicas ou genéticas (Moriwaki, Mazzer, Pazzetto & Matioli, 2009).

Segundo este método, foram efetuados recortes de pequenos blocos da colônia pura, os quais foram retirados e depositados em pequenos frascos estéreis (criotubos ou microtubos) contendo 1-1,5 ml de água destilada estéril (Figura 38 a/b) que foram lacrados e acondicionados à temperatura ambiente (Sinclair & Dhingra, 2017). Neste procedimento utilizou-se técnica asséptica, evitando contaminação.

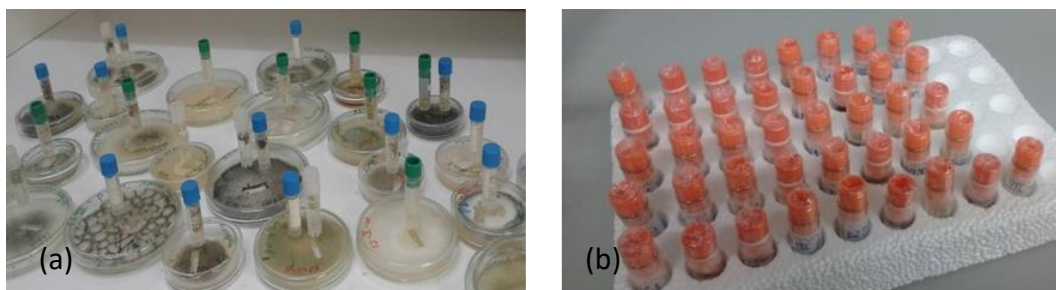


Figura 38: Culturas puras (a) e os tubos com os fungos preservados em *Castellani* (b). © Rita Doria.

O período entre a recolha e sementeira das madeiras e a obtenção das culturas puras foi de, aproximadamente, cinco meses, período necessário devido à variação de tempo para o crescimento das diferentes espécies de fungos que se desenvolveram do substrato, e também essencial para proceder à purificação das culturas mistas contendo mais de um isolado fúngico.

8.3.3. Identificação molecular por PCR, sequenciação da região ITS do genoma fúngico

Tendo em conta o critério da abundância de espécies, *Species Abundance Distribution* (SAD), e aplicada naqueles que se faziam representar em número superior ou igual a 10 do total de fungos isolados nas duas estruturas de cobertura, foi efetuada a seleção dos isolados a serem identificados ou confirmados por Biologia Molecular. O SAD é uma ferramenta importante, na medida em que fornece uma relação espécie-área que possibilita a escolha dos fungos com maior presença na comunidade amostral (Preston, 1948; McGill et al, 2007; Whittaker & Fernandez-Palacios, 2007). Por este critério, foram selecionados 80 isolados fúngicos para a identificação molecular, 40 por cada uma das estruturas de cobertura.

Os 80 isolados selecionados foram reativados a partir do material preservado. O procedimento, realizado aseticamente, consistiu na remoção de uma pequena alíquota do material fúngico contido nos criotubos e deposição em placas de Petri com meio de cultura MEA. O material cultivado foi incubado por 7 dias em estufa microbiológica Memmert BE 500, a uma temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para o crescimento e esporulação de nova colónia.

Para proceder à extração do ADN, os isolados dos fungos foram cultivados entre 3 a 5 dias a 25°C em meio de *Sabouraud Dextrose Agar* (SAD), cuja composição está indicada na Tabela 14.

Tabela 14: Composição do meio de cultura *Sabouraud dextrose agar*

| Componentes | Quantidades (g/L) |
|---------------------------------|-------------------|
| Digestão pancreática de caseína | 5 |
| Digestão péptica de carne | 5 |
| Dextrose | 40 |
| Agar | 15 |

Fonte: *Technical Sheet* Biolife, Itália

A extração do ADN fúngico compreendeu: (i) a lise celular, que consiste em um procedimento básico e necessário para que ocorra o rompimento das células e liberação dos componentes intracelulares, proteínas, lipídios, polissacarídeos, ácidos nucleicos, moléculas orgânicas de baixo peso molecular e iões (Green & Sambrook, 2012), (ii) separação dos ácidos nucleicos dos outros compostos celulares; e (iii) sua purificação.

Protocolos usados na identificação molecular:

Para os fungos isolados em Salvador, a extração do ADN genómico dos micélios e esporos foi realizada de acordo com o protocolo *Glass Fiber Plate DNA Extraction – CCDB (Canadian Center for DNA Barcoding)* – descrito na Tabela 15 e respetivos compostos na Tabela 16 empregando nitrogénio (N) líquido para maceração das amostras.

Para a amplificação da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do rADN, foi feita uma reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), num volume reacional de 50 µl (soma dos reagentes usados (Tabela 17). Como *primers* foi utilizado o par ITS5-F/ITS4-R (Schoch et al, 2012). A reação de PCR foi realizada pela empresa Myleus Biotecnologia (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), usando um termociclador (BioRad, T₁₀₀TM Thermal Cycler, California, USA) com a seguinte programação: 94 °C, 2 min.; 94 °C, 1 min.; 55 °C, 1 min., 35 ciclos; 72 °C, 1 min.; 72 °C, 5 min.; 16 °C, ∞.

A sequenciação ocorreu usando o método de Sanger (1ª geração), no equipamento Hitachi GeneAnalyser 3100, tendo sido igualmente realizada pela empresa Myleus Biotecnologia (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Para a análise das sequências, estas foram editadas manualmente com o *software Geneious* (Biomatters, <http://www.geneious.com/>), o alinhamento foi realizado de acordo com os parâmetros padrões (*default*) do algoritmo do *software Muscle* (Kato; Asiminos; Toh, 2009) e inspecionado manualmente no próprio *software Geneious* (Biomatters). As sequências obtidas foram comparadas com as depositadas na base de dados do *GenBank* pelo programa *BLASTn*, disponível no site do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

Tabela 15: Protocolo para extração de ADN

| Ordenação | Descrição do protocolo para extração de ADN em placa |
|-----------|--|
| 1 | Transferir micélio ou um pedaço do basidioma (pulverizado) para um tubo de 0,5 ml |
| 2 | Adicionar 42 µl de <i>Vertebrate Lysis Buffer</i> e 8 µL de Proteinase K |
| 3 | Incubar a 56 °C por no mínimo 6h ou <i>over-night</i> , para permitir a absorção |
| 4 | Centrifugar a 1500 g por 15s |
| 5 | Adicionar 100 µl de <i>Binding Mix</i> em cada amostra, misturar em agitador de tubos e centrifugar por 20s a 1000 g |
| 6 | Transferir o lisado para a placa com filtro e selar a placa com um adesivo de selagem (tampa autoaderente) |
| 7 | Centrifugar a 5000 g por 5min |
| 8 | Primeiro passo de lavagem: Adicionar 180 µl de <i>Protein Wash Buffer</i> (PWB) em cada cavidade e selar a placa com um novo adesivo de selagem (tampa auto aderente) Centrifugar a 5000 g por 2min |
| 9 | Segundo passo de lavagem: Adicionar 200 µl de <i>Wash Buffer</i> (WB) em cada cavidade e selar com um novo adesivo de selagem. Centrifugar a 5000 g por 5min |
| 10 | Remover o adesivo de selagem e incubar a placa a 56 °C, por 30min |
| 11 | Encaixar uma nova placa (placa de 96 poços utilizada em sequenciamento) embaixo da placa com filtro, para coletar o ADN |
| 12 | Dispensar 30-60 µl de água na membrana. Selar a placa com um novo adesivo de selagem. Incubar por 1min a temperatura ambiente. Centrifugar a 5000 g por 5min |
| 13 | Descartar a placa com filtro e armazenar a placa coletora do ADN em congelador |

Tabela 16: Reagentes utilizados na extração do ADN

| Substância | Composição |
|----------------------------------|--|
| <i>Vertebrate Lysis Buffer</i> | 100 mM NaCl 50 mM Tris-HCl com pH 8,0 10 mM EDTA com pH 8,0 0,5% SDS |
| <i>Binding Mix</i> | 6M GuSCN 20 mM EDTA com pH 8,0 10 mM Tris-HCl com pH 6,4 4% Triton X-100 EtOH 96% |
| <i>Protein Wash Buffer (PWB)</i> | 6M GuSCN 20 mM 6M GuSCN, 20 mM EDTA com pH 8,0 10 mM Tris-HCl com pH 6,4 4% Triton X-100 EtOH 96% |
| <i>Wash Buffer (WB)</i> | 60% EtOH 50 mM NaCl 10 mM Tris-HCl com pH 7,4 0,5 mM EDTA, pH 8,0 |

Tabela 17: Concentração dos reagentes utilizados na reação de PCR

| Reagente | Concentração inicial | Concentração final | Volume utilizado (μ l) |
|-------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------|
| Tampão 10X | 10X | 1X | 5 |
| MgCl ₂ | 50 mM | 2,5 mM | 2,5 |
| DNTP | 10 mM | 0,2 mM | 1 |
| DMSO | 100% | 50% | 1 |
| Betaina | 5 M | 1 M | 10 |
| BSA | 1 μ g/ μ l | 0,031 μ g/ μ l | 1,5 |
| TAQ | 5 U/ μ l | 1,2 U/ μ l | 0,25 |
| H ₂ O | - | - | 26,75 |
| ITS5 | 10 pmol | 0,2 pmol | 1 |
| ITS4 | 10 pmol | 0,2 pmol | 1 |
| Volume final | - | - | 50 μ l |

Para os isolados do Porto, a extração do ADN e amplificação por PCR foram realizadas com recurso a um *kit* de amplificação direta de ADN, *KAPA3G Plant PCR Kit*[®] (Kapabiosystems, Boston, USA), seguindo o protocolo do fabricante, com algumas pequenas alterações. Desta forma, a amostra de material fúngico foi diretamente utilizada para amplificação de ADN, evitando assim uma extração prévia. A preparação da amostra consistiu na suspensão de uma ansa de cada isolado em 100 µl de água ultrapura.

O conjunto de *primers* utilizados para identificação molecular foi o ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') e o ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (Lee & Taylor, 1990). A reação de PCR foi realizada com 1x *KAPA Plant PCR Buffer* (constituído por MgCl₂ e dNTPs); 0,5 mM de MgCl₂ adicional; 0,3 µM de cada *primer* e 0,5 Unidades de *Taq DNA polymerase (KAPA3G Plant DNA polimerase)*, perfazendo 25 µl com água ultrapura (Tabela 18). A mistura reacional foi preparada em câmara de fluxo laminar apropriada. A amostra fúngica foi adicionada posteriormente, em ambiente assético, mas num diferente espaço físico. Cada reação de PCR foi acompanhada por um controlo negativo.

As reações de amplificação foram processadas num termociclador (BioRad, T100[™] Thermal Cycler, California, USA), onde foi definida a desnaturação inicial de 95°C durante 15 min, seguindo-se 40 ciclos de amplificação, constituídos por um passo de desnaturação a 95°C/20s, hibridação a 50°C/15s e extensão a 72°C/1min. Por fim, foi definida uma extensão final a 72°C durante um minuto.

Tabela 18: Composição da mistura reacional para cada *primer*

| Reagentes | Concentração final dos reagentes | Volume para cada amostra (μ l) |
|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| Água ultrapura | - | 9,3 |
| Tampão | 1x | 12,5 |
| MgCl ₂ | 0,5 mM | 0,5 |
| Oligonucleotídeo direto | 0,3 μ M | 0,75 |
| Oligonucleotídeo reverso | 0,3 μ M | 0,75 |
| Polimerase termoestável | 0,5 U | 0,2 |
| Suspensão de fungo | - | 1 |
| Volume final | - | 25 μ l |

Após a reação de PCR, foi efetuada uma eletroforese em gel de agarose 1,5%, de forma a verificar os produtos de amplificação. Foi utilizado o sistema de purificação de *PCR GRS 96-well* (Grisp®), seguindo as especificações do fabricante, para purificar as amostras amplificadas. O ADN obtido foi enviado para ser sequenciado pela empresa *GATC Biotech* pelo método de Sanger.

As sequências foram tratadas de forma manual, utilizando Software MEGA7, e alinhadas utilizando CLUSTALW. Posteriormente, as sequências foram comparadas com as presentes na base de dados do *GenBank* (Bethesda, MD, USA) e *CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre* (Utrecht, the Netherlands). A identificação final resultou da análise da percentagem de similaridade (>98%).

Ensaio com radiação UV-C

9.1. Objetivos

Após a seleção dos isolados a submeter a ensaio, pretende-se verificar, em ambiente de laboratório e com caráter exploratório, as condições mais eficientes para a aplicação da radiação UV-C sobre superfícies de madeiras, quanto ao comprimento de onda e tempo de exposição, no sentido de reduzir a contaminação fúngica, para fins de utilização na manutenção de estruturas de madeira em cobertura de edifícios históricos.

9.2. Material e métodos

9.2.1. Seleção dos isolados fúngicos para os ensaios exploratórios com radiação UV-C

Dos 80 isolados identificados por biologia molecular, foram selecionados 6 fungos para os ensaios exploratórios com radiação UV-C. Os critérios adotados para esta seleção foram:

- Ser um fungo filamentoso;
- Ser de fácil esporulação;
- Ser um fungo de mancha ou “bolor”;
- Ser um género ou espécie comum às duas localidades e de maior abundância;

- Ser um género de maior abundância e distinto nas duas localidades.

A partir do que foi estabelecido, foram selecionados, por género, três isolados para o Porto e três para Salvador, sendo dois pelo critério da igualdade e um pelo critério da diferença.

9.2.2. Manufatura, esterilização e montagem das UAs para ensaio

A identificação das madeiras adquiridas e usadas na preparação das UAs foi confirmada pelo Laboratório de Anatomia Vegetal e Identificação de Madeiras (Lavim) do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), como sendo madeira de Abeto (família das *Pinaceae*, género *Abies*) para o contexto do Porto e madeira de Maçaranduba (família das *Sapotaceae*, género *Manilkara*) para Salvador, conforme as amostras retiradas das madeiras de ambas as estruturas de coberturas e para sua representação. As amostras de madeira adquiridas foram processadas com o auxílio de uma serra tico-tico (Black & Decker 420w), obtendo pequenos blocos, UAs, com tamanho aproximado de 5mm X 20mm X 20mm (Figura 39), que foram lixados de forma a uniformizar o mais possível as dimensões e permitir uma superfície mais lisa.

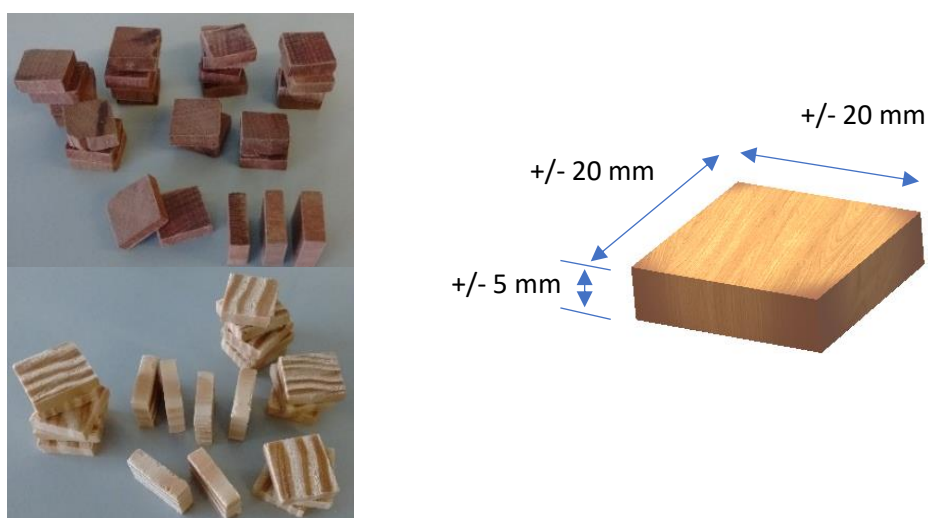


Figura 39: Unidades Amostrais com dimensões aproximadas. © Rita Doria

As UAs a usar nos ensaios foram devidamente acondicionadas em frascos de vidro com tampa e submetidas por 30 minutos a esterilização em autoclave a uma temperatura de 121 °C, com o objetivo de eliminar microrganismos presentes nas amostras. Após retiradas da autoclave, foram colocadas em estufa microbiológica (Memmert tipo BE 500) a uma temperatura de 60 °C para secarem, durante aproximadamente 12 h. Após esse tempo, permaneceram por quatro dias sobre a bancada para consolidar a secagem, estabilizarem às condições do laboratório e aguardarem o uso nos ensaios. Todo o restante material usado foi igualmente esterilizado antes da sua utilização.

Antes de dar início aos ensaios e para garantir a esterilidade das UAs, foi efetuado um teste usando uma das UAs esterilizada, que foi transferida para o interior de um tubo contendo meio de cultura líquido *Sabouraud dextrose broth* (SDB) estéril, cuja composição está indicada na Tabela 19.

Tabela 19: Composição do meio de cultura *Sabouraud dextrose broth*

| Componentes/Esterilização | g/l |
|--------------------------------|------|
| Digestão Enzimática de Caseína | 10,0 |
| Dextrose | 20,0 |

Difco™ BD, EUA

O tubo contendo a amostra em meio de cultura líquido (Figura 40), permaneceu sobre a bancada do laboratório e foi observado ao longo de 4 dias, confirmando a eficácia da esterilização das amostras.



Figura 40: Teste de esterilidade da Unidade Amostral. © Rita Doria.

Para a montagem das UAs foram usadas 54 placas de Petri estéreis (60 mm x 15 mm). Em cada placa foram colocadas duas grelhas em aço inoxidável, a maior com 35 mm x 35 mm e a menor de 20 mm x 20 mm. As grelhas menores apresentavam as extremidades dobradas a fim de permitir o encaixe da UA (Figura 41).

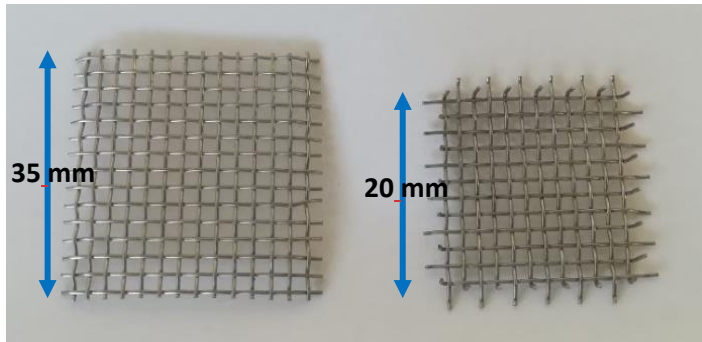


Figura 41: Grelhas de aço.
© Rita Doria.

Cada par de grelhas foi esterilizado em autoclave por 15 minutos, a uma temperatura de 121 °C. As grelhas foram colocadas no interior de cada placa de Petri com auxílio de uma pinça estéril. A colocação desse suporte teve por propósito manter a amostra elevada relativamente à base (Figura 42 a/b), evitando o contacto da UA com a água adicionada periodicamente ao fundo da placa, para humedificação. Todo o procedimento foi realizado usando material estéril e técnica asséptica, para evitar qualquer contaminação externa.

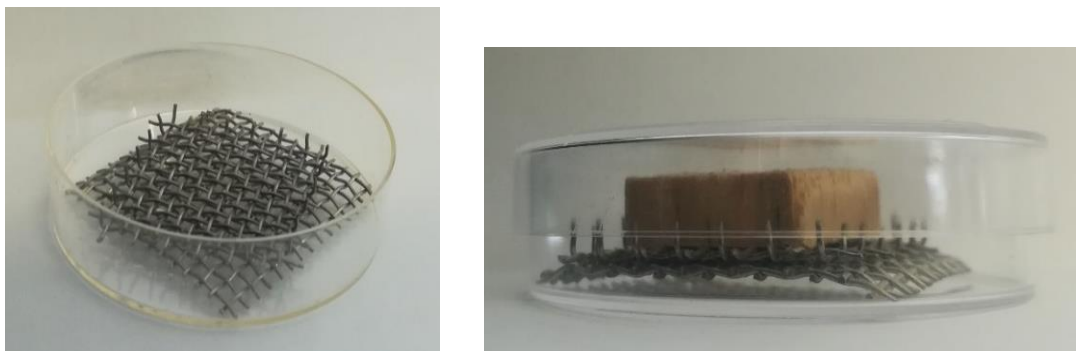


Figura 42: Placa de Petri com grelhas (a) e Unidade Amostral sobre as grelhas (b). © Rita Doria.

9.2.3. Preparação das suspensões de esporos fúngicos

Cada um dos 6 isolados fúngicos selecionados para o ensaio com radiação UV-C foi cultivado na superfície de várias placas (habitualmente cinco, dependendo da sua capacidade de esporulação), contendo meio *Potato dextrose agar* (PDA), que teve como função estimular uma maior produção de esporos e cuja composição está indicada na Tabela 20.

Tabela 20: Composição do meio de cultura *Potato dextrose agar* (PDA)

| Componentes/Esterilização | Quantidades (g/l) Condições |
|---------------------------|-----------------------------|
| Extrato de batata | 4 |
| Dextrose | 20 |
| Ágar bacteriológico | 15 |
| pH | 5,6 ± 0,2 |
| Calor húmido em autoclave | 121 °C/15 min. |

Fonte: *Technical data sheet Biokar Diagnostics, France*

As placas foram incubadas em estufa microbiológica à temperatura de 25 °C ± 2 °C, pelo período de 5 a 10 dias, a fim de obter colónias bem esporuladas e puras. A suspensão de esporos (inóculo fúngico) foi preparada de acordo com o que está estabelecido para a avaliação da suscetibilidade de fungos filamentosos aos antifúngicos, norma de referencia CLSI (2018) com ligeiras modificações. O número de esporos por ml da suspensão foi padronizado a aproximadamente 1 x 10⁶ esporos/ml.

Na preparação da suspensão, utilizou-se um frasco contendo 100 ml de soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%) a que foi adicionada uma gota de *Tween 80* estéril, agente dispersante não-iónico e emulsionante. Cerca de 20 ml do soro fisiológico com *Tween* foram vertidos sobre a superfície da cultura. A superfície da colónia foi levemente raspada, com o auxílio de uma ansa estéril e com o propósito de soltar os esporos. Utilizando uma pipeta estéril, todo o líquido contendo os esporos foi recolhido e adicionado ao restante 80 ml de soro fisiológico. A suspensão obtida foi agitada no

Vortex por 2 minutos, a fim de dispersar os esporos e obter uma suspensão homogênea. O volume de 100 ml de soro foi definido de modo a que as UAs pudessem ficar imersas na suspensão de esporos ao serem colocadas no interior de uma placa de Petri de 150 mm de diâmetro.

Para padronizar a concentração de esporos na suspensão foi utilizada uma Câmara de Contagem Neubauer (Figura 43), que permite determinar o número de esporos por unidade de volume de um líquido. Esta câmara é constituída por uma placa grossa retangular, geralmente em vidro, que possui uma leve depressão ao centro, com duas cavidades de profundidade desigual e gradeamento de linhas perpendiculares. Sobre estas cavidades (câmaras) é colocada uma lamela apropriada para realizar a contagem visual com auxílio de um microscópio.

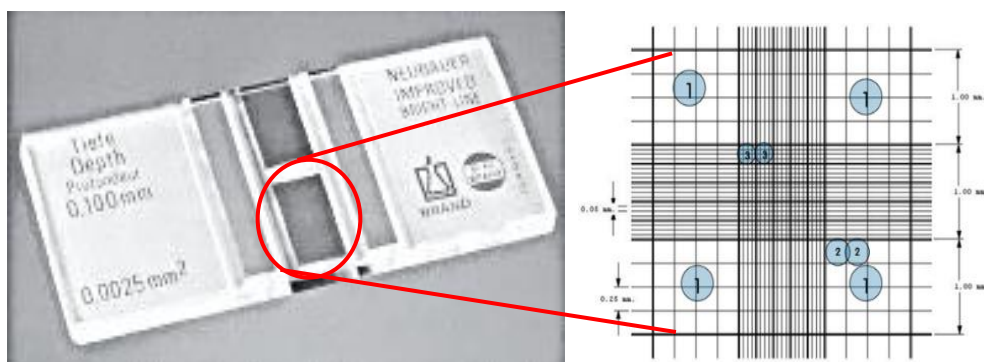


Figura 43: Câmara de Neubauer e gradeamento em linhas perpendiculares (Mongelo, 2012, pp. 21-22)

Com o auxílio de uma pipeta, depositaram-se 10 μ l da suspensão de esporos, devidamente homogeneizada, numa das cavidades da câmara. Os esporos foram contados na área equivalente ao primeiro quadrante da figura acima, correspondendo a contagem obtida ao número de esporos afetada do fator 10^4 /ml. A concentração de esporos foi ajustada, por diluição ou concentração, de forma a ficar, no final, com 95-105 x 10^4 esporos/mL. Todo o procedimento para a obtenção de 100 ml de suspensão de esporos com uma densidade de $\pm 1 \times 10^6$ esporos/ml foi realizado em ambiente assético.

Importa ressaltar que a preparação da suspensão de esporos foi exatamente igual para cada processo: a realização da primeira etapa, depois a duplicata e, por fim, a triplicata.

9.2.4 Inoculação das UAs e incubação

Por cada fungo a ser submetido aos ensaios, formou-se um conjunto com 15 UAs, individualmente acomodadas nas placas de Petri já montadas, que foram organizadas de acordo com o esquema apresentado na Figura 44, ou seja, 12 UAs inoculadas, 9 para serem tratadas com radiação UV-C, três sem tratamento e utilizadas como controlo positivo (C+) e as três restantes, não inoculadas e sem tratamento, usadas como controlo negativo (C-). Salienta-se que o C+ serviria para avaliar a viabilidade dos esporos e comparar com as amostras tratadas.

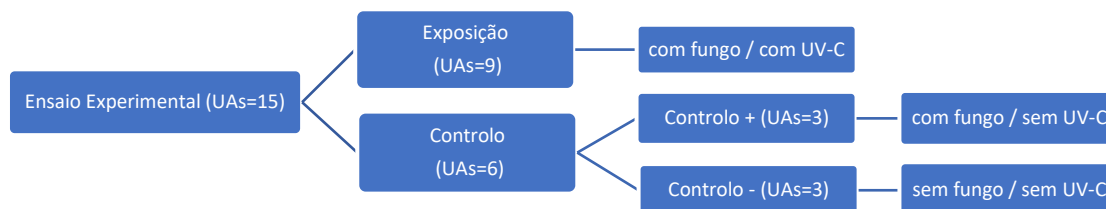


Figura 44: Distribuição das unidades amostrais (UAs) por exposição: UAs = número de amostras usadas para cada fungo sujeito a ensaio

O processo de inoculação ocorreu pela imersão das 12 UAs na suspensão de esporos, a fim de permitir que as estruturas fúngicas aderissem à superfície da madeira. Esse procedimento foi realizado com auxílio de duas placas de Petri em vidro e estéreis, uma de 140 mm e outra com 90 mm de diâmetro. Na placa maior, as 12 UAs foram mergulhadas nos 100 ml de suspensão de esporos padronizada a aproximadamente 1×10^6 esporos/ml, como referido anteriormente. As restantes três UAs, denominadas C-, foram mergulhadas em soro fisiológico estéril contido na placa menor (Figura 45).

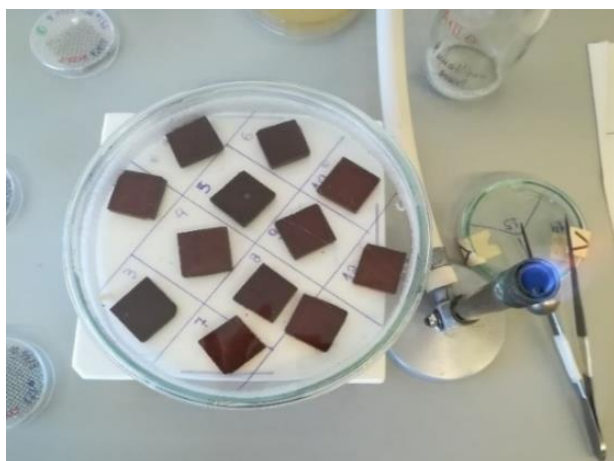


Figura 45: Imersão das Unidades Amostrais (UAs) em suspensão de esporos. © Rita Doria

O tempo de imersão das UAs na suspensão de esporos/soro fisiológico estéril foi de 8 minutos. Todo o procedimento foi realizado com material estéril e com técnica asséptica. Após esse tempo, cada amostra foi recolocada no interior da placa para incubação, acomodada e ajustada na grelha, sendo devidamente identificada. Para cada fungo foi obtido um conjunto de 15 placas contendo as UAs inoculadas/C-, que foram agrupadas dentro de uma caixa de poliestireno, tamanho 15 x 20 x 6 cm, devidamente higienizada com álcool a 70% e identificada (numeração, nome do fungo, data de inoculação e respectiva etapa do ensaio). No interior dessa caixa foi colocado um pequeno contentor com 30 ml de água destilada estéril adicionada de 0,1 ml de hipoclorito de sódio (NaClO), correspondendo a 0,33% do líquido total, a fim de evitar contaminação das amostras durante o longo período de incubação. As caixas foram parcialmente cobertas e acondicionadas em ambiente escuro, no interior da estufa microbiológica e por 7 meses (Figura 46), período essencial para que os micélios dos fungos pudessem recobrir homogeneamente as superfícies das UAs a serem sujeitas a ensaio.



Figura 46: Estufa microbiológica com as unidades amostrais nas caixas. © Rita Doria

A temperatura interna da estufa manteve-se ajustada a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e HR entre 80% a 90%, índices considerados ótimos para o desenvolvimento da maioria dos fungos mesófilos (Madigan, Martinko, Bender, Buckley & Stahl, 2016). Os valores de temperatura e de HR foram conferidos mensalmente com auxílio de um medidor Omega, modelo CTH 89/Temp/Humidity Recorder.

Considerando um período de incubação de 7 meses, e mesmo com a existência de um contentor com água no interior de cada caixa de incubação e outro na estufa, foi necessário manter a humidade dentro das placas de Petri. Assim, de forma a manter uma atmosfera com humidade mais ou menos constante, ao longo de todo o período de incubação, as placas de Petri contendo as UAs foram humidificadas a cada duas semanas com a adição de 0,5 ml de água destilada estéril, depositada na sua base com auxílio de uma pipeta estéril e em condições de assépsia.

9.2.5. Construção da estrutura física para ensaios com UV-C

Antes de proceder ao ensaio das UAs com radiação UV-C, e durante este período de incubação das amostras, realizou-se a construção da estrutura física para irradiação. Uma câmara foi especialmente concebida. A estrutura foi montada a partir da adaptação de uma caixa formada por base e tampa, com as medidas de 40 x 20 x 19 cm, conforme se ilustra na Figura 47.

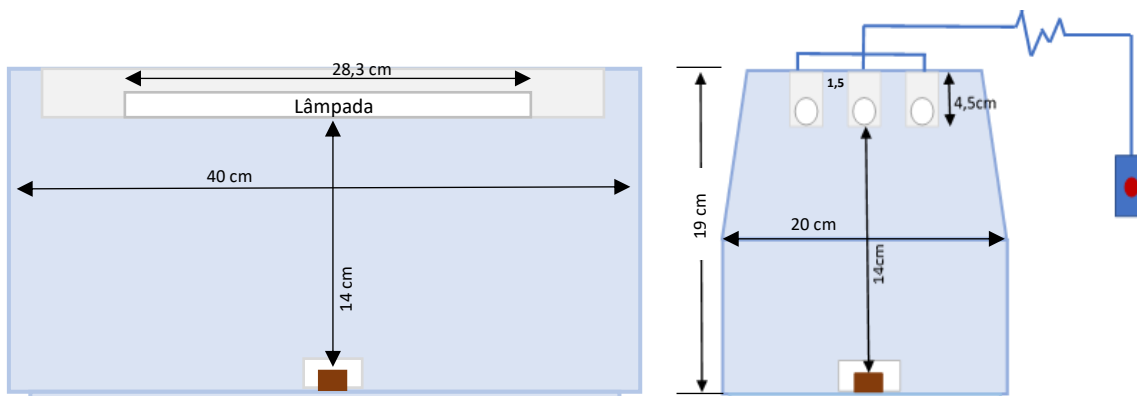


Figura 47: Desenho esquemático da câmara de ensaio e respetivas dimensões. © Rita Doria

Na parte interna e superior da tampa foram dispostas, paralelamente e equidistantes em 1,5 cm, três lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão, que emitem UV-C de 254 nm, de marca Philips, modelo TUV G8 T5. Outras informações técnicas encontram-se na Tabela 21.

Tabela 21: Especificações técnicas das lâmpadas germicidas Philips UV-C TUV G8 T5

| Características da lâmpada | | Medida |
|------------------------------------|-------------|-----------------|
| Potência irradiada por lâmpada = | 2,4 | Watts |
| Potência nominal de cada lâmpada = | 8 | Watts |
| Comprimento do cilindro = | 283,3 | mm |
| Diâmetro do cilindro = | 16 | mm |
| Área de superfície do cilindro = | 14 240,2 | mm ² |
| Principal aplicação | Desinfecção | |

Fonte: Adaptado do Catálogo Phillips (2019)

9.2.6. Determinação da dosagem de radiação UV-C, tempos de irradiação (T^i) e intervalos de repouso (I^{rep})

Para determinar a dose real de radiação UV-C a ser aplicada sobre as UAs, considerou-se cada lâmpada como a soma de diversas lâmpadas de comprimento

infinitesimal dx , e assim, calculou-se a dose emitida para cada uma, obtendo-se a dose total. As doses foram calculadas conforme as equações 1, 2, 3, 4 e 5, apresentadas em seguida.

Para a distância dos segmentos infinitesimais, para a lâmpada central (P_2) essa será dada por

$$l = \sqrt{r^2 + x^2} \quad (1)$$

para as lâmpadas externas (P_1 e P_3), a distância será dada por

$$l = \sqrt{r^2 + d^2 + x^2} \quad (2)$$

Considera-se que a potência emitida pela lâmpada é homogeneamente distribuída por toda ela, portanto, a emissão de cada segmento infinitesimal será $P_i = Pdx/L$. Sendo também a emissão isotrópica, igual em toda direção, uma UA de área "A", a uma distância "l", receberá apenas uma parcela = $A/(4\pi l^2)$ da dose emitida. Logo,

$$P_{\text{total}(t)} = P_1 + P_2 + P_3 \quad (3)$$

$$P_2 = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi l^2} \frac{dx}{L} = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi (x^2 + r^2)} \frac{dx}{L} = \frac{PA}{2\pi Lr} \arctan\left(\frac{L}{2r}\right) \quad (4)$$

$$P_1 = P_3 = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi l^2} \frac{dx}{L} = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi (x^2 + r^2 + d^2)} \frac{dx}{L} = \frac{PA}{2\pi L\sqrt{r^2 + d^2}} \arctan\left(\frac{L}{2\sqrt{r^2 + d^2}}\right) \quad (5)$$

Na figura 48 é apresentado um desenho esquemático com detalhe do posicionamento das lâmpadas no interior da câmara de tratamento, demonstrando as considerações para realizar o cálculo da soma de irradiância exercida pelas três

lâmpadas germicidas ($P_1 + P_2 + P_3$) sobre a amostra. A memória de cálculo completa encontra-se no Apêndice 1.

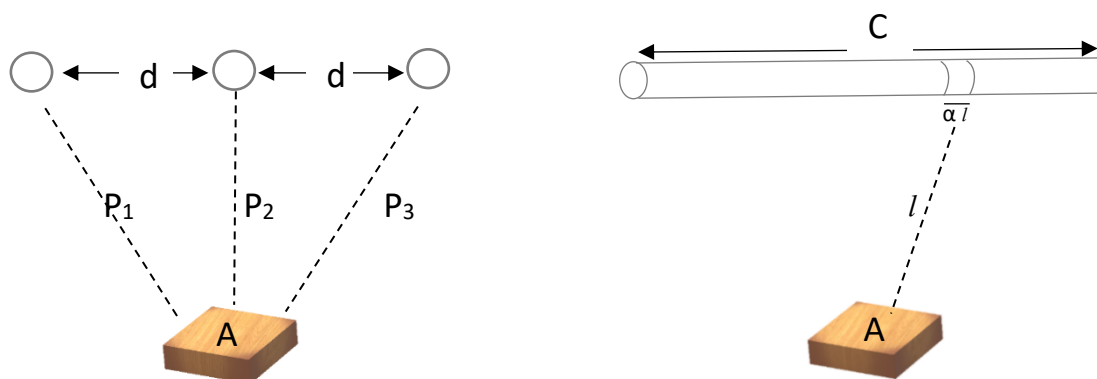


Figura 48: Montagem esquemática do processo de irradiação sobre a Unidade Amostral (UA). © Rita Doria

Onde:

Potência irradiada (P) = 2,4 W;

Comprimento da lâmpada (C) = 28,33 cm;

Distância entre as lâmpadas (d) = 1,5 cm;

Distância entre a fonte luminosa e a UA (r) = 14 cm;

Área da UA (A) = 4 cm²

Os ensaios foram realizados conforme as variáveis estabelecidas, ou seja, 1, 2 e 5 minutos para T^{ir} e zero, 5 e 20 minutos para I^{rep} . Consideraram-se para combinações de T^{ir} / I^{rep} , 9 UAs inoculadas, fornecendo os grupos descritos na Tabela 22.

Tabela 22: Grupo com 9 unidades amostrais (UAs) sujeito a ensaio com ciclos de irradiação tomando em consideração o tempo de exposição, separados por um período de repouso.

| Intervalo de repouso (I^{rep}) em minutos | Tempo de irradiação (T^{ir}) | | |
|--|----------------------------------|-----------|-----------|
| | 1 minuto | 2 minutos | 5 minutos |
| 0 | UA1 | UA2 | UA3 |
| 5 | UA1 | UA2 | UA3 |
| 20 | UA1 | UA2 | UA3 |

A seguir aos ensaios, as UAs permaneceram por 15 dias em estufa microbiológica regulada a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, tempo necessário para o ótimo crescimento dos fungos filamentosos selecionados. De notar que as placas foram humidificadas, conforme descrito no item 9.2.4. antes de serem colocadas na estufa, mantendo o nível da humidade no seu interior.

9.2.7. Registos fotográficos

Após os 7 meses de incubação das amostras, e com visível desenvolvimento dos fungos sobre as superfícies laterais e superior, os conjuntos de placas com as UAs contidas nas caixas acondicionadas na estufa microbiológica foram fotografados, tomando a precaução de que, em todas, os registos fotográficos obtidos fossem em igual área amostral.

As imagens obtidas serviram como recurso para o registo posterior das variações do crescimento fúngico entre as amostras tratadas e não sujeitas a radiação UV-C. Para captura das imagens utilizou-se uma câmara digital Nikon Coolpix 950, MDC Lens 0.82 – 0.29x acoplada em microscópio Nikon Eclipse E400.

A área amostral fotografada foi escolhida aleatoriamente entre um dos cantos e é equivalente a $0,25\text{ cm}^2$ da superfície superior e $0,50\text{ cm}^2$ correspondente a soma das superfícies laterais, conforme pode ser observado na Figura 49. Para não incorrer em equívoco, esta área recebeu uma pequena marca realizado com o corante Nigrosina.

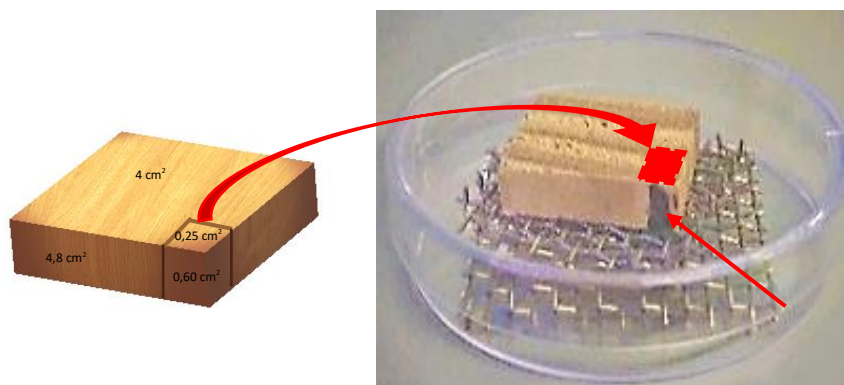


Figura 49: Indicação e dimensão da área amostral fotografada. © Rita Doria

9.2.8. Limpeza

Após o registo fotográfico, as superfícies das UAs passaram pelo processo de limpeza e, antes da irradiação e incubação, as mesmas áreas amostrais foram novamente fotografadas.

Para o processo de limpeza mecânica foram utilizadas zaragatoas estéreis humedecidas em água destilada estéril, com o objetivo de remover o máximo possível das estruturas fúngicas que se tinham desenvolvido sobre as superfícies da amostra. Este procedimento exigiu muita cautela na manipulação das UAs, a fim de evitar contaminação do material. As UAs limpas foram transferidas para novas placas de Petri devidamente identificadas e preparadas. Todo o procedimento, realizado em câmara de fluxo laminar, foi previamente padronizado, tendo as amostras sido submetidas a idênticas condições de limpeza das suas superfícies.

9.2.9. Aplicação da radiação não-ionizante UV-C

Após limpeza e registo fotográfico, as amostras foram sujeitas a irradiação. Previamente, foram estabelecidas as variáveis para “tempos de irradiação (T^{ir}) com radiação germicida UV-C e intervalos de repouso (I^{rep})” a serem aplicados às superfícies das UAs no decorrer do processo.

Para T^{ir} tomou-se como critério os valores de referência utilizados em variadas metodologias que fazem uso da radiação UV-C para desinfeção, esterilização e/ou controlo biológico de diversos produtos, a exemplo de superfícies de materiais e embalagens (paredes, pisos, plásticos, metais, madeiras), alimentos (chocolates, frutos, grãos, sementes, verduras, carnes e peixes), e líquidos (água, sumos, efluentes, esgotos sanitários). Algumas referências encontram-se descritas na Tabela 23, onde se observam distintas variações para tempo de irradiação entre 30 segundos a 10 minutos.

Tabela 23: Investigação usada como referência para valores de tempo de irradiação (T^{ir}) com radiação UV-C

| Referência | Microrganismo | Substrato | Tipo de superfície | Comprimento de onda (nm) | Tempo de irradiação em minutos | Nível atingido |
|--|---------------------|------------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Kuo <i>et al.</i> , 1997 | Fungo | Casca de ovo | Irregular | 254 | - | Redução |
| Silva, 2000 | Fungo/Bactéria | Película polietileno | Lisa | 254 | 0,003 | Controlo |
| González-Aguilar <i>et al.</i> , 2001 | Fungo | Fruto (manga) | Lisa | 254 | 10,0 | Controlo |
| Machado <i>et al.</i> , 2005 | Fungo | Frutos e tubérculos | Lisa/áspera | 254 | 6,0 | Controlo / redução |
| Valero <i>et al.</i> , 2007 | Fungo | Frutos secos | Rugosa | 254 | 0,5 / 1,0 / 5,0 | Redução |
| Basseto <i>et al.</i> , 2007 | Fungo | Fruto (pêssego) | Ciliosa | 254 | 10,0 / 1,0 | Controlo / redução |
| Ozcelik, 2007 | Fungo /bactéria | Metal | Lisa | 254 | 1,0 a 5,0 | Esterilização |
| Cia <i>et al.</i> , 2009 | Fungo | Fruto (uva) | Lisa | 254 | 0 a 8,0 | Controlo / redução |
| Begum <i>et al.</i> , 2009 | Fungo | Meio líquido | - | 254 | 1,0 / 2,0 / 3,0 | Redução |
| Ottati-de-Lima <i>et al.</i> , 2010 | Fungo | Grãos/farináceos | Lisa/porosa | 254 | 0,25 / 0,50 | Redução |
| Li <i>et al.</i> , 2010 | Fungo | Fruto (pera) | Lisa | 254 | 3,0 | Inibição |
| Siddiqui <i>et al.</i> , 2011 | Fungo | Feijão e raízes | Lisa/áspera | 254 | 6,0 | Controlo |
| Nascimento Santos, Valdebenito-Sanhueza e Bartnicki, 2014 | Fungo | Fruto (manga e melão) | Rugosa (casca) | 254 | 0,5 / 1,0 | Controlo |
| Napolitano, Mahapatra & Tang, 2015 | Agentes microbianos | Ar ambiente | - | 254 | - | Redução |
| Henrique, 2015 | Agentes microbianos | Fruto (uvas) | Lisa | 254 | 2,54 / 5,08 / 7,62 | Controlo |
| Santos <i>et al.</i> , 2016 | Fungo | Oleaginosas (castanha) | Rugosa (celulósica) | 254 | 1,0 | Controlo |
| Sheikh Mohamed <i>et al.</i> , 2017 | Fungo | Fruto (banana) | Lisa | 254 | 1,0 / 2,0 / 5,0 | Redução |
| Terao, D., Cartaxo, C. B. da C., Konda, E. T. & Santos, S. R. dos., 2019 | Fungo | Castanhas | Rugosa (celulósica) | 253,7 | 0,34 / 1,7 / 2,14 / 4,27 | Controlo |
| Bortoluzzi, De Moraes, Scopel & Perdoncini, 2020 | Fungo (bolor) | Castanha de caju | Lisa | 265 / 280 | 10,0 | Redução |

Optou-se pelos menores tempos de exposição, preferencialmente os utilizados em produtos de superfícies rijas como grãos e frutos secos (oleoginosas) cuja casca é lenhosa, ou seja, é constituída de lignina e holocelulose (Bonelli *et al.*, 2001) e pelos princípios éticos de não causar problemas à conservação das madeiras em virtude da incidência de radiação UV, considerada nociva aos materiais celulósicos se expostos a uma dose elevada. Tendo isso em consideração, os tempos de irradiação aplicados foram 1 minuto, 2 minutos e 5 minutos.

O critério adotado para I^{rep} foi baseado numa probabilidade de ocorrência do efeito sombra, aspeto já mencionado no Ponto 5.2. Portanto, para minimizar esse possível efeito, a amostra receberia uma outra dose, passados 5 ou 20 minutos de repouso após a primeira exposição, para aferir a eficiência da ação germicida. Este parâmetro foi aplicado por não terem sido encontrados, na literatura, metodologias alusivas ao uso da radiação UV-C como recurso para tratamentos de superfícies de madeiras com presença de fungos, o que revestiu este estudo de complexidade acrescida, mas também de importância e inovação.

O dispositivo desenvolvido (Ponto 9.2.5) para a aplicação da radiação UV-C foi descontaminado e colocado no interior de uma câmara de fluxo laminar, a fim de garantir a não contaminação do material durante o procedimento. Antes de dar início ao protocolo de ensaio, as lâmpadas germicidas do equipamento permaneceram ligadas por 5 minutos para estabilizar a emissão da radiação (Figura 50).

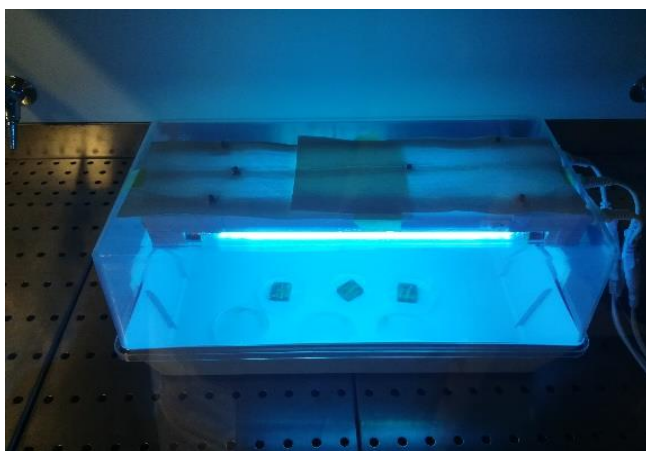


Figura 50: Câmara de ensaio para irradiação com UV-C. © Rita Doria

As placas de Petri contendo as amostras foram acomodadas no seu interior, destapadas e dispostas sobre a base da câmara de ensaio, posicionadas ao centro, a uma distância de 14 cm entre a fonte de UV-C e a UA proporcionando maior exposição. Dessa forma, o ADN dos fungos existentes na superfície da amostra absorve, via mecanismo fotoquímico, a radiação, aumentando assim as hipóteses de redução da carga fúngica (Koutchma et al., 2009).

Findo o ensaio de irradiação, as caixas com o conjunto de placas voltaram para estufa microbiológica para 15 dias de incubação, após o que as mesmas áreas tornaram a ser fotografadas.

9.3. Avaliação quantitativa do efeito direto da radiação UV-C

9.3.1. Critérios de quantificação de crescimento

Para a análise semi-quantitativa, foram selecionadas as melhores imagens fotográficas obtidas de cada UA antes e após o ensaio com radiação UV-C. Em seguida, foi realizada uma avaliação visual criteriosa das áreas amostrais definidas em cada UA. As imagens selecionadas foram organizadas com as seguintes categorias:

- a) Imagem da área amostral na UA inoculada após 7 meses de incubação;
- b) Imagem da área amostral na UA limpa e irradiada (nos diferentes T^{ir} e I^{rep});
- c) Imagem da área amostral na UA limpa e irradiada e com 15 dias de incubação após o ensaio com radiação UV-C;
- d) Imagem da área amostral na UA controle positivo (C+), não irradiada e incubada 15 dias após limpeza, e do controle negativo (C-), não inoculada.

Conforme esta sequência de categorias, as imagens foram dispostas em tabelas, considerando três por cada fungo, ou seja, na 1ª tabela as sequências T^{ir} e sem I^{rep} , na 2ª tabela as sequências T^{ir} e I^{rep} de 5 minutos e na 3ª tabela as sequências T^{ir} e o I^{rep} de 20 minutos. O número total de tabelas, apresentadas no Apêndice 2, foi de 54.

A observação seguida da avaliação comparativa foi realizada entre as imagens das UAs quando limpas e antes de irradiadas nas diferentes condições (T^{ir} e respectivos I^{rep}), com as imagens dessas mesmas UAs após 15 dias da sua irradiação. O critério para comparação foi igualmente aplicado ao C+.

Neste procedimento, visualmente, foram observadas as diferenças entre as amostras limpas a irradiar e as amostras irradiadas após 15 dias de incubação, permitindo verificar o efeito da radiação UV-C na carga fúngica e no desenvolvimento do fungo após ensaio.

A quantificação das alterações ocorridas teve como base a atribuição de um valor percentual médio de contaminação, que variou de acordo com a presença ou ausência de fungo visível nas superfícies das UAs. Estes percentuais permitiram ordenar uma classificação para cada fungo sujeito a ensaio e foram calculados com base no tamanho das áreas amostrais observadas e analisadas. A área final considerada para estudo como elemento de análise (100%) foi de 0,75cm² em um dos cantos da UA total composta por 0,25 cm² da superfície superior e 0,50 cm² das superfícies laterais.

Dessa forma, avaliou-se e quantificou-se o desenvolvimento dos fungos proporcionalmente a área afetada, da seguinte forma: os campos marcados com 0% representam “Ausência de fungos em ambas as áreas amostrais”. Para a “Presença de fungos na superfície superior e Ausência nas superfícies laterais”, atribuiu-se o percentual de 29,4%. Utilizando a mesma lógica, para a “Ausência de fungos na superfície superior e Presença de fungo nas superfícies laterais”, atribuiu-se o percentual de 58,8%, e para a “Presença de fungos na superfície superior e superfícies laterais”, temos que 100% da área analisada foi afetada.

9.3.2. Análise estatística dos dados, com base nos ensaios realizados

A análise estatística se constitui de duas principais áreas, a descritiva que envolve a representação dos dados em que se descreve o que se observa exclusivamente na amostra e a estatística inferencial, onde é possível obter conclusões acerca da população baseadas nos dados da amostra. Uma das principais funções da estatística inferencial é o teste de hipóteses, que tem como objetivo comparar e validar, cientificamente, diferentes condições experimentais. As primeiras técnicas inferenciais, chamadas técnicas paramétricas, são baseadas em suposições sobre as características

populacionais das quais as amostras foram retiradas. Quando essas suposições não podem ser verificadas, técnicas que não fazem suposições restritivas, ou seja, técnicas não-paramétricas, são uma alternativa (Siegel & Castellan, 2006).

Quando se deseja comparar duas ou mais amostras em que essas provêm de uma mesma população ou de populações distintas, o teste de Kruskal-Wallis é o teste não-paramétrico alternativo à conhecida Análise de Variância (ANOVA) paramétrica. No momento em que essa análise não pode ser utilizada, aponta-se as seguintes hipóteses: a variável dependente não estar a ser normalmente distribuída ou que essa metodologia não requer grande quantidade de observações (Kruskal e Wallis, 1952).

Os dados foram tabelados pelo programa *Excel* e as análises foram feitas pelo programa SPSS versão 23.0. Para proceder as análises não-paramétricas, será adotado o nível de significância de 5% para os testes de hipóteses. Em complementação a essa análise, serão utilizadas comparações múltiplas não-paramétricas para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as médias obtidas anteriormente.

9.4. Conceito da prova: avaliação do efeito da radiação UV-C em fungo selecionado sobre UAs

Considerando a complexidade em medir o desenvolvimento fúngico sobre as superfícies das UAs pelo critério de observação das variáveis entre as UAs antes e após ensaios com radiação UV-C, recorreu-se a um ensaio quantitativo como conceito da prova. Este ensaio teve caráter de estudo de caso, tendo sido empregue um dos fungos usado no teste quantitativo. O propósito foi quantificar o número de unidades formadoras de colónias (UFC) que crescem sobre meio de cultura, antes e após irradiação com luz UV-C. O fungo utilizado foi escolhido por apresentar bom desenvolvimento e esporulação, permitindo uma rápida contagem das UFC.

9.4.1. Quantificação do crescimento após exposição à radiação UV-C

Neste ensaio, as UAs foram inoculadas como anteriormente descrito para o ensaio de avaliação qualitativa. As amostras foram então irradiadas, usando as diferentes condições referidas, e o número de elementos fúngicos viáveis foi contado em comparação com amostras controlo não irradiadas.

As culturas e suspensão de esporos do fungo selecionado foram realizadas exatamente como descritas no ponto 9.2.3. Sucintamente, o fungo foi cultivado em PDA por cinco dias e a suspensão de esporos foi preparada em 100 ml de soro fisiológico com *Tween* 80 estéril. Os 100 ml de suspensão contendo $\pm 1 \times 10^6$ esporos/ml foram vertidos sobre as UAs que se encontravam no interior de uma placa de Petri de 150 mm e permaneceram imersas por 8 minutos a fim de serem inoculadas, tal como descrito no Ponto 9.2.4. No final deste tempo, as UAs foram removidas e acondicionadas, individualmente, em placas de Petri estéreis.

Neste ensaio foram inoculadas 14 UAs. As amostras sofreram uma incubação por tempo variável, antes da sua irradiação com luz UV-C, e o T_{ir} usado foi de 2 minutos ou de 5 minutos. Assim: a) quatro UAs foram usadas para tratar com UV-C 1 hora após a inoculação e incubação; b) três UAs irradiadas 24 horas após inoculação e incubação; c) quatro UAs foram inoculadas e incubadas por 10 dias antes da irradiação; d) três UAs foram irradiadas ao fim de 10 dias de incubação após inoculação e incubadas por mais 10 dias após irradiação. O procedimento é pormenorizado de seguida.

Todas as amostras foram processadas para contagem das UFC/ml, após o respetivo tratamento.

a) Contagem uma hora após inoculação

As UAs 1 e 2 foram mantidas na estufa microbiológica por 1 hora, após inoculação, e retiradas para contagem. Estas amostras funcionam como controlo. Foram feitas em duplicado para garantia de avaliação do número de elementos viáveis que é possível recuperar, por este processo, após a sua inoculação na superfície do material.

As UAs 3 e 4, após inoculação, foram mantidas na estufa microbiológica por 1 hora e, decorrido este tempo, foram retiradas e imediatamente irradiadas por 2 minutos (UA 3) e 5 minutos (UA 4) de uma forma contínua sem I^{rep}.

Após o tratamento, as UAs 1, 2, 3 e 4 foram imediatamente introduzidas no interior de tubos estéreis contendo 10 ml de soro fisiológico estéril e agitados no Vortex por 1 minuto, a fim de remover os esporos aderidos à superfície das UAs. Das suspensões obtidas foi efetuada a contagem de UFC/ml (Figura 51).

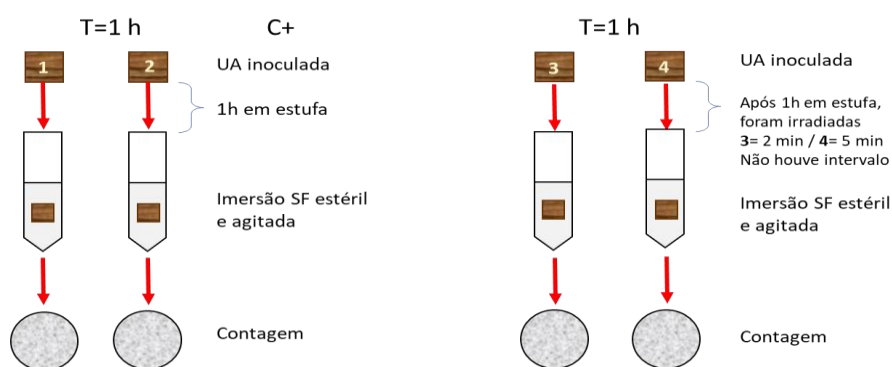


Figura 51: UA: Esquema de ensaio de amostras para contagem de CFU/ml 1 hora após inoculação (T=1h). UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controle positivo. © Rita Doria

b) Contagem 24 horas após inoculação

A UA 5 foi mantida na estufa por 24 horas após inoculação. Retirada foi usada como controle.

As UAs 6 e 7 foram mantidas na estufa por 24 horas após inoculação, retiradas e imediatamente irradiadas por 2 minutos (UA6) e 5 minutos (UA7) sem I^{rep}.

As UAs 5, 6 e 7 foram imediatamente tratadas como descrito em a) para a contagem de UFC/ml (Figura 52).

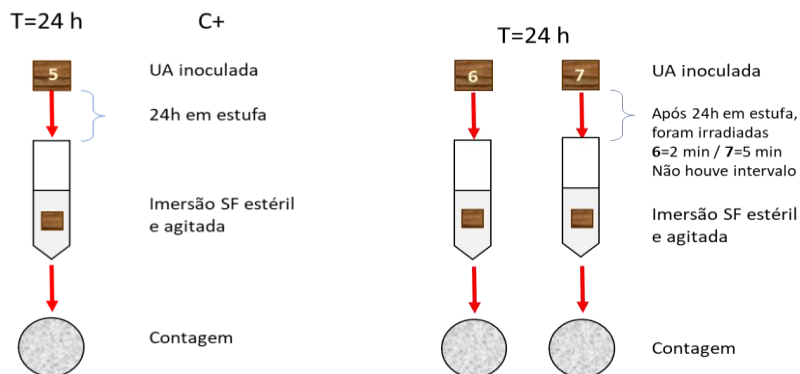


Figura 52: Esquema de ensaio de amostras para contagem de CFU/ml 24 horas após inoculação (T=24h). UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controle positivo. © Rita Doria.

c) Contagem 10 dias após inoculação

As UAs 8 e 9, após inoculação, foram mantidas na estufa por 10 dias e decorrido este tempo foram retiradas, tendo funcionado como controlo.

As UAs 10 e 11, após inoculação, foram mantidas na estufa por 10 dias e, decorrido este tempo, foram retiradas e imediatamente irradiadas por 2 minutos (UA10) e 5 minutos (UA11) sem haver I^{rep}.

As UAs 8, 9, 10 e 11 foram imediatamente tratadas como descrito em a) para a contagem de UFC/ml (Figura 53).

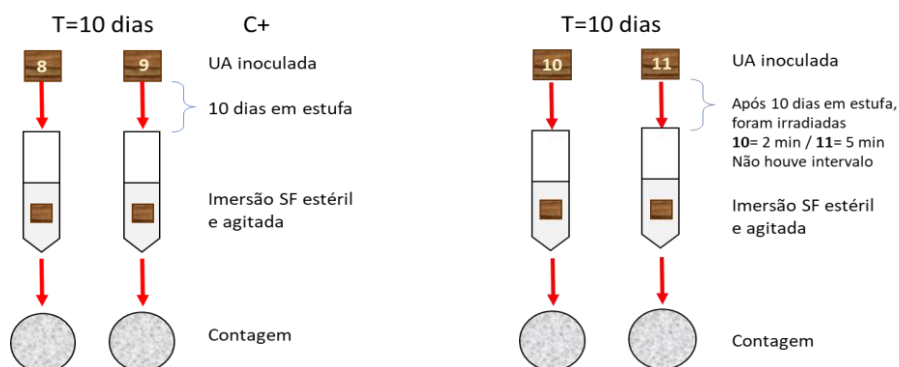


Figura 53: Esquema de ensaio de amostras para contagem de CFU/ml 10 dias após inoculação. UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controle positivo. © Rita Doria.

d) Contagem 20 dias após inoculação: 10 dias de incubação, irradiação e 10 dias de incubação

A UA 12, após inoculação, foi mantida na estufa por 20 dias, funcionando como controlo.

As UAs 13 e 14, após inoculação, foram mantidas na estufa por 10 dias e, decorrido este tempo, foram retiradas e irradiadas por 2 minutos (UA13) e 5 minutos (UA14), sem I^{rep}. Retornaram à estufa por mais 10 dias, antes de serem tratadas para contagem.

As UAs 12, 13 e 14 foram imediatamente tratadas como descrito em a) para a contagem de UFC/ml (Figura 54).

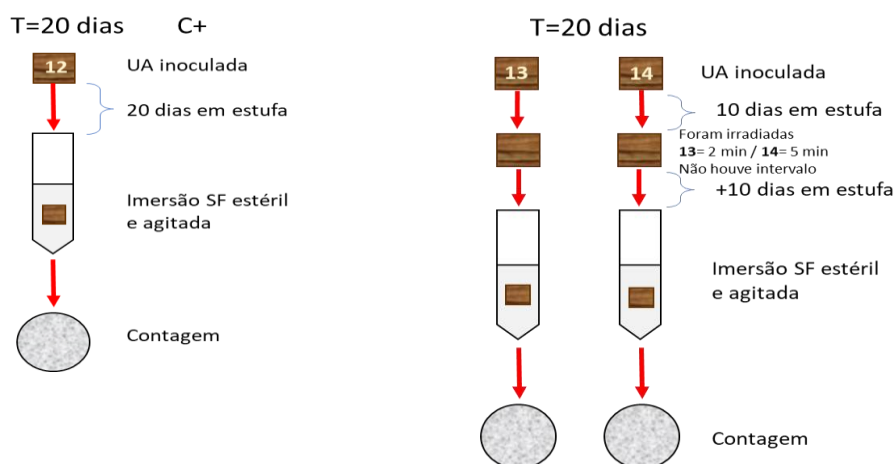


Figura 54: Esquema de ensaio de amostras para contagem de CFU/ml 10 dias após inoculação antes da irradiação + 10 dias de incubação após irradiação. UA: unidade amostral; SF: soro fisiológico; C+: controlo positivo. © Rita Doria

A contagem das UFC foi efetuada em duplicado para cada UA por sementeira a partir da suspensão obtida em soro fisiológico, e previamente descrita. A sementeira foi efetuada na superfície seca e estéril de meio de cultura de SDA contido em placas de Petri de 90 mm. O volume de 100 µl, direto da suspensão da UA e das suas diluições, foi depositado na superfície do meio e uniformemente distribuído na sua superfície, com ajuda de um espalhador estéril.

Para avaliar o número de esporos/UFC, partiu-se do pressuposto que, se a suspensão de inoculação continha $\pm 1 \times 10^6$ esporos/ml, e foi efetuada uma diluição das UAs em 10 mL de soro fisiológico, obtivemos um número que terá no máximo 1×10^5 esporos/ml. Como a contagem foi efetuada em 100 μ l de suspensão, teremos um número que pode estar próximo de $\pm 1 \times 10^4$ UFC. As contagens para fungos filamentosos não devem ultrapassar um número de unidades superior a 150 na placa. Assim, houve necessidade de efetuar uma diluição de 1/10, ou seja, 1 ml de suspensão com 9 ml de soro fisiológico, de forma a obter um valor de $\pm 1 \times 10^4$ esporos na suspensão, que contado em 100 μ l dará $\pm 1 \times 10^3$, e assim sucessivamente até permitir contar na suspensão um número de UFC dentro do intervalo estabelecido. De forma a avaliar qualquer variação no resultado, quer de redução devida ao efeito da radiação UV-C, quer de aumento devido ao período de incubação de algumas amostras, as suspensões foram diluídas de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e as contagens feitas a partir dessas diluições.

As placas semeadas incubaram em estufa microbiológica ($T= 25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) por 3 a 5 dias, e foram contadas as colônias das placas que apresentavam um número compreendido entre 15 e 150. No final, a média da contagem foi multiplicada pelos fatores de 10 x, para obter nº UFC/ml, e pelo fator de diluição usado em cada UA. O ensaio foi repetido três vezes.

9.4.2 Análise estatística do Conceito da prova

Para análise dos dados obtidos no ensaio de tratamento referente ao conceito da prova, os dados estatísticos foram obtidos por meio do teste não-paramétrico de Dunn com o programa *Software GraphPad Prism 8*.

Resultados obtidos e discussão

10.1. Identificação dos fungos isolados das madeiras das coberturas

Nos meses de junho de 2015 e julho de 2016, foram realizadas as recolhas das amostras nas duas estruturas de cobertura, respetivamente nas cidades de Salvador e Porto. Ocorreram em diferentes pontos nas estruturas, para proporcionar uma maior representatividade e diversidade de espécies fúngicas presentes nesses locais. Como resultado do isolamento, foi possível obter um total de 516 culturas puras de fungos filamentosos, 225 para Salvador e 291 para o Porto. Foi verificado um predomínio de fungos pertencentes ao filo *Ascomycota*, com destaque para os fungos filamentosos cromogéneos e bolores, em sintonia com resultados de outros autores (Viana Neto & Milano, 1984).

Efetuada uma identificação baseada nas características fenotípicas (macroscópicas e microscópicas) os isolados foram agrupados pela sua similaridade. Dentre o material obtido, e considerando não haver condições para identificar até à espécie todos os isolados, prosseguiram para identificação molecular 80 dos isolados, 40 por cada estrutura de cobertura.

10.1.1. Identificação fenotípica e molecular

As Tabelas 24 e 25 apresentam os resultados da identificação dos 40 fungos selecionados para cada uma das duas estruturas, com indicação dos respetivos géneros e espécies, sempre que tal se mostrou possível.

Tabela 24: Fungos identificados por biologia molecular, amostras do Porto

| Isolados da madeira para Porto | | | |
|--------------------------------|---------------------------|--|---|
| | Género | Espécie | |
| Numeração atribuída | Identificação morfológica | Identificação molecular/ITS | |
| 1 | C2 VI α | <i>Cladosporium</i> spp. | <i>Cladosporium cladosporioides</i> |
| 2 | D2 VIII α | <i>Cladosporium</i> spp. | <i>Cladosporium sphaerospermum</i> |
| 3 | F1 VII α | <i>Cladosporium</i> spp. | <i>Cladosporium halotolerans</i> |
| 4 | B1 VI € | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus flavus/A. oryzae</i> |
| 5 | D2 VIII € | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus terreus</i> |
| 6 | E2 IV γ | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Neosartorya hiratsukae</i> |
| 7 | C1 X β | <i>Aspergillus</i> spp. | * <i>Aspergillus</i> |
| 8 | B1 III π | <i>Aspergillus</i> spp. | * <i>Aspergillus</i> |
| 9 | B1 VIII γ | <i>Aspergillus niger</i> complexo | <i>A. niger/A. tubingensis</i> |
| 10 | F1 II β | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus fumigatus</i> |
| 11 | C1 III α | <i>Mucor</i> spp. | <i>Mucor plumbeus</i> |
| 12 | B2 I γ | <i>Chaetomium</i> spp. | ** <i>Chaetomium</i> |
| 13 | B2 VII α | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium glabrum</i> |
| 14 | E1 III γ | <i>Penicillium / Tallaromyces</i> spp. | <i>P. dendriticum/Talaromyces denditricus</i> |
| 15 | C1 III β | <i>Paecilomyces</i> spp. | <i>Paecilomyces saturatus</i> |
| 16 | D2 III β | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium glabrum</i> |
| 17 | F1 IV α | <i>Penicillium / Tallaromyces</i> spp. | <i>Penicillium radicum/Talaromyces radicus</i> |
| 18 | D2 IX α | ?? (Esbranquiçada, sem esporos) | <i>Alternaria malorum</i> |
| 19 | A2 IV γ | ?? (Esporos encurvados com vacúolos) | ## <i>Hormographiella verticillata</i> |
| 20 | C1 VI γ | <i>Nigrospora</i> spp. | <i>Nigrospora oryzae</i> |
| 21 | C1 II β | <i>Curvularia</i> spp. | <i>Curvularia borrieriae</i> |
| 22 | D1 V α | <i>Paecilomyces</i> spp. | <i>Paecilomyces variotii</i> |
| 23 | A1 IV α | <i>Paecilomyces</i> spp. | <i>Paecilomyces saturatus</i> |
| 24 | C2 V α | <i>Botrytis</i> spp. | <i>Botrytis cinerea=Botryotinia fuckeliana</i> |
| 25 | F2 VII α | <i>Botrytis</i> spp. | <i>Botrytis cinerea=Botryotinia fuckeliana</i> |
| 26 | B1 V γ | <i>Botrytis</i> spp. | <i>Botrytis cinerea=Botryotinia fuckeliana</i> |
| 27 | D1 VII α | ?? (Micélio estéril branco) | <i>Coriopsis gallica</i> |
| 28 | B1 VI γ | ?? (Micélio estéril negro) | <i>Toxicocladosporium irritans</i> |
| 29 | C1 V α | <i>Epicoccum</i> spp. | <i>Epicoccum nigrum</i> |
| 30 | E1 VII α | <i>Chaetomium</i> spp. | Contaminou |
| 31 | D1 III γ | ?? (Micélio estéril) | Eliminado |
| 32 | C1 II β | <i>Curvularia</i> spp. | <i>Curvularia borrieriae</i> |
| 33 | F2 IV γ | <i>Alternaria ? Ulocladium ?</i> | # <i>Ulocladium danci/Embellisia didymospora</i> |
| 34 | B1 V € | <i>Alternaria ? Ulocladium ?</i> | <i>Alternaria alternata/Ulocladium sorghi</i> |
| 35 | B1 IV β | <i>Alternaria ?/Ulocladium ?</i> | <i>Ulocladium sorghi</i> ou <i>U. consortiale</i> |
| 36 | B2 X β | <i>Alternaria</i> spp. | <i>Alternaria seleniiphila</i> |
| 37 | F2 I γ | <i>Alternaria</i> spp. | Contaminado |
| 38 | A2 II β | <i>Alternaria</i> spp. | <i>Alternaria alternata</i> ou <i>A. yali-inficiens</i> |
| 39 | A2 II α | ?? <i>Crisonilia</i> spp. | Impossível identificar |
| 40 | D2 V β | ?? (Hifas e esporos pequenos) | Impossível identificar |

*São *Aspergillus*, mas não foi possível extrair o ADN

**É *Chaetomium*, mas não foi possível a identificação molecular até à espécie

#*Ulocladium danci/Embellisia didymospora=Alternaria didymospora*

##Observação ao microscópio: tipo macroconídios de *Fusarium*, mas com vacúolos dentro, apresenta pontos brancos na cultura, o que poderia ser basídio ou basidiósporos de *Hormographiella verticillata/Coprinellus domesticus*

Tabela 25: Fungos identificados por biologia molecular, amostras de Salvador

| Isolados da madeira para Salvador | | | |
|-----------------------------------|-----------|---|--|
| Numeração atribuída | | Gênero | Espécie |
| | | Identificação morfológica | Identificação molecular/ITS |
| 1 | D1 IV β | <i>Cladosporium</i> spp. | <i>Cladosporium cladosporioides</i> |
| 2 | E1 III α | <i>Cladosporium</i> spp. | <i>C. tenuissimum</i> ou <i>C. cladosporioides</i> |
| 3 | D1 V α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus niger</i> |
| 4 | C2 IX α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus niger</i> |
| 5 | D1 VIII α | <i>Penicillium /Tallaromyces</i> spp. | <i>Tallaromyces variabilis</i> |
| 6 | A1 II γ | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus flavus</i> |
| 7 | E2 V β | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus nomius</i> |
| 8 | B2 III α | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium sclerotiorum</i> |
| 9 | B1 V α | <i>Chaetomium</i> spp. | <i>Chaetomium globosum</i> |
| 10 | F2 III β | <i>Chaetomium</i> spp. | <i>Chaetomium globosum</i> |
| 11 | F1 IX θ | <i>Chaetomium</i> spp. | * <i>Chaetomium</i> |
| 12 | C2 VIII β | <i>Chaetomium</i> spp. | <i>Chaetomium madrasense</i> |
| 13 | C1 V β | <i>Penicillium /Tallaromyces</i> spp. | <i>Tallaromyces variabilis</i> |
| 14 | B2 IV α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus niger</i> |
| 15 | F2 IX β | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus heteromorphus</i> |
| 16 | E1 V α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus sydowii</i> |
| 17 | C2 III β | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus sydowii</i> |
| 18 | D1 IV α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus tubingensis</i> |
| 19 | B2 II α | <i>Coprinellus</i> spp. | <i>Coprinellus radians</i> |
| 20 | E2 IX α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus sydowii</i> |
| 21 | A1 II θ | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium citrinum</i> |
| 22 | B1 II α | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium</i> spp. |
| 23 | D1 II α | <i>Penicillium</i> spp. | <i>Penicillium</i> spp. |
| 24 | F2 VII α | <i>Colletotrichum</i> spp. | <i>C. gloeosporioides</i> |
| 25 | A1 V α | <i>Coprinellus</i> spp. | <i>Coprinellus radians</i> |
| 26 | B1 VI β | ?? (Micélio estéril) | Impossível identificar |
| 27 | C1 III α | ?? (Micélio estéril) | Eliminado |
| 28 | A2 III α | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus niger</i> |
| 29 | B2 I β | <i>Phaeopheriopsis</i> spp. | <i>Phaeopheriopsis musae</i> |
| 30 | C1 II β | ?? (Micélio estéril, reverso castanho escuro) | <i>Drechslera dematiaceo</i> |
| 31 | D1 III β | ?? (Micélio estéril) | Contaminou |
| 32 | E1 VII γ | <i>Coprinellus</i> spp. | <i>Coprinellus radians</i> |
| 33 | E1 VIII γ | <i>Preussia</i> spp. | <i>Preussia pilosella</i> |
| 34 | A1 VIII β | <i>Colletotrichum</i> spp. | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> |
| 35 | F1 VIII β | ?? (Esporos negros) | <i>Rhizopus stolonifer</i> |
| 36 | B2 V α | <i>Aspergillus</i> spp. | Contaminou |
| 37 | C1 VII γ | <i>Colletotrichum</i> spp. | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> |
| 38 | D1 II € | <i>Preussia</i> spp. | <i>Preussia Pilosella</i> |
| 39 | D1 VIII γ | <i>Aspergillus</i> spp. | <i>Aspergillus pseudodeflectus</i> |
| 40 | F1 I θ | <i>Chaetomium</i> spp. | <i>Chaetomium globosum</i> |

*É *Chaetomium*, mas não foi possível a identificação molecular até à espécie

Como foi possível observar, nos por meio dos resultados apresentados nas tabelas anteriores, mesmo tendo partido das amostras preservadas e purificadas para obtenção das culturas para extração do ADN, de alguns isolados não foi conseguida a identificação até à espécie, mesmo usando a biologia molecular. De alguns isolados os *primers* usados não permitiram chegar à identificação de espécie, enquanto de outros não foi conseguida a extração de ADN, ou ocorreu contaminação e não foi possível prosseguir com a análise. Mesmo assim, dos 80 fungos selecionados para as duas estruturas, cerca de 90% dos isolados foram identificados por biologia molecular e desses 92% foram identificados até à espécie. Desta identificação resultou a presença expressiva dos géneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., em ambas as estruturas, e foram também identificados em abundância os géneros *Chaetomium* e *Alternaria*, distintos por cada estrutura.

Estudos realizados por Santos (2011) sobre diferentes materiais, incluindo as madeiras empregues no exterior de edificações na cidade de Salvador e arredores mais próximos, identificaram a presença de diferentes géneros fúngicos, com grande incidência de *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium* e também *Phialophora* e *Rhizopus*, considerados os responsáveis pelos processos de biodeterioração em curso. Igualmente na cidade de Barreiras, estado da Bahia, Rêgo & Santos (2015) registaram uma elevada quantidade e diversidade de géneros de fungos presentes no ar, sendo *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus* os mais frequentes, com destaque nas zonas do centro histórico. Observa-se, assim, que os géneros *Aspergillus* e *Penicillium* são comumente encontrados em materiais de construção na cidade de Salvador, o que corrobora os indicadores obtidos das madeiras de recolha nessa cidade.

Em relação à cidade do Porto, estudos apontaram para uma variedade de esporos fúngicos na atmosfera urbana, sendo os mais frequentes pertencentes aos géneros *Cladosporium*, *Ganoderma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Coprinus* e outros em menores concentrações (Oliveira, Abreu, Ribeiro & Delgado, 2007). Em Lisboa, os dados obtidos por Santos (2011) mostram haver predominância de *Cladosporium* e *Alternaria* na atmosfera local. No caso do Porto, o estudo desenvolvido

permitiu aferir que os géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Alternaria* são os mais representados nas madeiras da cobertura.

10.2. Fungos selecionados para os ensaios com radiação UV-C e suas características

A Tabela 26 apresenta os 6 fungos selecionados (4 géneros de fungos e respetivas espécies), pertencentes ao filo *Ascomycota*, para serem utilizados nos ensaios com UV-C, de acordo com os critérios estabelecidos em 9.2.1.

Tabela 26: Fungos selecionados para os ensaios com UV-C

| Localidade de recolha | Numeração atribuída | Género | Espécie |
|-----------------------|---------------------|--------------------|-----------------------------------|
| Porto | F1 II β | <i>Aspergillus</i> | <i>Aspergillus fumigatus</i> (Af) |
| | D2 III β | <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium glabrum</i> (Pg) |
| | A2 II β | <i>Alternaria</i> | <i>Alternaria alternata</i> (Aa) |
| Salvador | B1 V α | <i>Chaetomium</i> | <i>Chaetomium globosum</i> (Cg) |
| | A1 II θ | <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium citrinum</i> (Pc) |
| | E1 V α | <i>Aspergillus</i> | <i>Aspergillus sydowii</i> (As) |

Demonstraram ser os mais frequentes nos pontos de recolha que se indicam (conforme indicado no Ponto 7.2.2.1), relacionando-os com respetivos níveis de iluminância:

- Salvador (Figura 33)
 - Chaetomium globosum* - Ponto B ($> 10 \leq 30$ Lux – Baixo)
 - Penicillium citrinum* - Ponto A ($> 30 \leq 60$ Lux – Moderado)
 - Aspergillus sydowii* - Ponto E (≤ 10 Lux – Muito baixo)
- Porto (Figura 34):
 - Alternaria alternata* - Ponto A ($> 30 \leq 60$ Lux – Moderado)
 - Aspergillus fumigatus* - Ponto F (≤ 10 Lux – Muito baixo)
 - Penicillium glabrum* - Ponto D (≤ 10 Lux – Muito baixo)

Em estudos relacionados com as condições de desenvolvimento de fungos filamentosos em superfícies de diversos materiais, incluindo em madeiras presentes no interior de edificações, Scheffer (1973), Allsopp et al. (2004) e Botelho Jr. (2006) salientam que, apesar das diversas espécies de fungos que colonizam os materiais, os selecionados para os ensaios que foram desenvolvidos no contexto desta investigação encontram-se entre os que tendem a ser dominantes em madeiras e mais comumente encontrados, em ambientes internos, sobre a sua superfície, pelo que, assume-se, terá sido importante a sua integração no grupo sujeito aos ensaios, pelo interesse em considerar a sua reação quando sujeitos à radiação UV-C.

Os géneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram os de mais ampla ocorrência, comuns às duas localidades, e selecionados por apresentarem maior abundância. Conforme Furtado (2000) esses géneros incluem os fungos filamentosos de bolor e/ou mancha comumente encontrados em madeiras. São saprófitos, cosmopolitas e, portanto, geralmente encontrados em áreas de grande movimentação urbana, o que corresponde aos locais de recolha das estruturas de interesse nesta investigação. Com esporos (ou conídios) extremamente pequenos e leves, facilmente se deslocam pelas correntes de ar e circulam por entre os espaços nas estruturas construtivas, colonizando as superfícies dos materiais, mesmo os que se encontram em espaços distintos dos edifícios, como em reserva ou em exposição em museus. Esses géneros apresentam alta adaptabilidade e podem ser verificados em zonas de clima tropical, como Salvador, ou temperado, como o Porto (Kaarik, 1980; Furtado, 2000). Considerando a frequência com que esses géneros se apresentaram nas amostras de recolha é provável a existência de uma discreta e contínua atividade biológica em curso na superfície das madeiras das estruturas de cobertura em questão, porquanto aspetos do seu desenvolvimento também já foram identificados em ambientes de arquivos, bibliotecas e museus (Borrego et al., 2012; Guiamet, Borrego, Lavin, Perdomo & Gómez de Saravia, 2011).

Do género *Aspergillus* foram selecionadas as espécies *A. fumigatus* e *A. sydowii* e para *Penicillium* as espécies *P. glabrum* e *P. citrinum*, cujas características se descrevem abaixo.

- *Aspergillus fumigatus*

Os fungos do género *Aspergillus* são filamentosos anemófilos responsáveis por causarem as maiores contaminações no ar de ambientes fechados, podendo algumas de suas espécies, como *A. fumigatus*, desenvolver mecanismo de tolerância a altas temperaturas (termotolerância) o que lhes permite suportar condições adversas (Xavier et al., 2008).

A espécie *A. fumigatus*, descrita por Johann Baptist George Wolfgang Fresenius em 1863, desenvolve colónias que apresentam uma textura levemente pulverulenta e uma cor verde-azulada. Foi isolada nas madeiras da estrutura de cobertura do Porto durante a estação de verão, quando as temperaturas exteriores atingem níveis acima de 24 °C. Nesses espaços confinados, geralmente a temperatura interna apresenta-se mais elevada, tornando o ambiente favorável a altas concentrações de esporos desse fungo, que tem ótimo crescimento a 37 °C. Esse aspeto pode elevar a quantidade de esporos em suspensão e conseqüentemente aumentar a sua deposição sobre o material, aumentando ainda o nível de toxicidade do ar. É um organismo importante na decomposição de matéria orgânica e está entre as mais comuns espécies patogénicas oportunistas para o homem (Collier, Balows & Sussman, 1998; Latgé, 1999; Juvvadi, & Steinbach, 2015). Na Figura 55 pode ser observada a colónia e estruturas microscópicas de *A. fumigatus*, como exemplo de uma espécie de *Aspergillus*.

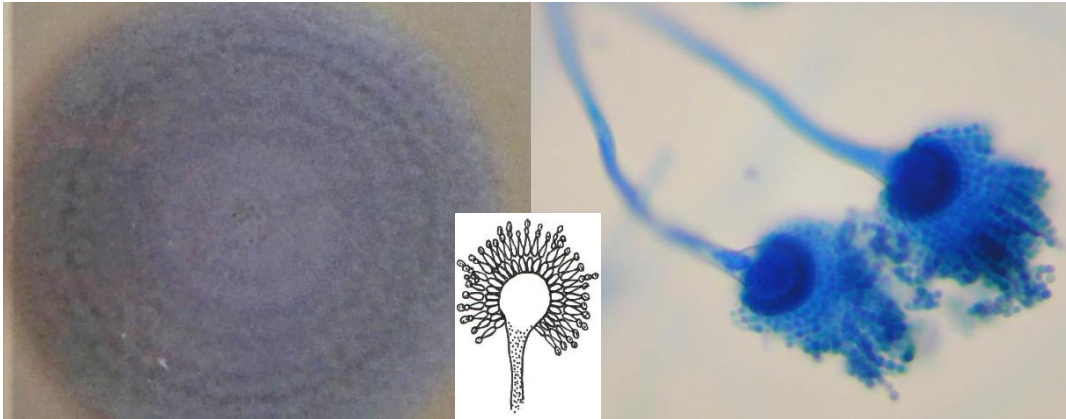


Figura 55: *Aspergillus fumigatus* (macroscopia e microscopia). © Rita Doria.

- *Aspergillus sydowii*

A espécie *A. sydowii* foi isolada das madeiras de Salvador, cuja recolha se deu no período de inverno. Nessa localidade, a temperatura média no inverno apresenta-se em torno de 25 °C e 27 °C, considerada como ideal para o rápido desenvolvimento das colónias desse fungo. Usualmente, as colónias maduras apresentam um aspeto aveludado, com conídios em tom azul-esverdeado que conferem à colónia um tom azul e na qual pode ser observado um exsudado de tom bege a avermelhado (Thom & Church, 1926).

- *Penicillium glabrum*

A espécie *P. glabrum*, isolada a partir das madeiras do Porto, é descrita como possuindo um rápido crescimento a 25 °C, com esporulação moderada. As suas estruturas reprodutivas formam uma camada densa com aparência aveludada, de cor verde-acinzentado podendo, em alguns, produzir um exsudado bege ou castanho. O reverso da colónia apresenta-se geralmente na cor amarelo alaranjada (Westling, 1911). Na Figura 56 pode ser observada a colónia e estruturas microscópicas de *P. glabrum*, como exemplo de uma das espécies de *Penicillium*.

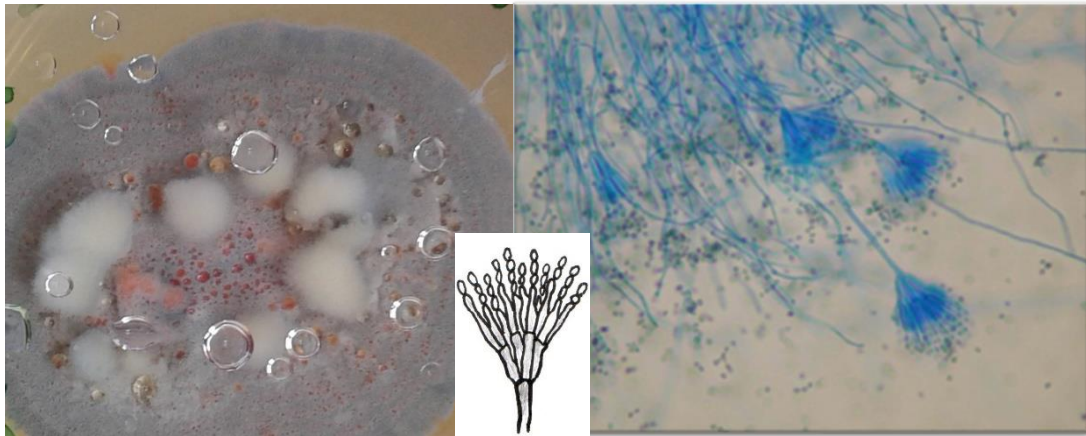


Figura 56: *Penicillium glabrum* (macroscopia e microscopia). © Rita Doria.

- *Penicillium citrinum*

A espécie *P. citrinum*, igualmente de distribuição cosmopolita, presente em todos os climas, incluindo tropicais e temperados, foi isolada em ambientes internos e é um fungo de “bolor” em madeiras (Pitt, 1979; Samson & Frisvad, 2004). Este fungo, descrito por Thom (1910), exibe colônias com dimensões moderadas, uma superfície algodoadada e, no centro, uma cor cinza-turquesa, tornando-se alaranjada-acinzentada com borda branca quando madura.

Para gêneros de maior abundância, mas distintos nas duas localidades, foram selecionados *Alternaria*, com a espécie *A. alternata* no Porto, e *Chaetomium*, com a espécie *C. globosum* em Salvador.

Fungos do gênero *Alternaria* estão presente em diversos ambientes: ar, poeira, sementes, frutos, entre outros, e apresentam grande capacidade de adaptação e resistência a altas ou baixas temperaturas. Propagam-se pelo vento, chuva e por produtos contaminados e necessitam da presença de água livre para viabilizar a germinação dos esporos (Bedendo, 2011).

Espécies do gênero *Chaetomium* são saprófitos que ocorrem em diversos substratos. Pode ser encontrado facilmente em quase todas as regiões do mundo e está

entre os dois maiores contaminantes presentes no ambiente interno. É um possível responsável por causar problemas à saúde humana em ambientes fechados, como locais de cobertura (Dosen, Nielsen, Clausen & Andersen, 2016).

- *Alternaria alternata*

A espécie *A. alternata* desenvolve colónias que atingem um diâmetro de 6 cm em 7 dias, com temperatura ideal na faixa de 25 a 28 °C (Bedendo, 2011). Esse fungo apresenta baixa ou nenhuma capacidade de esporulação quando submetido a condições de laboratório, não se desenvolvendo bem em meio de cultura. Em condições naturais, os índices de HR necessários em superfícies para que os esporos germinem é de 45% dia e 95% noite. Contudo, podem permanecer inativos por um longo período por apresentar alta resistência a baixos níveis de humidade (Töfoli, Domingues & Ferrari, 2015).

Esta espécie possui estruturas reprodutivas geralmente simples, retas ou curvas, formadas em longas cadeias ramificadas, em castanho-claro (Figura 57). É uma espécie extremamente comum e cosmopolita. Os seus esporos deslocam-se facilmente pelas correntes de ar e está presente em diferentes ambientes, incluindo o interior de construções (Keissler, 1912), o que justifica a sua presença em zonas de centros históricos como na cidade do Porto. Tem ocorrência registada em madeiras de torres de refrigeração e foi relatada por Eaton (1972) e Brazolin (1997) como responsável pelo apodrecimento superficial e interno desse material. É classificado como fungo cromogéneo causador de mancha azul (Kaarik, 1980). Foi igualmente identificado colonizando acervos em papel, pergaminho e madeira (Martins & Martins, 2013). Aspetos da estrutura fúngica de *Alternaria* são apresentados na Figura 59.



Figura 57: *Alternaria alternata* (macroscopia e microscopia). © Rita Doria.

- *Chaetomium globosum*

A espécie *C. globosum*, conforme destacam Brazolin (1997), Ozaki (2004) e Castro e Guimarães (2018), desenvolve-se em madeiras que conservam a firmeza e funcionalidade estrutural pois provoca a podridão mole, cujo dano se circunscreve à superfície desse material, penetrando até 20 mm de profundidade, dependendo do nível de humidade na madeira ou da ocorrência de infiltrações. Forma colónias que atingem um diâmetro de cerca de 5 a 7,5 cm em 10 dias, a uma temperatura de 24 °C. A superfície exibe uma grande quantidade de corpos frutíferos, o que lhe confere uma aparência acinzentada. Já a estrutura reprodutiva alterna entre o castanho-escuro e o negro, de forma globosa a ovoide, com numerosos filamentos. É frequente em arquivos, papel de parede, têxteis e outros materiais de natureza celulósica, manifestando-se, na maior parte das vezes, quando ocorrem infiltrações (Martins, 2009). A sua presença foi também citada por Elamin et al. (2018) em papéis utilizados para embalar artefactos museológicos em reserva técnica. Aspeto de um fungo do género *Chaetomium* pode ser observado na Figura 58.

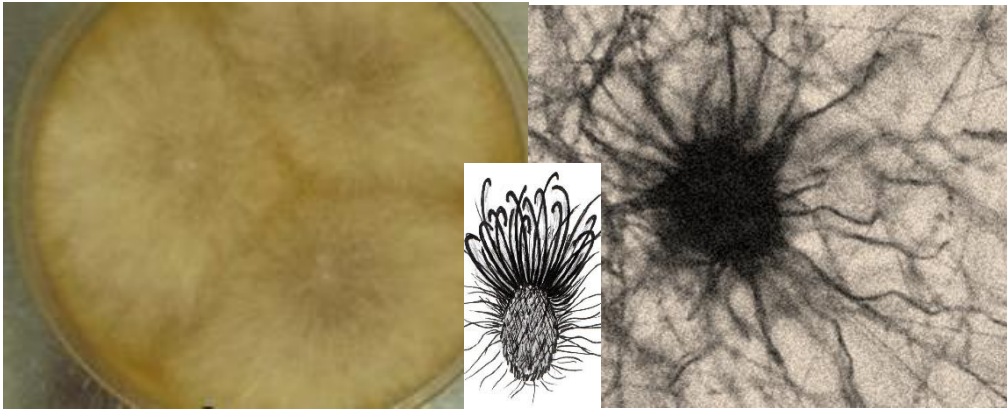


Figura 58: *Chaetomium globosum* (macroscopia e microscopia (Faia, 2011)).

10.3. Efeito da radiação UV-C no controlo dos fungos inoculados em madeira

O controlo da contaminação por meio da interrupção ou estabilização da propagação dos fungos sobre a superfície das UAs é baseado na dose de radiação UV-C, a qual é dependente do tempo de irradiação (T^{ir}) a que estará exposta a superfície contaminada, e da suscetibilidade dos microrganismos.

10.3.1. Condições de irradiação

A Tabela 27 indica a dose de radiação (J/cm^2), correspondente ao tempo de 1, 2 e 5 minutos, a que foram submetidas às UAs. Com a aplicação dos intervalos entre irradiações, a amostra irradiada passa um tempo (de 5 ou 20 minutos) em repouso, para em seguida receber outra aplicação de igual dose de radiação.

Tabela 27: Doses de radiação ultravioleta C (UV-C) aplicadas nos ensaios

| Tempo de irradiação (minutos) | Dose média aplicada (J/cm^2) |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 0,1741 |
| 2 | 0,3483 |
| 5 | 0,8708 |

J/cm^2 : Joule por centímetro quadrado

As doses indicadas encontram-se na faixa de radiação UV no comprimento de onda de 254 nm, e variaram de acordo com o T_{ir} a que as superfícies das UAs estiveram expostas. Extensa literatura descreve ensaios noutros contextos em que se utilizaram doses de radiação UV-C muito próximas das empregadas nesta investigação. Alguns desses trabalhos, cujo objetivo foi a inibição, redução ou controlo do desenvolvimento de fungos sobre superfícies distintas, com vistas a prolongar a vida útil do material ou produto tratado, estão indicados no Ponto 9.2.9 (Tabela 24).

10.3.2. Análise estatística descritiva

O efeito das diferentes condições de irradiação com raios UV-C foi descrito e avaliado sobre seis fungos isolados e selecionados de madeiras de recolha Abeto (*Abies*) e Maçaranduba (*Manilkara*), em duas estruturas de cobertura de Porto e Salvador, respetivamente, como tinha sido previamente referido.

Para cada espécie de fungo analisado, os gráficos apresentados comparam as médias percentuais de contaminação, de três réplicas, obtidas para o controlo (sem irradiação) e para os diferentes T_{ir} com radiação UV-C. O mesmo padrão de análise é usado para avaliar o efeito da utilização de intervalos de repouso (I^{rep}) entre a duplicação da irradiação.

Todas as UAs do grupo controlo indicaram crescimento micelial após o período de incubação e apresentaram redução/inibição no desenvolvimento para todos os fungos tratados, conforme mostrado nos gráficos, com variação de acordo com a espécie de fungo, o tempo de exposição e consequentemente as doses de radiação UV-C aplicadas.

10.3.2.1. Ensaio com amostras de madeira de Abeto (*Abies*) inoculadas com os isolados fúngicos das madeiras de estruturas de cobertura da cidade do Porto: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium glabrum* e *Alternaria alternata*

a. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *A. fumigatus*

Na análise do efeito dos ensaios realizado com este fungo, foi comparada a área amostral contaminada nas amostras irradiadas (T^{ir} de 1, 2 e 5 minutos) com os 73% registados no controlo (Figura 59). Considerando a área contaminada do controlo (73%) como o total da área contaminada, ou seja 100%, verificou-se que no tempo de 2 e 5 minutos de irradiação houve um valor médio de redução equivalente a 72,6% da contaminação sobre a superfície, apresentando-se como as condições com melhores resultados. Para 1 minuto de irradiação, a redução foi de apenas cerca de metade, 54,8%.

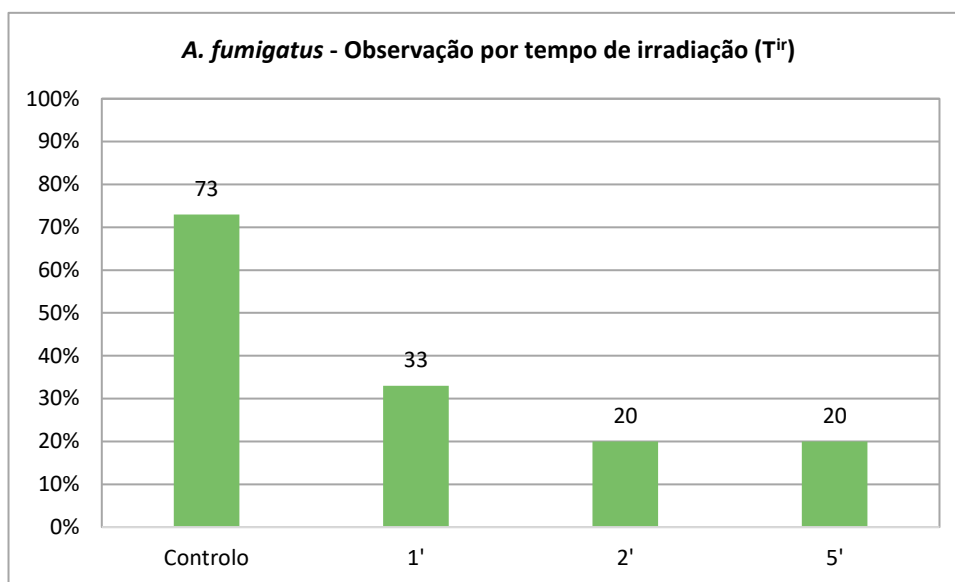


Figura 59: Percentuais médios ($n=3$) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Aspergillus fumigatus* para Porto.

Relativamente à variável I^{rep} , comparou-se a área contaminada de 73% do controlo com as áreas indicadas nas barras referentes aos intervalos aplicados nos tempos de irradiação de 2 e 5 minutos. Por análise do gráfico dos I^{rep} aplicados ao ensaio pelo T^{ir} de 2 minutos (Figura 60), verificou-se que uma irradiação contínua de 2 minutos (s/i), ou aplicar duas vezes essa radiação com um intervalo de 20 minutos entre as

irradiações (2 minutos seguidos de intervalo de 20 minutos e nova irradiação de 2 minutos), proporcionou uma inibição da carga fúngica semelhante.

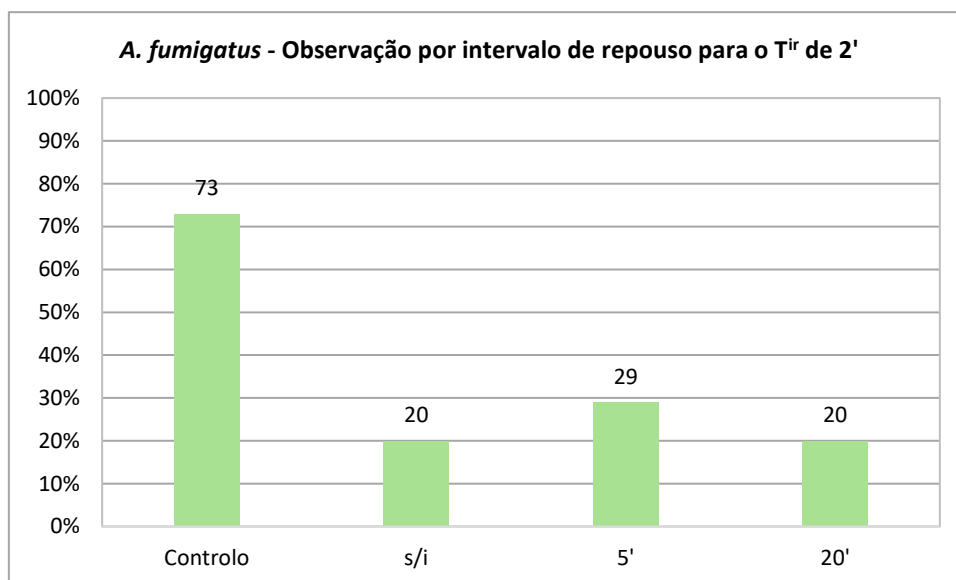


Figura 60: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Aspergillus fumigatus* para Porto. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Para I^{rep} aplicados ao T^{ir} de 5 minutos (Figura 61), observa-se que a aplicação de nova radiação de 5 minutos após 5 ou 20 minutos de intervalo da primeira não melhora a taxa de inibição relativamente a uma única aplicação de radiação contínua de 5 minutos. Assim, duplicar a irradiação, com um intervalo entre elas, não melhora o controlo de desenvolvimento do fungo.

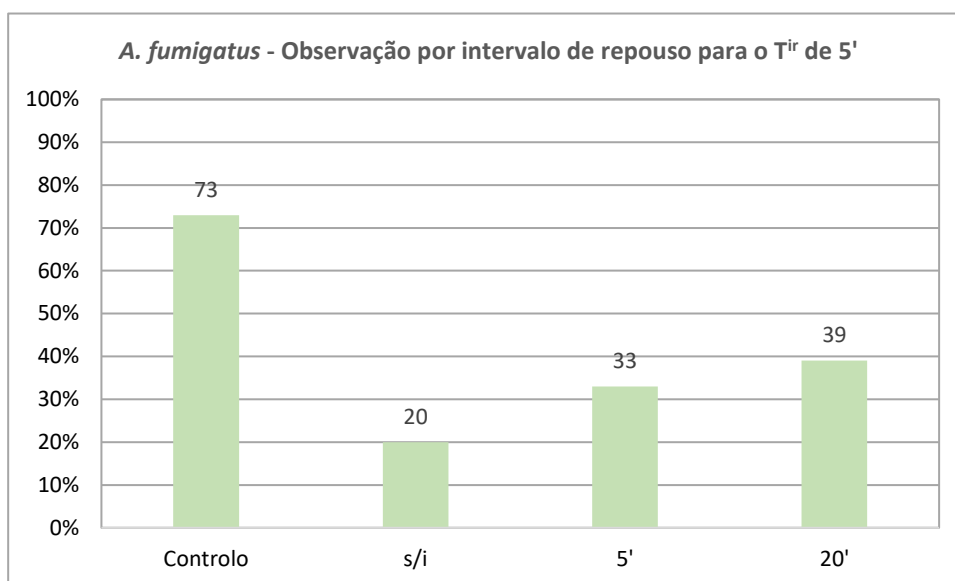


Figura 61: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Aspergillus fumigatus* para Porto. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Em resumo, o tempo de 5 minutos de irradiação não melhora a taxa de inibição relativamente ao tempo de 2 minutos e duplicar a irradiação após um intervalo de 5 ou de 20 minutos não melhora a eficácia de inibição, relativamente a uma única irradiação. Então, para inibir o desenvolvimento do fungo *A. fumigatus* sobre as superfícies da UA, o T^{ir} de 2 minutos por aplicação única seria o selecionado, considerando implicar uma radiação menor e com menor gasto de energia.

b. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *P. glabrum*

A Figura 62 apresenta a descrição dos resultados observados para o ensaio realizado sobre UAs inoculadas com *P. glabrum*. Considerando-se que a área de 49% da superfície contaminada da amostra do controlo equivale a 100%, esta foi comparada com as áreas amostrais irradiadas por 1, 2 e 5 minutos e indicadas nas demais barras. Observa-se que para 1 minuto de irradiação o valor médio de inibição foi de apenas 59,2% e que o melhor resultado foi obtido para o tempo de irradiação de 2 e de 5

minutos. Uma radiação UV-C aplicada nestas condições por 2 ou 5 minutos demonstrou que poderá atingir alto desempenho, com redução de 100% da contaminação sobre a superfície da amostra.

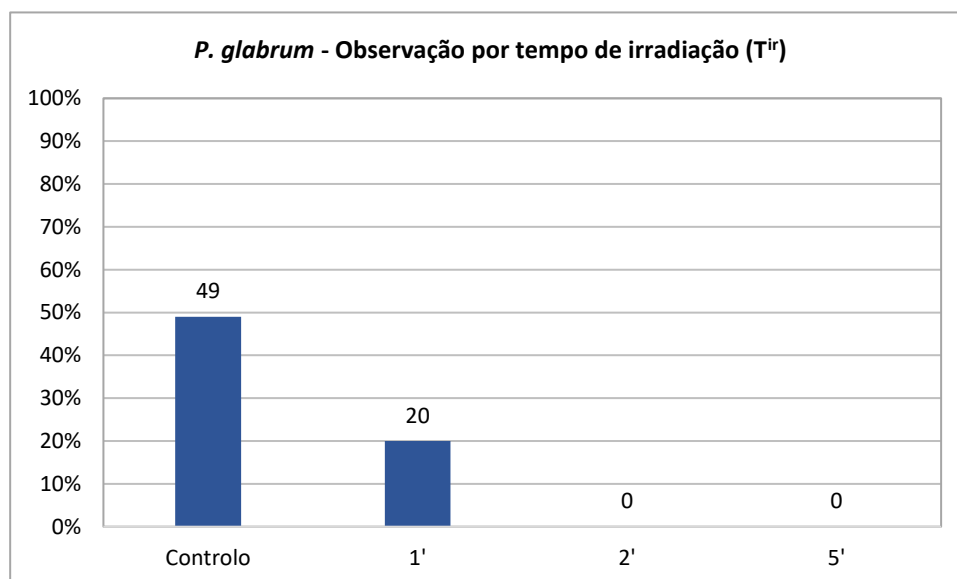


Figura 62: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Penicillium glabrum* para Porto.

Quando comparamos a área afetada do controlo com as áreas das amostras irradiadas com UV-C por 2 minutos, sem ou com os I^{rep} de 5 e 20 minutos (Figura 63), verificamos que o ensaio com a aplicação dos I^{rep} entre as irradiações proporciona igual eficácia ao ensaio único de 2 minutos, para inibir o desenvolvimento do fungo *P. glabrum*.

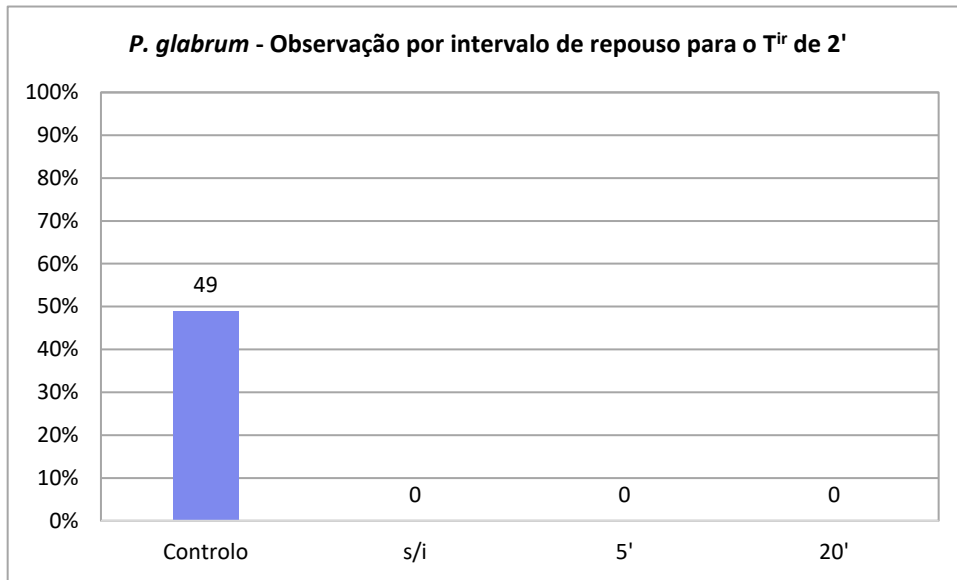


Figura 63: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Penicillium glabrum* para Porto. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Na Figura 64, do efeito dos I^{rep} para o T^{ir} 5 minutos, observa-se que a atuação da radiação UV-C com a aplicação de um intervalo de 5 minutos entre duas irradiações de 5 minutos apresenta o mesmo benefício que o ensaio de 5 minutos de irradiação aplicado sem intervalo. Para uma repetição de 5 minutos de irradiação após um I^{rep} de 20 minutos, o valor médio de inibição foi reduzido de 100% para 80%. Assim, as aplicações que se apresentaram como mais favoráveis para inibir a carga desse fungo na superfície da amostra foram a ininterrupta por 5 minutos ou repetida com um intervalo de 5 minutos.

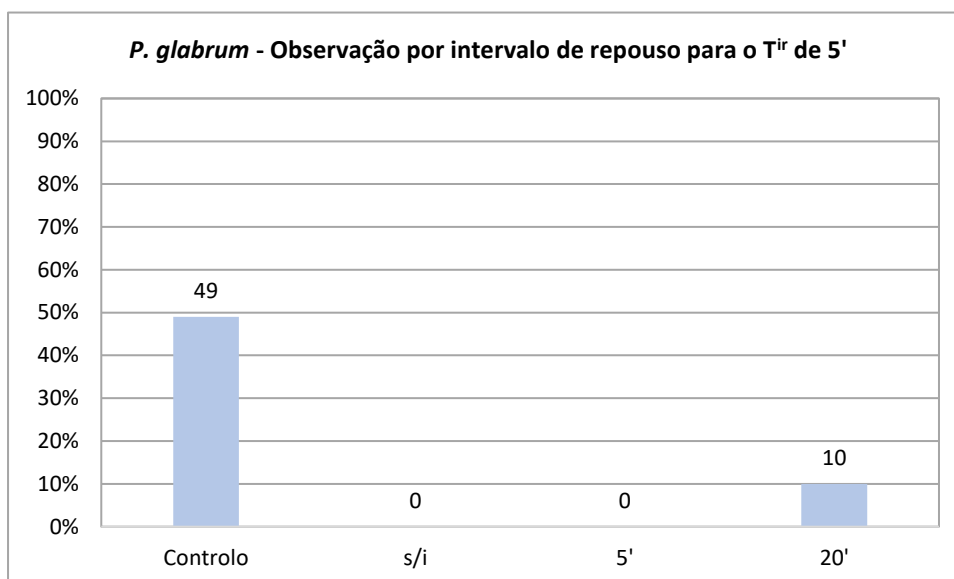


Figura 64: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Penicillium glabrum* para Porto. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Concluindo o resultado da análise descritiva comparativa entre os I^{rep} aplicados aos T^{ir} de 2 e 5 minutos, verificou-se uma atuação eficaz, com eliminação total do crescimento fúngico, relativamente ao ensaio com T^{ir} de 2 minutos em todos os intervalos aplicados, enquanto o mesmo não aconteceu para o T^{ir} de 5 minutos para a repetição com um intervalo de 20 minutos. Considerando a análise destes resultados, a condição selecionada, para o tratamento do fungo *P. glabrum* sobre a área infetada, recairia sobre o menor tempo de irradiação ininterrupta para o qual ocorre completa inibição de crescimento, no caso 2 minutos, resultando em redução do tempo de exposição e gasto de energia.

c. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *A. alternata*

Na Figura 65, são apresentadas as médias percentuais obtidas para os diferentes T^{ir}, em que se comparou a área contaminada pelo fungo *A. alternata* na barra de controlo com as áreas contaminadas após irradiação por 1, 2 e 5 minutos, e indicadas pelas demais barras no gráfico. Considerando que o controlo (59%) equivale a 100% da

área total contaminada, observou-se que os tempos de ensaio de 2 e 5 minutos proporcionaram uma eliminação total da contaminação sobre a área amostral, ou seja, uma inibição correspondente a 100%. Assim, a média de afetação do fungo *A. alternata* com relação ao ensaio pelo tempo de 2 e 5 minutos resultou em igual proporção.

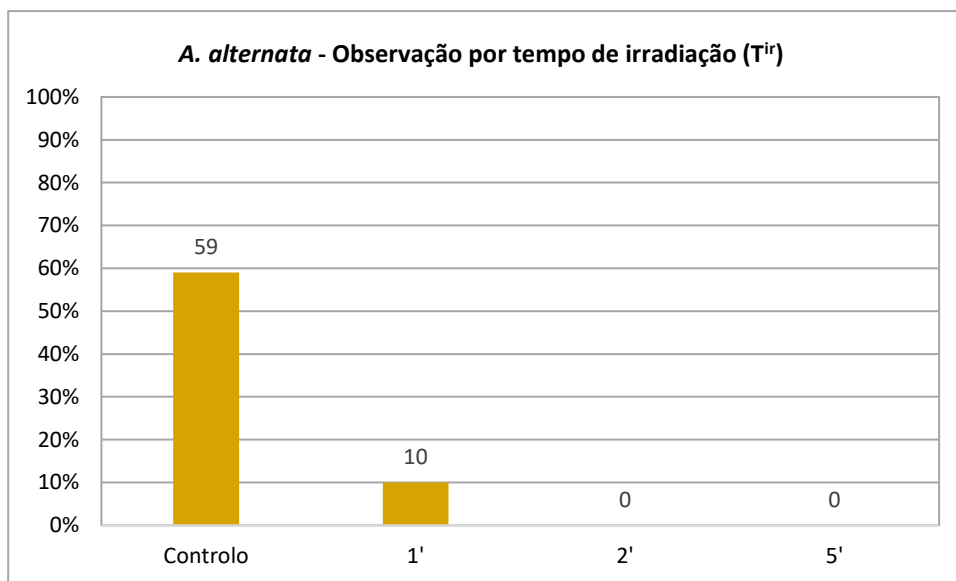


Figura 65: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Alternaria alternata* para Porto.

Na Figura 66, referente ao I^{rep} para o T^{ir} de 2 minutos, observa-se que a melhor condição de ensaio para este fungo é a irradiação ininterrupta ou duplicada após um intervalo de repouso de 5 minutos.

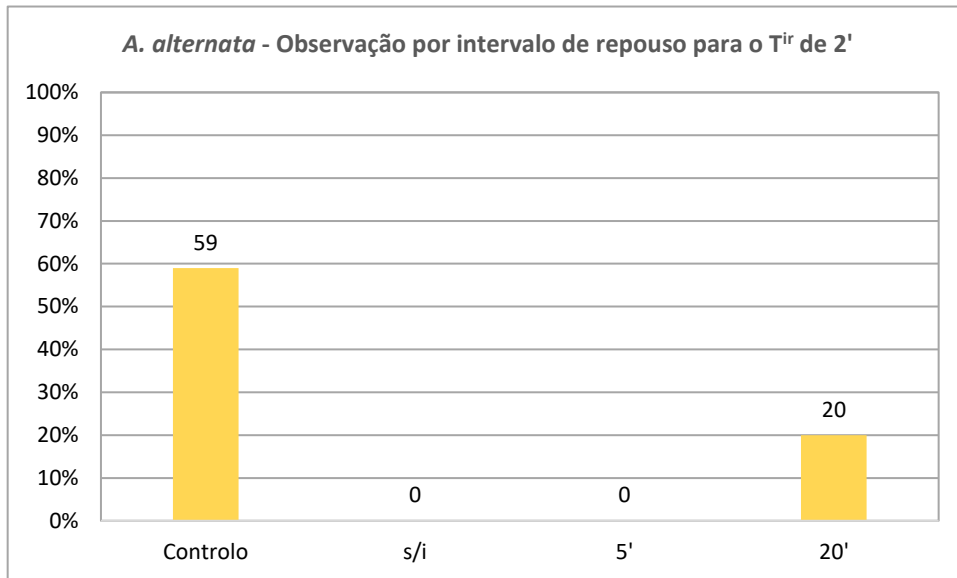


Figura 66: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Alternaria alternata* para Porto. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Quando analisado o gráfico da Figura 67, referente ao I^{rep} para o tempo de 5 minutos de irradiação, percebe-se que a aplicação ininterrupta da radiação UV-C oferece melhor benefício para a redução desse fungo sobre a área amostral infetada, permitindo uma eliminação total. Quando a irradiação é repetida com um intervalo de 5 minutos mostra-se menos eficaz e essa eficácia é ainda mais reduzida quando o tempo de repouso é alargado para 20 minutos.

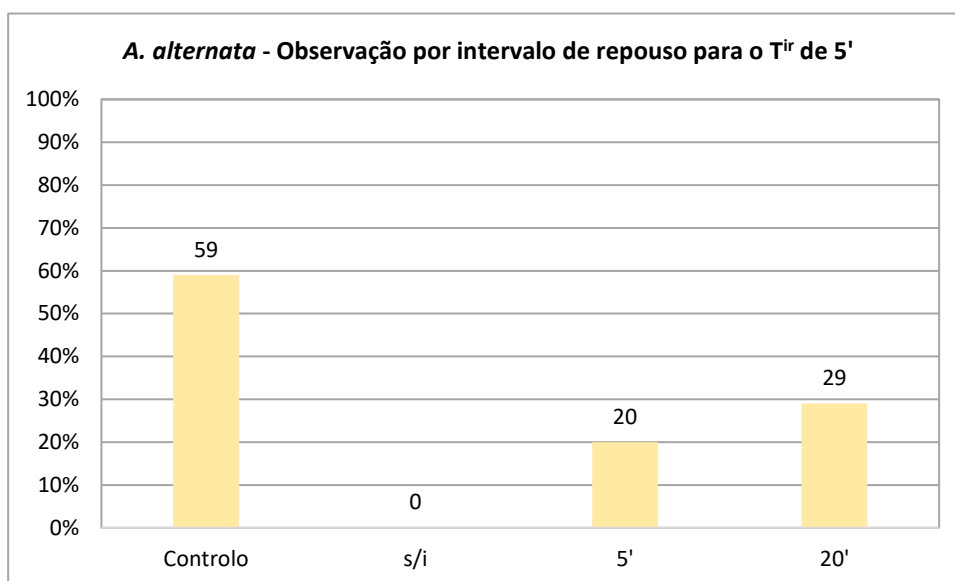


Figura 67: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Abeto (*Abies*) infetadas pelo fungo *Alternaria alternata* para Porto. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Nesse contexto, considera-se que, na reunião das médias entre as variáveis de T^{ir} e I^{rep} , a condição de exposição à radiação para o fungo *A. alternata* escolhida seria de 2 minutos contínuos. A irradiação de 5 minutos revelou o mesmo efeito total e a duplicação da irradiação com intervalos de 5 ou 20 minutos mostrou igual ou menor efeito que a radiação única.

10.3.2.2. Ensaio com amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) inoculadas com os isolados fúngicos das madeiras de estruturas de cobertura da cidade do Salvador: *Chaetomium globosum*, *Penicillium citrinum* e *Aspergillus sydowii*

a. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *C. globosum*

Os resultados das análises não foram exibidos para o fungo *C. globosum*, também isolado das madeiras de cobertura, pois apresentou para o ensaio em duplicata

contaminação de todo o material, por duas vezes, pelo que teve de ser descartado. Entendeu-se que, com apenas duas amostras desse fungo, não haveria condições para realizar uma análise completa.

b. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *P. citrinum*

O gráfico da Figura 68 apresenta os resultados do ensaio realizado com radiação UV-C por T^{ir} sobre UA infetada pelo fungo *P. citrinum*. Comparando a área do controlo, contaminada com 86% da superfície amostral, com as superfícies contaminadas após irradiação (por 1, 2 e 5 minutos) indicadas pelas demais barras, observou-se que os melhores tempos de ensaio para conter o desenvolvimento do fungo indicado foram de 2 e 5 minutos. A taxa de redução da carga fúngica sobre a UA foi de 76,7%, tendo sido de apenas 22,1% para o T^{ir} de 1 minuto. Considerando estes resultados, poderemos dizer que este foi o fungo, até ao momento, que apresentou maior resistência à radiação UV-C nas condições ensaiadas.

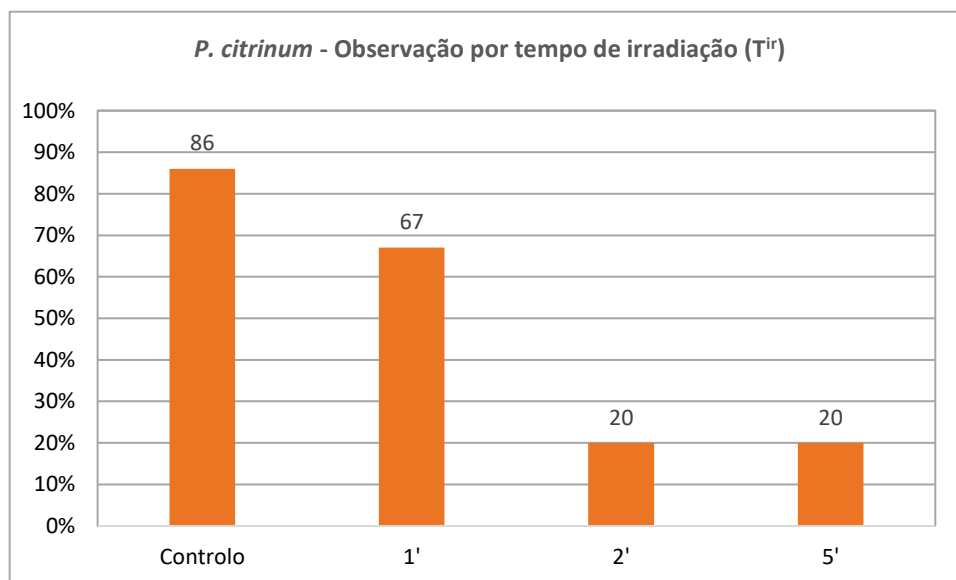


Figura 68: Percentuais médios ($n=3$) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas de Tempo de irradiação com UV-C (T^{ir}) de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Penicillium citrinum* para Salvador.

Na Figura 69, relativa à análise dos I^{rep} para o tempo de 2 minutos de irradiação, os resultados indicam que houve plena inibição do desenvolvimento de *P. citrinum* sobre a superfície da área amostral infetada quando da aplicação de um intervalo de tempo de 5 minutos entre a repetição da irradiação de 2 minutos.

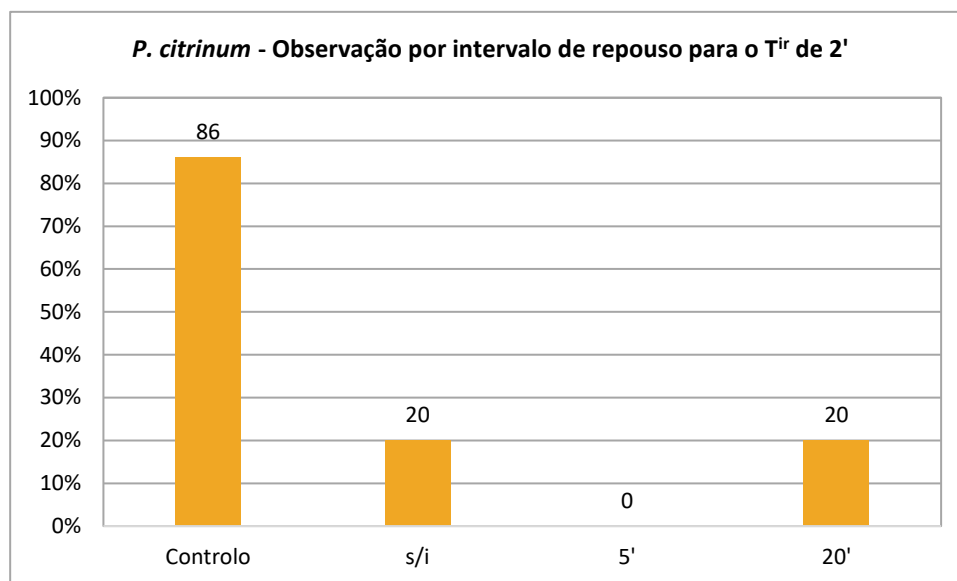


Figura 69: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Penicillium citrinum* para Salvador. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

De modo semelhante, no gráfico relativo ao tempo de 5 minutos de irradiação e relativo à análise dos I^{rep} (Figura 70), verificou-se que houve uma inibição total quando a irradiação de 5 minutos foi repetida após um intervalo de 5 minutos. Contudo, quer para o T^{ir} de 2 minutos quer de 5 minutos, esse aumento de eficácia foi anulado quando o intervalo de repouso entre as irradiações passou de 5 para 20 minutos.

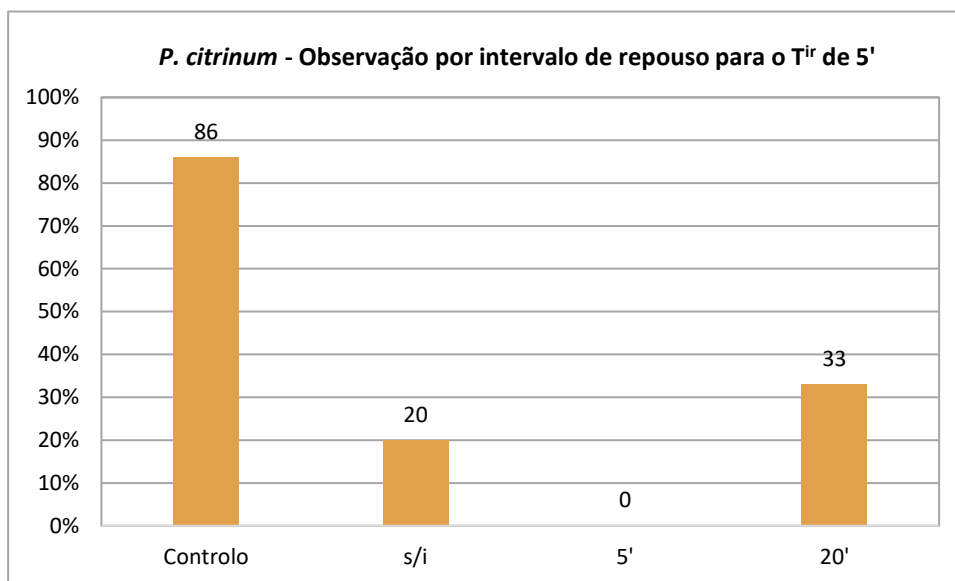


Figura 70: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Penicillium citrinum* para Salvador. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Da análise conjunta das médias entre as variáveis T^{ir} e I^{rep} apresentadas, os resultados demonstram igual redução da área contaminada em relação ao controlo após ser irradiada com luz UV-C por 2 ou 5 minutos, ou seja, com a dose de 0,3484 J/cm² ou de 0,8708 J/cm² de radiação. Além disso, a aplicação de um intervalo de 5 minutos entre as irradiações de 2 ou de 5 minutos eleva a inibição de 76,4% para 100%. Perante os resultados apresentados, a melhor condição para uma completa inibição deste fungo, nas presentes condições, seria a de menor tempo de irradiação (2 minutos) repetida após um intervalo de repouso de 5 minutos.

c. Observação por T^{ir} e I^{rep} para o fungo *A. sydowii*

O gráfico da Figura 71 exhibe os resultados da avaliação do ensaio realizado com radiação UV-C por T^{ir} sobre UA infetada pelo fungo *A. sydowii*. Foi comparada a superfície da área amostral contaminada de 86%, indicada na barra do controlo, com as superfícies contaminadas após irradiação por 1, 2 e 5 minutos e apresentadas nas

demais barras. Considerando os 86% de área contaminada do controlo como o total da área contaminada (100%), verificamos que, para todos os tempos de ensaio houve uma redução de 76,7% da contaminação sobre a superfície da amostra. Ao contrário de *P. citrinum*, para *A. sydowii* a sensibilidade demonstrou ser a mesma para qualquer dos tempos de irradiação usado.

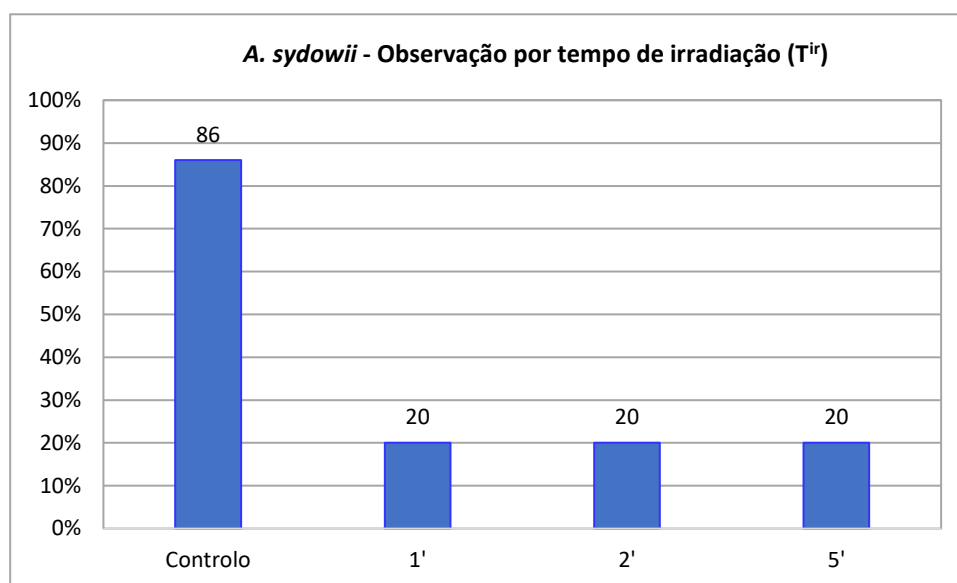


Figura 71: Percentuais médios (n=3) de área contaminada, nas diferentes condições avaliadas pela exposição à radiação UV-C (T^{ir}) no tempo de 1', 2' e 5' (minutos) e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Aspergillus sydowii* para Salvador.

Considerando que para este fungo o efeito foi idêntico para os diferentes tempos de irradiação testados, foi avaliado o efeito da aplicação de um I^{rep} também para o tempo de irradiação de 1 minuto, estando os resultados representados na Figura 72. Para todas as situações apresentadas anteriormente, os resultados referentes à aplicação dos I^{rep} para 1 minuto não foram apresentados pelo facto de a inibição ter sido mais reduzida para este tempo de irradiação. Contudo, essas avaliações foram efetuadas e os resultados são apresentados no Apêndice 3. Por meio da análise do gráfico poderemos verificar que o ensaio com a radiação UV-C dá resultados comparáveis quando a irradiação é contínua de 1 minuto ou é duplicada após um

intervalo de 5 minutos. Para um intervalo de 20 minutos a eficácia é reduzida. Assim, a escolha da condição para obter a melhor inibição dos fungos, com menor radiação, energia e tempo, recai sobre a aplicação contínua de 1 minuto de irradiação.



Figura 72: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 1 minuto, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Aspergillus sydowii* para Salvador. T^{ir} , tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Na Figura 73, as barras do gráfico para as variáveis de I^{rep} mostram inibições de carga fúngica idênticas para a aplicação contínua da radiação UV-C de 2 minutos e para as duplicadas após I^{rep} de 5 ou 20 minutos.

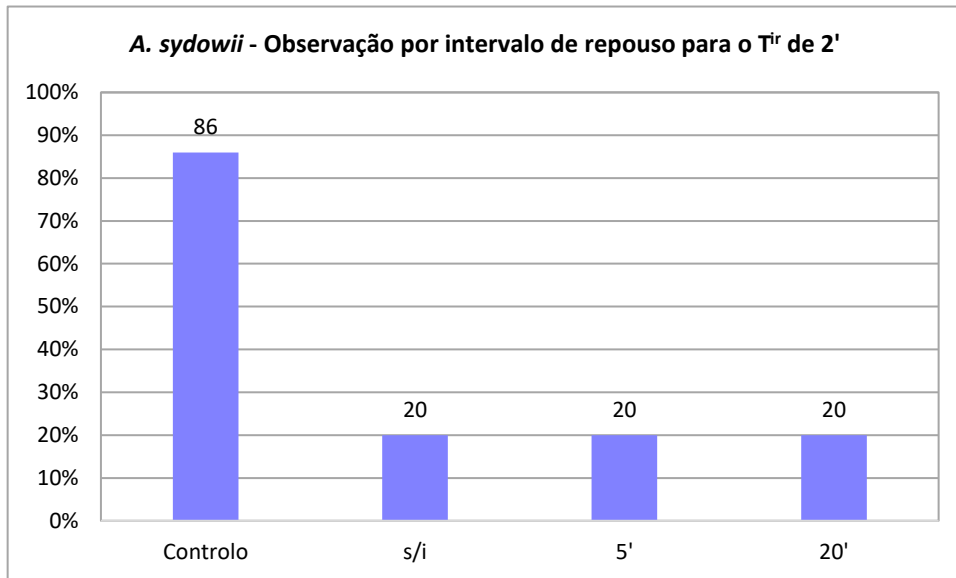


Figura 73: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 2 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Aspergillus sydowii* para Salvador. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Observando os resultados obtidos para I^{rep} aplicados para o tempo de 5 minutos de irradiação (Figura 74), se verificou um comportamento similar aos obtidos nos ensaios aplicados para o tempo de 1 e 2 minutos de irradiação na aplicação da radiação contínua e com intervalo de 5 minutos. Poderemos concluir que o ensaio com dupla aplicação da radiação UV-C, intercaladas por um intervalo de 5 ou de 20 minutos, não oferece qualquer vantagem relativamente a uma única aplicação.

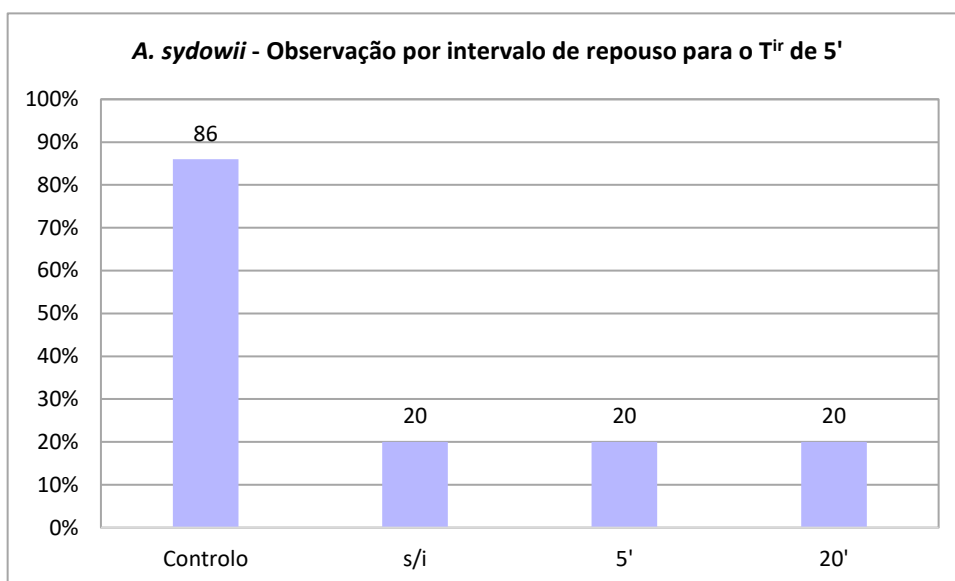


Figura 74: Percentuais médios (n=3) de contaminação, após ensaio de irradiação com UV-C de 5 minutos, para análise do efeito de repetição com intervalos de repouso (I^{rep}) de 5 e 20 minutos e em relação ao controlo, sem exposição. Amostras de madeira de Maçaranduba (*Manilkara*) infetadas pelo fungo *Aspergillus sydowii* para Salvador. T^{ir}, tempo de irradiação; s/i, sem intervalo; ', minutos.

Em conclusão, e para este fungo, a análise das médias amostrais obtidas entre as variáveis T^{ir} e I^{rep} , indica que houve uma resposta eficaz ao ensaio em todos os tempos de irradiação para as aplicações ininterruptas ou ao duplicar a radiação após um intervalo de 5 minutos.

De um modo geral, os resultados da análise descritiva dos dados, para todas as condições ensaiadas, sugerem um decréscimo no desenvolvimento dos fungos em relação ao controlo, ou seja, as médias indicam que houve redução percentual da carga fúngica sobre a superfície da UA exposta a radiação UV-C.

Para diretamente analisarmos os resultados referentes aos percentuais médios da área contaminada, e respetivas taxas de redução, na Tabela 28 estão compilados os valores para a variável T^{ir} e por cada fungo tratado com UV-C.

Tabela 28: Médias das áreas contaminadas e respectivas reduções de crescimento (%) em comparação com o controle (100%) e em função do tipo de fungo e do tempo de irradiação em minutos (n=3).

| Fungo | Tempo de irradiação (T ^{ir}) | | | | | |
|------------------------------|--|------|------|---------------------|------|------|
| | Média da área Contaminada (%) | | | Taxa de Redução (%) | | |
| | 1' | 2' | 5' | 1' | 2' | 5' |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 45,2 | 27,4 | 27,4 | 54,8 | 72,6 | 72,6 |
| <i>Penicillium glabrum</i> | 40,8 | 0 | 0 | 59,2 | 100 | 100 |
| <i>Alternaria alternata</i> | 16,9 | 0 | 0 | 83,1 | 100 | 100 |
| <i>Penicillium citrinum</i> | 77,9 | 23,3 | 23,3 | 22,1 | 76,7 | 76,7 |
| <i>Aspergillus sydowii</i> | 23,3 | 23,3 | 23,3 | 76,7 | 76,7 | 76,7 |

', minutos.

Conclui-se desta análise que reduções de sobrevivência são observadas para todos os fungos testados e que as médias percentuais variaram entre 72,6% e 100%, após a aplicação da radiação para o tempo de 2 minutos ininterruptos, sendo dos mesmos valores para o tempo de 5 minutos. A dose de radiação aplicada de 0,3483 J/cm² (3,483 kJ/m²) foi contínua e demonstrou que poderá ser energia radiante eficiente como agente inibidor do crescimento das estruturas fúngicas que se encontravam na superfície deste tipo de amostra nas condições testadas.

10.3.3. Análise estatística inferencial para comparação entre grupos de fungos, em Porto e Salvador

Para verificar se as diferenças encontradas nas médias amostrais obtidas em todos os tempos e intervalos aplicados ao ensaio para cada fungo do Porto e Salvador são estatisticamente significativas, foi realizado o teste de hipóteses Kruskal-Wallis para comparar três ou mais grupos independentes, ou seja, grupos que se caracterizam por indivíduos distintos e não pareados, seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn. O *p* - valor (designado de *p*) foi determinado, tendo sido consideradas as diferenças como estatisticamente significativas quando o seu valor é menor que o nível de significância adotado, ou seja, *p* < 0,05.

Na Tabela 29, quando analisados os resultados para as amostras representantes dos grupos de fungos do Porto (*A. fumigatus*, *P. glabrum* e *A. alternata*), e de Salvador (*P. citrinum* e *A. sydowii*), conjuntamente, foi possível verificar que existe diferença estatisticamente significativa com $p = 0,000$, entre a mediana percentual geral da área contaminada no controlo (Md = 59,00) e a área contaminada após a irradiação de 1 minuto (Md = 0,00), 2 minutos (Md = 0,00) e 5 minutos (Md = 0,00), segundo o teste de Dunn. Faz-se notar que as letras minúsculas do alfabeto romano (a, b, ab) presentes nas tabelas indicam quando existe diferenças significativas nos testes de comparações múltiplas de Dunn.

Tabela 29: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, segundo os tempos de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i).

| T^{ir} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p -valor* |
|-----------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|-------------|
| Controlo | 15 | 70,61 ^a | 22,77 | 29,40 | 59,00 | 100,00 | |
| 1' | 15 | 29,78 ^b | 41,81 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 0,000 |
| 2' | 15 | 11,74 ^b | 23,30 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 15 | 11,74 ^b | 24,30 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Quando analisados os resultados das amostras apenas com o grupo de fungos do Porto, o mesmo comportamento pode ser observado ($p = 0,000$) na Tabela 30, indicando que existe diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Verifica-se, portanto, o efeito atuante da radiação UV-C logo após o primeiro minuto de exposição. Entretanto, com 2 minutos houve um melhor aproveitamento e a energia ionizante revelou ter maior desempenho na redução da carga fúngica, atuação que se repete igualmente com 5 minutos de exposição.

Tabela 30: Caracterização da amostra total segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) na cidade do Porto.

| T^{ir} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p -valor* |
|-----------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|-------------|
| Controlo | 9 | 60,01 ^a | 17,84 | 29,40 | 59,00 | 100,00 | 0,000 |
| 1' | 9 | 20,86 ^b | 36,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 2' | 9 | 6,52 ^b | 19,57 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 9 | 6,52 ^b | 19,57 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Em adição, quando foram analisadas exclusivamente as amostras representantes dos fungos de Salvador (Tabela 31), o percentual de contaminação do controlo (Md = 100,00) mostrou que também existe diferença estatisticamente significativa ($p = 0,007$) do percentual de contaminação após 2 minutos de irradiação (Md = 0,00) e do percentual de contaminação após 5 minutos de irradiação (Md = 0,00), segundo o teste de Dunn.

Tabela 31: Caracterização da amostra total segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) na cidade de Salvador.

| T^{ir} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p -valor* |
|-----------------|----------------------|---------------------|---------------|--------|--------------|--------|-------------|
| Controlo | 6 | 86,33 ^a | 21,17 | 59,00 | 100,00 | 100,00 | 0,007 |
| 1' | 6 | 43,17 ^{ab} | 49,60 | 0,00 | 29,50 | 100,00 | |
| 2' | 6 | 19,57 ^b | 30,31 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 6 | 19,57 ^b | 30,31 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b, ab} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

A comparação entre as espécies de fungos de Porto e Salvador revelou que apenas para a espécie *A. alternata*, e relativamente às restantes, foram observados resultados estatisticamente significativos ($p = 0,025$), e que são apresentados na Tabela 32.

Tabela 32: Mediana de percentual fúngica segundo o T^{ir} sem intervalo (s/i) de acordo com cada espécie de fungo analisado

| Espécie | Tempo de irradiação (T ^{ir}) | | | | p-valor** |
|----------------------------|--|--------|-------|-------|--------------|
| | Controlo | 1' | 2' | 5' | |
| <i>A. fumigatus</i> | 59,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,239 |
| <i>P. glabrum</i> | 58,70 | 0,00 | 0,00* | 0,00* | 0,056 |
| <i>A. alternata</i> | 59,00 | 0,00 | 0,00* | 0,00* | 0,025 |
| <i>P. citrinum</i> | 100,00 | 100,00 | 0,00 | 0,00 | 0,112 |
| <i>A. sydowii</i> | 100,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,081 |

** Teste de Kruskal-Wallis. – não houve validação de dados, todos os valores são iguais a zero.

Na tabela 33 são apresentados os resultados do teste para do fungo *A. alternata* em que se observa que o percentual mediano de contaminação do controlo (Md = 59%) é estatisticamente diferente do percentual após o tempo de irradiação de 1 minuto (Md = 0%), 2 minutos (Md = 0%) e 5 minutos (Md = 0%), segundo o teste de Dunn.

Tabela 33: Caracterização segundo o tempo de irradiação (T^{ir}) sem intervalo (s/i) para a espécie *Alternaria alternata*.

| T ^{ir} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p-valor* |
|-----------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|----------|
| Controlo | 3 | 58,90 ^a | 0,17 | 58,00 | 59,00 | 59,00 | |
| 1' | 3 | 9,67 ^b | 16,74 | 0,00 | 0,00 | 29,00 | 0,025 |
| 2' | 3 | 0,00 ^b | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| 5' | 3 | 0,00 ^b | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

A variável I^{ep} também foi estatisticamente avaliada a fim de observar a relevância em aplicar ou não um intervalo entre os tratamentos com UV-C para grupos de fungos distintos. Para tanto, tomou-se os tempos de irradiação, 1, 2 e 5 minutos com o objetivo de comparar se a aplicação de um I^{ep} entre as irradiações de igual tempo influenciaria no percentual de contaminação por fungos. De um modo geral, considerando apenas o tratamento no T^{ir} de 1 minuto para a o conjunto de Porto e

Salvador, existe diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o percentual mediano de contaminação do controlo e o T^{ir} de 1 minuto sem intervalo e com os I^{rep} de 5 e de 20 minutos, com $p = 0,000$ (Tabela 34). O percentual mediano de contaminação do controlo (Md = 59%) mostrou que existe diferença estatisticamente significativa do percentual após o tempo de irradiação de 1 minuto (Md = 0%), 2 minutos (Md = 0%) e 5 minutos (Md = 0%) segundo o teste de Dunn.

Tabela 34: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 1 minuto.

| I^{rep} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p -valor* |
|-----------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|-------------|
| Controlo | 15 | 70,61 ^a | 22,77 | 29,40 | 59,00 | 100,00 | 0,000 |
| s/i | 15 | 29,78 ^b | 41,81 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 5' | 15 | 11,74 ^b | 23,12 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 20' | 15 | 9,76 ^b | 21,22 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Nas Tabelas 35 e 36 a seguir apresentadas, consideram-se os ensaios no T^{ir} de 2 e 5 minutos para o conjunto de Porto e Salvador, com análise dos I^{rep} nos tempos de irradiação de 5 e 20 minutos respetivamente. Os resultados indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o percentual mediano de contaminação do controlo e os referidos T^{ir} sem intervalo e com os I^{rep} de 5 e de 20 minutos, com $p = 0,000$ para ambos. O percentual mediano de contaminação do controlo (Md = 59%) mostrou-se diferente estatisticamente do percentual após o tempo de irradiação de 1 minuto (Md = 0%), 2 minutos (Md = 0%) e 5 minutos (Md = 0%) segundo o teste de Dunn para ambas as análises.

Tabela 35: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 2 minutos.

| I ^{rep} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p-valor* |
|------------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|----------|
| Controlo | 15 | 70,61 ^a | 22,77 | 29,40 | 59,00 | 100,00 | 0,000 |
| s/i | 15 | 11,74 ^b | 23,30 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 15 | 9,79 ^b | 21,24 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 20' | 15 | 15,71 ^b | 26,97 | 0,00 | 0,00 | 59,00 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 36: Caracterização da amostra total, fungos do Porto e Salvador, de acordo com os I^{rep} entre as irradiações de 5 minutos.

| I ^{rep} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p-valor* |
|------------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|----------|
| Controlo | 15 | 70,61 ^a | 22,77 | 29,40 | 59,00 | 100,00 | 0,000 |
| s/i | 15 | 11,74 ^b | 24,30 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 15 | 14,51 ^b | 31,36 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 20' | 15 | 26,26 ^b | 32,95 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Ao averiguar separadamente os grupos (Tabela 37), o mesmo comportamento ocorre quando se analisam os fungos do Porto ($p = 0,001$), ou seja, observa-se a existência de diferença estatisticamente significativa entre o percentual mediano de contaminação do controlo e o T^{ir} de 1 minuto sem intervalo e com os I^{rep} de 5 e de 20 minutos, segundo o teste de Dunn.

Tabela 37: Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 1 minuto para os fungos do Porto.

| I ^{rep} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p-valor* |
|------------------|----------------------|--------------------|---------------|--------|--------------|--------|----------|
| Controlo | 9 | 60,01 ^a | 17,84 | 29,40 | 58,70 | 100,00 | |
| s/i | 9 | 20,86 ^b | 36,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 0,001 |
| 5' | 9 | 20,90 ^b | 36,02 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 20' | 9 | 3,22 ^b | 9,67 | 0,00 | 0,00 | 29,00 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Entretanto, de acordo com as amostras de fungos de Salvador, o percentual mediano de contaminação do controlo (Md = 100%) é estatisticamente diferente ($p = 0,020$) do percentual mediano após os intervalos de 5 e 20 minutos entre as irradiações de 1 minuto, conforme mostra a Tabela 38, segundo o teste de Dunn.

Tabela 38: Caracterização da amostra total segundo o intervalo entre as irradiações de 1 minuto para os fungos de Salvador.

| I ^{rep} | Tamanho amostral (n) | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana (Md) | Máximo | p-valor* |
|------------------|----------------------|---------------------|---------------|--------|--------------|--------|----------|
| Controlo | 6 | 86,33 ^a | 21,17 | 59,00 | 100,00 | 100,00 | |
| s/i | 6 | 43,17 ^{ab} | 49,60 | 0,00 | 29,50 | 100,00 | 0,020 |
| 5' | 6 | 26,45 ^b | 43,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 20' | 6 | 19,57 ^b | 30,31 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |

* Teste de Kruskal-Wallis. ^{a, b} Pós-teste (*post-hoc*) de Dunn, letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Resultados similares foram encontrados quando se analisou os I^{rep} nos tempos de irradiação de 2 e de 5 minutos e que podem ser observados no conjunto de tabelas no Apêndice 4.

Observa-se então que a aplicação da radiação UV-C sobre os fungos provenientes das madeiras de cobertura reunidos em grupo por cada localidade, produz um efeito

positivo e, portanto, considera-se como um bom resultado a atuação da radiação sobre fungos em superfícies deste material. Independente de ter havido alguma variação nas condições de humidade e temperatura da madeira, foi possível afetar e alterar a velocidade da contaminação nas superfícies. Na avaliação efetuada, e tendo em conta as condições de laboratório usadas, o comportamento manteve-se semelhante entre diferentes fungos e entre madeiras de espécies e localidades distintas. Isso significa que o método proposto apresentou grande probabilidade para funcionar, mesmo com uma grande variedade de fatores, indicando que a radiação UV-C poderá ser uma ferramenta alternativa de suporte aos tratamentos clássicos usados para a conservação da madeira.

Como observado (Tabela 29), a análise estatística descritiva forneceu dados percentuais que indicam existir alguma diferença para as distintas condições de irradiação de 1, 2 e 5 minutos (doses de 0,1714 J/cm², 0,3483 J/cm² e 0,8708 J/cm²); para o tempo de 1 minuto a eficácia foi menor, mas foi igual entre o tempo de 2 e de 5 minutos e para todos os fungos ensaiados. Por outro lado, a duplicação da dose com intervalos de repouso não revelou ser vantajosa. Quando esses dados foram verificados pela análise estatística inferencial, foi possível perceber que existe uma diferença estatisticamente significativa entre o controlo e os tempos de atuação de radiação analisados. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre as atuações de 1 minuto, 2 minutos e 5 minutos.

Diferenças de sensibilidade à radiação UV-C foram observadas para diferentes espécies de fungos sujeitos aos ensaios. Observando a Tabela 29, os dados indicam que *P. glabrum* e *A. alternata* conseguem ser totalmente eliminados no tempo de 2 e 5 minutos de irradiação, enquanto as restantes espécies mantêm alguma taxa de crescimento e que é igual no tempo de 2 e 5 minutos.

São vários os autores que descreveram diferenças de comportamento relativamente a diferentes géneros e espécies de fungos. De acordo com Rangel et al. (2006) esse tempo pode variar conforme a sensibilidade dos isolados à radiação UV-C, interagindo de forma distinta entre os diversos organismos biológicos e o uso de uma mesma dose pode apresentar diferentes níveis de eficácia. A capacidade de resistência

de alguns géneros e espécies de fungos a exposição a radiação UV-C foi relatada por Valero et al. (2007) que abordam os efeitos da radiorresistência sobre esporos melanizados de *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium janthinellum* e *A. alternata* na prevenção da degradação de uvas passa; verificaram que o número de esporos viáveis cultivados em placas, irradiados sob diferentes tempos, apresenta redução de 25% após 10 segundos para todos os fungos exceto para *A. alternata* e *A. Carbonarius*. Estas demonstraram maior resistência à radiação e, por isso, necessitando de maior tempo de exposição, facto relacionado com a presença de pigmentos nas suas estruturas. Por seu lado, Huang, Zou, Luo e Liu (2015) obtiveram êxito ao utilizarem a radiação germicida na dose de 0,4 J/cm² sobre casca de melão infetada com o fungo *A. alternata*. Nascimento (2009) destaca que essa mesma resistência é observada no fungo *A. fumigatus*, o qual apresenta pigmentos nos esporos. Com o uso desse mesmo recurso, Green, Scarpino, Jensen, Jensen e Gibbs (2004) alcançaram o percentual de 90% na inibição do desenvolvimento de esporos de *A. flavus* e *A. fumigatus* irradiados com a dose de 0,035 e 0,054 J/cm². Contudo, *A. fumigatus* mostrou-se menos suscetível aos raios germicidas. Begum et al. (2009), verificaram que uma irradiação com UV-C de pelo tempo 15 segundos produziu reduções de 80% a 90% nos esporos viáveis cultivados em placas de agar, para as espécies *A. flavus*, *Penicillium corylophilum* e *Eurotium rubrum*. Contudo, para *A. niger* essa redução foi de apenas 62%, mostrando uma diferença de sensibilidade não só relativamente ao género, mas também à espécie. Terao et al. (2019), observou um efeito de 98% no controlo do crescimento vegetativo de *A. flavus* sobre produtos de estrutura lenhosa (cascas lignificadas de sementes de oleaginosas) e a necessidade de doses de radiação UV-C a partir de 0,1 J/cm² para proporcionar o controlo do fungo *A. flavus* sobre superfície da casca de castanha infetadas.

Também Moza, Mironescu e Mironescu (2012) mostraram a diferença para duas espécies de *Penicillium* sp. isoladas de materiais em ambiente interno, inativação entre 4% a 9% para uma espécie e entre 10% a 15% para a outra, ambas testadas sob iguais condições. Em sintonia, também os ensaios desenvolvidos e aqui partilhados revelaram

alguma diferença entre a eficácia da radiação usada em *P. glabrum* e *P. citrinum*, sendo a espécie *P. glabrum* mais suscetível. Diferenças menos notórias foram observadas entre *A. fumigatus* e *A. sydowii*. Indicaram, igualmente, reduções de sobrevivência de 72,6 % e 100% para os fungos *A. fumigatus* e *A. alternata*, respectivamente, para o tempo de irradiação de 2 minutos ininterruptos e correspondendo a uma dose de 0,3483 J/cm², assinalando que a energia radiante poderá vir a atuar de modo eficiente como agente inibidor do desenvolvimento de estruturas fúngicas melanizadas na superfície da amostra e nessa condição.

A presença de pigmentos escuros nos fungos, compostos melânicos na parede de estruturas vegetativas e esporos, parece ser responsável pela maior resistência que apresentam à radiação. Quando submetidas às condições de laboratório, espécies como *Alternaria* sp. apresentam baixa ou nenhuma capacidade de esporulação, podendo manter inatividade quando os níveis de iluminância são muito baixos (Walker et al., 2010; Liu, Wei, Guo, & Tan, 2014; Töfoli, Domingues & Ferrari, 2015). Em aparente colaboração, nos ensaios desenvolvidos, essas condições indicam podem ter contribuído para limitar o crescimento desse fungo durante o período de incubação após a limpeza, proporcionando índices de redução elevados. Tendências a alterações no metabolismo fúngico, provocadas por fatores como a luz e a nutrição, foram observadas nos ensaios laboratoriais realizados por Jacobson, Hove e Emery (1995), e podem causar importantes modificações na fase de crescimento e reprodução fúngica. Leach (1962), destaca a condição claro/escuro como uma necessidade para estimular a produção de pigmentos de resistência à radiação UV.

A análise dos nossos resultados demonstrou que a aplicação de radiação UV-C (254 nm), nas condições de aplicação descritas e padronizadas neste trabalho) foi efetiva na redução do desenvolvimento de várias espécies de fungos filamentosos inoculados na superfície de duas espécies distintas de madeira, Maçaranduba (*Manilkara*) e Abeto (*Abies*). Através da análise estatística inferencial, foi possível perceber que existe uma diferença estatisticamente significativa entre o controle e os tempos de atuação de radiação analisados (1, 2 e 5 minutos). Embora a diferença entre a eficácia verificada

para uma irradiação de 1, 2 ou 5 minutos não se tenha revelado estatisticamente significativa, foi notório que o tempo de 1 minuto foi menos eficaz, com uma taxa de inibição que variou entre 22,1%, para a espécie mais resistente, e 83,1% para a espécie mais sensível. Contudo, para o tempo de 2 e 5 minutos o resultado foi exatamente o mesmo para todos os fungos.

Os resultados apresentados demonstram que este tipo de radiação, quando aplicada de forma direta e contínua sobre uma superfície dura, rugosa e irregular, como as madeiras de cobertura, sem revestimentos (policromias e vernizes), provoca uma diminuição efetiva da carga fúngica nesse material. Não foram identificados trabalhos que abordassem ensaios deste tipo neste substrato, e por isso a comparação de resultados foi feita com outros materiais e produtos.

Características do material a irradiar, como a textura e dureza da sua superfície, são reconhecidas como influenciando a eficácia de descontaminação por este processo (Hon & Chang, 1984). Bintsis et al., (2000) usaram raios germicidas (254 nm) em materiais de superfícies duras contendo biomassa microbiana, obtendo um ótimo resultado de inibição na germinação de esporos fúngicos e favorecendo a redução da quantidade de propágulos ativos e em desenvolvimento. O metal também se caracteriza por ser uma superfície dura e foi testada por Ozcelik (2007), que utilizou os raios UV-C na desinfecção e esterilização de equipamentos médico-hospitalares e instrumentação odontológica, tendo concluído que esse recurso apresenta energia suficiente para inativar todos os tipos de fungos e bactérias em superfícies expostas, num tempo de atuação entre 1 a 75 minutos. Contudo, este método tem sido avaliado em outros tipos de materiais ou ambientes. Testando superfícies de material plástico, Cardoso (2007) observou redução de carga microbiana, obtendo uma boa eficácia com irradiações com raios UV-C por um tempo superior a 30 segundos. Aguiar et al. (2002) utilizou este tipo de radiação UV-C para a desinfecção da água, encontrando probabilidades para atingir 100% de inativação microbiana com exposição de 3 e 5 minutos. Outro exemplo de êxito foi alcançado por Menzies, Popa, Hanley, Rand e Milton (2003) no controlo de microrganismos presentes no ar ambiente de áreas internas infetadas e geralmente mal

ventiladas, com redução de 99% da carga microbiana viável nas superfícies expostas. Por outro lado, Nascimento et al. (2014) observaram reduções superiores a 95% por irradiação de superfície de mangas e melões colonizadas pelos fungos *A. alternata*, *Fusarium pallidoroseum*, *Myrothecium roridum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, atingindo o controlo do desenvolvimento fúngico com a dose de 0,132 J/cm². A eficiência do processo está dependente da intensidade de radiação UV-C e do tempo de exposição no local.

Na perspetiva de utilização associada à área museológica, Elamin et al. (2018) avaliaram o efeito da radiação UV-C sobre papéis para embalagens de artefactos museológicos, infetados com fungos dos géneros *Penicillium* e *Chaetomium*, obtendo eficácia com a dose de 118 J/cm², sendo esse valor estimado como o referencial mínimo para aplicações na proteção de coleções em museus sem lhes causar danos. Martins (2009) destaca que esses fungos são frequentes em locais de arquivos, têxteis e outros materiais de natureza celulósica e sua ocorrência tem relação com os índices de HR no ambiente. A UV-C poderá ter seu uso em arquivos nos casos em que os documentos não estejam diretamente sujeitos a radiação, protegidos pelos seus invólucros, ou seja, acondicionados em caixas, possibilitando atingir níveis de manutenção e higienização da atmosfera e eliminar uma elevada parcela de esporos fúngicos em suspensão sem que os raios germicidas atinjam os documentos. Havendo algum dano à superfície, esse ficará restringido à embalagem e não afetará os documentos. Também Ciferri (1999) e Saarela et al. (2004) avaliaram os efeitos de raios germicidas UV-C sobre superfícies de material orgânico de bens patrimoniais contaminadas com fungos do género *Penicillium*, concluindo que se pode alcançar uma taxa de destruição de até 99%. Em idêntico contexto, de conservação museológica, Ilieş et al. (2019) relatam estudos implementados numa igreja em madeira cujo microclima interno proporcionou a presença de fungos a contaminar superfícies em diferentes bens patrimoniais e concluem que a monitorização/inspeção, condições de limpeza e um ambiente adequado contribuem para desacelerar o processo de deterioração dos objetos abrigados no interior de edifícios históricos ao longo do tempo.

Moza et. al. (2012) concluem que, além da resistência natural de cada espécie e das circunstâncias ambientais em que se encontra, fatores como o de tempo de irradiação, distância entre a fonte e o substrato e a dose de energia a ser aplicada, exercem forte influência nos resultados de descontaminação do material. No estudo aqui apresentado, todos esses parâmetros foram ensaiados e previamente estabelecidos, de forma a serem igualmente aplicados a todas as condições avaliadas e ser possível fazer comparação dos resultados obtidos.

Como se pode concluir, os resultados de redução de desenvolvimento dos fungos sujeitos aos ensaios e apresentados neste documento, corroboram o efeito antimicótico obtido por meio da utilização da radiação UV-C (254 nm), em sintonia com a literatura *supra* referenciada. Fica assim demonstrado que poderá ser um recurso com bom desempenho como estratégia alternativa aos produtos químicos de elevada toxicidade, com efeitos de nocivos para a saúde e de dano para os bens culturais, na inibição ou redução do desenvolvimento de fungos filamentosos sobre as superfícies de madeiras. Todavia, fica claro que a eficiência dos raios germicidas apresenta variações conforme a natureza do substrato, o método de exposição à irradiação e o gênero ou até espécie a que o fungo pertence.

A aplicação da radiação UV-C apresenta-se como uma técnica ambientalmente segura para a destruição de fungos e com elevado potencial econômico para ser utilizada em novas propostas de intervenção, sendo então necessários mais estudos sobre as potencialidades da radiação UV dentro dos limites que compreendem os efeitos germicidas.

10.4. Conceito da prova: resultados quantitativos do efeito da radiação UV-C sobre UAs com fungo selecionado

Considerando as limitações observadas na quantificação visual do desenvolvimento fúngico diretamente na madeira, a eficiência da radiação UV-C foi

avaliada por um método de contagem de UFC/ml, usando *P. citrinum* sobre UAs de madeira de Maçaranduba. Os resultados obtidos foram estatisticamente analisados pelo pós-teste de Dunn e os *outliers* removidos pelo teste de ROUT (*Robust regression and Outlier removal*, Q=1%, *GraphPad Prism*®).

Como observável na Figura 75 (ensaio após 1 hora de incubação das amostras inoculadas), a exposição à radiação levou a uma redução considerável da carga fúngica relativamente ao grupo de controlo; a irradiação de 2 minutos levou a uma redução de 63,9% da carga fúngica e a de 5 minutos a 77,6% de redução, com diferença estatística apenas para o tempo de 5 minutos. Quando avaliada a diferença entre os dois tempos de irradiação, verifica-se que há uma diferença estatisticamente significativa entre ambos, tendo o tempo de 5 minutos mostrado um melhor desempenho.

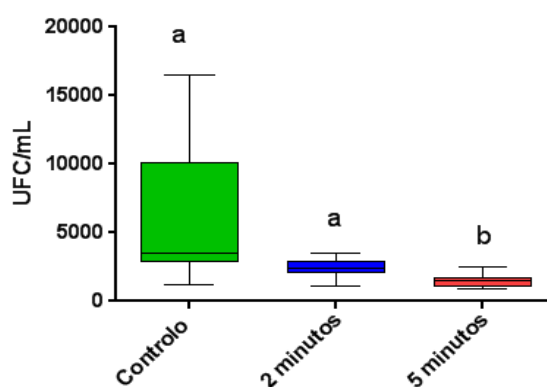


Figura 75: Redução do número de UFC/mL com o fungo *Penicillium citrinum* após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (1 hora após inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b}. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Quando a incubação que antecedeu a irradiação foi de 24 horas (Figura 76), também se observou uma redução significativa em relação ao grupo de controlo, de 75,2% para o tempo de irradiação de 2 minutos ($p = 0,0005$) e de 82,5% para 5 minutos ($p = 0,0001$). A estatística revela que não existe significância estatística quando comparados os ensaios de 2 e de 5 minutos.

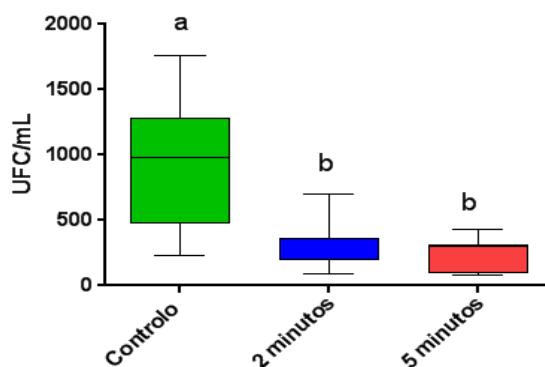


Figura 76: Redução do número de UFC/mL com o fungo *Penicillium citrinum* após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (24 horas após inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Um resultado idêntico ao anterior foi observado quando foi utilizado um tempo de 10 dias de incubação das UAs antes da irradiação (Figura 77). Uma redução significativa foi observada, 77,9% para o tempo de 2 minutos de irradiação ($p = 0,0009$) e 90,0% para 5 minutos ($p = 0,0001$). No entanto, entre os tempos de irradiação de 2 e 5 minutos não há diferença estatisticamente significativa.

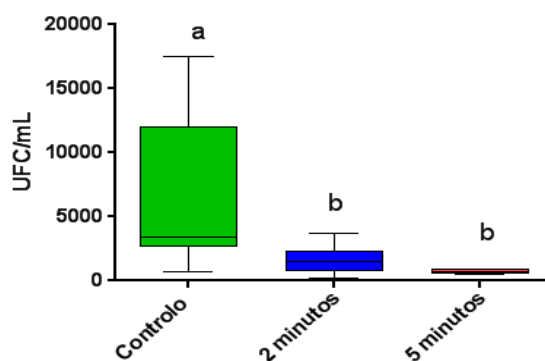


Figura 77: Redução do número de UFC/mL com o fungo *Penicillium citrinum* após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (10 dias de inoculação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Por fim, quando as UAs foram submetidas a 10 dias de incubação, irradiadas e incubadas por mais 10 dias (Figura 78), foi observado um percentual de redução

significativo de UFC em relação ao grupo de controlo, em que um maior tempo de irradiação resultou em carga fúngica mais baixa, 86,9% para o tempo 2 minutos e 94,6% para 5 minutos. Do ponto de vista estatístico, 5 minutos ($p = 0,0081$) mostrou a existência de diferença estatisticamente significativa enquanto o tempo de 2 minutos ($p = 0,0934$), apresenta o $p > 0,05$ e portanto, não apresenta diferença estatística significativa. Quando comparados os tempos de irradiação entre si, os resultados mostram diferenças estatisticamente significativas.

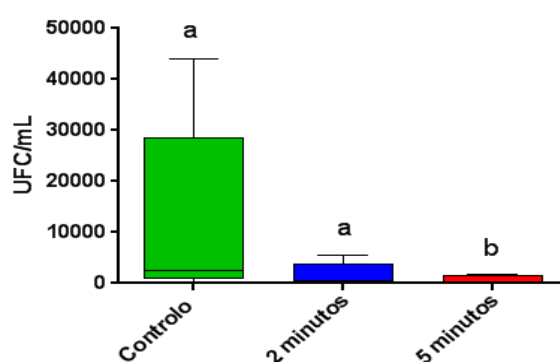


Figura 78: Redução do número de UFC/mL com o fungo *Penicillium citrinum* após ensaio com a radiação UV-C para os tempos de 2 e 5 minutos (10 dias de inoculação antes da irradiação + 10 dias de incubação após irradiação) indicando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ^{a, b} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

Assim, os resultados confirmam que a ação contínua da radiação UV-C sobre as UAs (madeira de Maçaranduba) pelos tempos de 5 minutos, apresenta diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) indicando que houve redução da carga fúngica para o fungo testado e em todas as condições usadas. Contudo, para o tempo de 2 minutos, o resultado não apresentou significância estatística em todas as situações estudadas, no entanto próximo desse valor.

Com a realização deste ensaio, como conceito da prova, controlado e com um número amostral maior em relação à análise descritiva dos resultados, constatou-se, claramente, a existência de uma diferença considerável entre o controlo e as amostras irradiadas por 2 ou 5 minutos, como tinha sido indicado pela análise baseada no método visual de desenvolvimento micelial. Contudo, nesta análise e para este fungo, o tempo

de 5 minutos foi mais eficaz que o tempo de 2 minutos na redução do número de UFC/ml. Em contrapartida, pela análise estatística baseada na comparação de imagens, a avaliação feita configurou um efeito semelhante entre os dois tempos usados. Esta ligeira diferença observada é perfeitamente compreensível, tendo em consideração a sensibilidade do método usado para a sua avaliação e o facto de a análise quantitativa ser feita sobre a totalidade da amostra ao contrário da análise parcelar no método visual.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação desenvolvida orientou-se para uma temática de grande relevo para as políticas e práticas inerentes à intervenção no património histórico edificado, a bem da sua preservação sustentada: as estruturas em madeira de suporte à cobertura de edifícios históricos. Através dela, considera-se, terá sido realçada a sua importância, e logo a importância da sua preservação, pelo seu carácter documental relativo a técnicas tradicionais de construção, que se apresentam, ergonomicamente compatíveis com o desempenho funcional de um edifício, e pelo seu carácter de proteção a todo um sistema construtivo. Neste caso, o interesse foca-se nos edifícios históricos, principalmente os que servem de contentor a um conteúdo que se traduz em bens culturais da igreja, de arquivos e, em especial, museus.

Não obstante tal realce, justo e legítimo, assinalam-se vulnerabilidades especialmente decorrentes das características ambientais e de acesso, típicas de tais estruturas, que potenciam o desenvolvimento de formas de vida que delas se alimentam, xilófagas, e as deterioram. Apesar de haver maior sensibilidade pública e das entidades de tutela para a ação de formas de vida macroscópicas, como os insetos, e haver investigação associada à gestão da sua atividade, o mesmo não se passa com formas de vida microscópicas, como fungos, que se desenvolvem mais discretamente e se propagam por via aérea, contaminando outros espaços e materiais, com efeitos nocivos para pessoas e bens culturais. Expõem-se, também, as metodologias tradicionais adotadas para intervenção de prevenção ao seu desenvolvimento e, em caso de falha, de resposta, para sua eliminação. Perante as evidências dos seus, também nocivos, efeitos para a saúde e estabilidade dos materiais, pondera-se a possibilidade de considerar a radiação UV-C como alternativa mais ambientalmente sustentável. Para suportar tal hipótese, apresentam-se as suas características germicidas, isto é, microbicidas.

Apesar de se registar investigação científica desenvolvida ensaiando a aplicação da radiação UV-C e tendo os fungos como alvo de interesse, não se identificaram estudos que os considerassem no contexto de interesse. Assim, assumiu-se o desafio de desenvolver um estudo laboratorial cuja ambição não poderia ultrapassar o caráter de exploratório, atendendo à sua complexidade e tempo necessário.

Para que o pretendido contributo pudesse, efetivamente, constituir-se como um avanço para o conhecimento e para a mitigação do problema, o estudo laboratorial teve de se suportar em contextos reais concretos, a partir dos quais foi possível identificar os géneros e, quando possível, as espécies, dos fungos mais frequentes e as madeiras de suporte. Como se pretendeu estender a escala do contributo, perspetivando climas tropicais onde as condições ambientais são promotoras de microbiota, considerou-se um contexto no Brasil, para além de um no Porto. Em concreto e por paralelismo, a Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, em Salvador, e a Igreja Matriz de Santo Ildefonso, no Porto.

Suportes e fungos foram replicados em laboratório. Após extenso trabalho de ensaios, foi possível identificar que as espécies fúngicas mais comuns nas madeiras das estruturas estudadas pertencem ao filo *Ascomycota*, com maior representação dos géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Chaetomium*, tratando-se de fungos filamentosos.

Os resultados da exposição à radiação UV-C, na faixa dos 254 nm, dos fungos selecionados, avaliada durante o intervalo de tempo proposto, são significativos e promissores em relação à inibição de crescimento e redução de carga fúngica nas superfícies das unidades amostrais.

A análise estatística descritiva indica que os fungos mostram sensibilidade à radiação UV-C, com possibilidade de reduções médias de contaminação superiores a 50%.

Do ponto de vista da estatística inferencial não-paramétrica, houve diferença significativa entre o percentual fúngico do controlo e o percentual fúngico de todos os tempos de radiação analisados. Porém, os dados não mostram a existência de diferenças

entre os ensaios com a aplicação dos diferentes tempos de irradiação e nem entre os diferentes intervalos de repouso propostos. Apesar do tamanho reduzido da amostra e da limitação no número de fungos testados, foi possível confirmar que, nas condições experimentais usadas para o tipo de avaliação efetuada, a utilização de UV-C aplicada sobre fungos em superfícies de madeiras é eficaz na redução do seu desenvolvimento. Porém, para uma utilização alargada à aplicação prática, será necessário avaliar melhor qual o tempo de irradiação mínimo mais eficaz, intervalos entre aplicações, e que apresente eficácia para qualquer ou a maioria dos fungos envolvidos em situações patológicas de estruturas de cobertura em madeira.

Embora as diferentes espécies fúngicas tenham exibido algumas diferenças de sensibilidade aos raios germicidas, as amostras infetadas apresentaram uma resposta positiva após exposição à radiação UV-C. Para se garantir uma mais ampla aplicabilidade será necessário estudar uma gama mais alargada de espécies habitualmente envolvidas nestas situações, para assegurar a eficácia das intervenções, de carácter profilático ou curativo, independentemente das espécies fúngicas envolvidas.

É importante salientar que processos de desinfeção e esterilização com radiação UV-C não são tradicionais e reconhecidamente aplicados à madeira. No entanto, atingiu-se um alto nível de significância no estudo desenvolvido. Para as seis diferentes espécies de fungos testadas, foi obtida uma boa resposta de inibição durante a exposição à radiação UV-C no comprimento de onda referido (254 nm), em todos os tempos de exposição ensaiados, isto é, em todas as doses.

Pelo que foi mostrado, poderemos prever que a ação da radiação UV-C nas superfícies das madeiras poderá ser um agente inibidor do desenvolvimento fúngico e, assim, conter o processo de avanço de um fungo instalado ou a invasão de outras espécies fúngicas filamentosas de bolor e mancha. Complementarmente, poderá proporcionar uma considerável redução da contaminação fúngica pela inativação dos esporos em suspensão na atmosfera interna dos locais de cobertura, favorecendo ainda mais a estabilidade dos materiais e mitigando o risco de problemas de saúde.

A sua eficiência dependerá das condições de limpeza das superfícies, pelo que, não obstante os seus efeitos benéficos, dentro dos limites expostos, a limpeza de manutenção dos espaços de cobertura não deverá ser negligenciada.

Pelo baixo custo dos recursos necessários, a implementação de sistema suportado na metodologia adotada poderá vir a ser exequível. Apesar da necessidade de mais ensaios para estabelecimento das condições ótimas de operabilidade, o extenso estudo conduzido dá suporte e incentivo ao seu desenvolvimento futuro. Perspetiva-se em formato de sistema de iluminação, apetrechado com lâmpadas germicidas a emitir nos 254 nm, de fácil acesso no mercado, estrategicamente distribuídas para alcançar toda a área de interesse, atendendo a condições de diferenciada iluminância e ligado a sistema de controlo automático regulado para um funcionamento de acordo com os tempos de exposição apurados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aanen, D. K., & Eggleton, P. (2005). Fungus-growing termites originated in African rain forest. *Current biology*, 15(9), 851-855.
- Acevedo, A., Bustos, C., Lasserre, J. P., & Gacitua, W. (2013). Ultraviolet ray aging effect on lathe check surface propagation in *Eucalyptus nitens* plywood. *Maderas: Ciencia y Tecnologia*, 15(1), 45-56.
- Aguiar, A. M. de S., Fernandes Neto, M. de L., Brito, L. L. A., Reis, A. A., Machado, P. M. R., Soares, A. F. S., Vieira, M. B. C. M. & Libânio, M. (2002). Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na descontaminação de águas com turbidez e cor moderadas. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 7(1-2), 38-47.
- Alexandre, F. A., Faria, J. D. A. F., & Cardoso, C. F. (2008). Avaliação da eficiência da radiação ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. *Ciência e Agrotecnologia*, 32, 1524-1530.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology* (4th ed.). John Wiley and Sons.
- Allen, J. (2001). Ultraviolet radiation: how it affects life on earth. *Earth Observatory*, NASA, USA. Recuperado de <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/UVB/>
- Allsopp, D., Seal, K. J., & Gaylarde, C. C. (2004). *Introduction to biodeterioration*, (2nd ed., pp. 233). Cambridge University Press.
- Anderson, E. L., Pawlak, Z., Owen, N. L., & Feist, W. C. (1991). Infrared studies of wood weathering. Part I: Softwoods. (4th ed.) *Applied spectroscopy*, 45(4), 641-647.
- Andreacci, F., & Melo, J. C. F. D. (2011). Madeiras históricas do barroco mineiro: interfaces entre o patrimônio cultural material e a anatomia da madeira. *Rodriguésia*, Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 62, 241-251.
- Appleton, J. A. (2003). *Reabilitação de edifícios antigos: patologias e tecnologias de intervenção* (2a ed.). [S.l.]: Orion.
- Araújo, D. F. D. P. D. (2016). *Avaliação de estruturas de madeira em serviço: caso de estudo da Ermida da Ascensão de Cristo* [Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa]. Repositório do IPL. <http://hdl.handle.net/10400.21/6156>
- Arêde, A., & Costa, A. (2002). Inspeção e diagnóstico estrutural de construções históricas. Algumas contribuições da FEUP. *Actas do 1º Seminário "A Intervenção no Património. Práticas de Conservação e Reabilitação"*. (pp. 55 – 88)

- Arriaga, F., Peraza, F., Esteban, M., Bobadilla, I. & Garcia, F. (2002). *Intervención en estructuras de madera*. Madrid: AITIM
- Associação Brasileira de Normas técnicas. (2017). Classificação da reação ao fogo de produtos de construção. *ABNT NBR 16626*.
- Azevedo, P. O. D. & Lima, V. L. R. C. (Org.) (1997). *Inventario de proteção do Acervo Cultural da Bahia: Monumentos do Município do Salvador*. (3a ed., Vol.1) Salvador: Secretaria de Cultura e Turismo.
- Baião, V. D. D. C. (2014). *Desempenho teórico e real de vigamentos de madeira* [Dissertação de Mestrado, Universidade Católica Portuguesa, Faculdade de Engenharia]. Repositório da UCP. <http://hdl.handle.net/10400.14/16119>
- Barbas, R. A. A. de B. (2015). *Reabilitação de Coberturas Antigas* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra]. Repositório da UC. <http://hdl.handle.net/10316/38574>
- Bassetto, E., Amorim, L., Benato, E. A., Gonçalves, F. P., & Lourenço, S. A. (2007). Efeito da irradiação UV-C no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós-colheita de pêssegos. *Fitopatologia Brasileira*, 32, 393-399.
- Batistuzzo, J. A. O., Itaya, M., & Eto, Y. (2006). *Formulário Médico Farmacêutico*. (3a ed.). São Paulo: Pharmabooks.
- Bedendo, I. P. (2011). Manchas foliares. In Amorim, L., Rezende, J. A. M., Bergamim Filho, A. (Ed.). *Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos*. (4a ed., 1, p. 459-466.). Agronômica Ceres.
- Begum, M., Hocking, A. D., & Miskelly, D. I. (2009). Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, 129(1), 74-77.
- Berni, C. A., Bolza, E., Christensen, F. J., & Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (Australia). (1979). South American timbers - the characteristics, properties and uses of 190 species. *Algunas maderas de America del sur - las características, propiedades y usos de 190 especies*. Division of Building Research.
- Berry, R. W. (1994). *Remedial treatment of wood rot and insect attack in buildings*. Building Research Establishment.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. K. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry—a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6), 637-645.
- Bolton, J. R. (2000, January 27-28). *UV Disinfection: An Overview of its Application and Cost Effectiveness for Water and Wastewater Treatment*. A technical symposium, Costa Mesa, CA. 2000.

- Borrego, S., Lavin, P., Perdomo, I., Gómez de Saravia, S., & Guiamet, P. (2012). Determination of indoor air quality in archives and biodeterioration of the documentary heritage. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- Bossardi, K., & Barreiros, R. M. (2011). Produtos naturais como preservantes para madeiras de rápido Crescimento—uma revisão. *Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)*, 2(2), p.110.
- Botelho Jr, J. A. (2006). *Avaliação não destrutiva da capacidade resistente de estruturas de madeira de edifícios antigos* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto]. Repositório Aberto da UP. <http://hdl.handle.net/10216/11297>
- Botosso, P. C. (2009). Identificação macroscópica de madeiras: guia prático e noções básicas para o seu reconhecimento. *Embrapa Florestas-Documentos (INFOTECA-E)*.
- Braga, C. M. (2018). *Aplicação de radiação ultravioleta na inativação de microrganismos deteriorantes de alimentos* [Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina]. Repositório Institucional da UFSC. <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/193492>
- Branco, J. M. & Lourenço, P. B. (2014). *Coberturas tradicionais de madeira. Caracterização, inspeção e classificação*. ISISE, Departamento de engenharia Civil, Universidade do Minho, Guimarães.
- Branco, J., Santos, A. & Cruz, P. (2008). Asnas tradicionais de madeira: evolução, comportamento e reforço com materiais compósitos. *Revista Portuguesa de Engenharia de Estruturas*, 1-13.
- Bravery, A. F., Berry, R. W., Carey, J. K., & Cooper, D. E. (1987). *Recognising wood rot and insect damage in buildings* (Vol. 3). Building Research Establishment.
- Brazolin, S. (1998). *Podridão mole em madeira de *Tabebuia sp.* (ipê) em torre de resfriamento de água: identificação e avaliação da capacidade de degradação dos fungos e alterações na estrutura anatômica da madeira* [Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo]. Repositório da USP. DOI: doi:10.11606/D.11.2019.tde-20191218-162427.
- Brickus, L. S., & Aquino Neto, F. R. D. (1999). A qualidade do ar de interiores e a química. *Química nova*, 22, 65-74.
- Briosa, J. D. R. D. P. (2012). *O convento dos Lóios no Porto, 1789-1798: Um processo de projecto ocorrido no contexto das transformações políticas e urbanas do final do século XVIII* [Dissertação Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra]. Repositório científico da UC. <http://hdl.handle.net/10316/20796>
- Brites, R. J. D. S. (2011). *Avaliação de Segurança das Estruturas Antigas de Madeira* (Tese de Doutorado). Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal.
- Brito, L. D. (2014). *Patologia em Estruturas de Madeira: Metodologia de Inspeção e Técnicas de reabilitação*. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. DOI: 10.11606/T.18.2014.tde-18122014-090958

- Brito, L.D. & Calil Jr., C. (2013, 2-5 de junho). *Manifestações patológicas em função da ausência de manutenção preventiva da estrutura de madeira da Passarela Pênsil de Piracicaba, Brasil*. Anais do IX Congresso International sobre Patologia e Reparação de Estruturas. Joao Pessoa, Paraíba, Brasil.
- Burger, L., & Richter, H. G. (1991). *Anatomía da madeira*. Nobel.
- Calil Junior, C., Dias, A. A., Góes, J. L., Cheung, A. B., Stamato, G. C., Pigozzo, J. C., & Lana, É. L. (2006). *Manual de projeto e construção de pontes de madeira*. Suprema.
- Camacho, C. (Coord.). (2007). Plano de Conservação Preventiva: Bases orientadoras, normas e procedimentos. *Colecção Temas de Museologia*. Instituto dos Museus e da Conservação.
- Cardão, C. (1981). *Técnica da construção*, (5a ed., Vol.2). Engenharia e Arquitetura.
- Cardoso, C. F. (2007). *Avaliação da esterilização de filme de polietileno com peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta* [Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos]. Repositório da Unicamp. <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/254554>
- Carta de Atenas (1931, 21-30 de outubro). *Conclusões da Conferência Internacional de Atenas sobre o Restauro dos Monumentos*. Serviço Internacional de Museus. <http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/226>
- Carta de Veneza (1964, 25-31 de maio). *Carta Internacional para a conservação e restauração de monumentos e sítios*. II Congresso Internacional de Arquitetos e de Técnicos de Monumentos Históricos. ICOMOS. <http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/226>
- Castellani, A. (1939). Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42, 225-226.
- Castro, V. G. & Guimarães, P. P. (2018). Agentes deterioradores abióticos. In *Deterioração e Preservação da Madeira*, (pp. 7-20). Edufersa, Mossoró.
- Cavalcante, M. S., (1986). Histórico da Preservação de Madeiras. In Lepage, E.S. (Coord.), *Manual de Preservação de Madeiras* (vol. I, pp. 9-39). IPT.
- Cavalcanti, F., Ferreira, N., Dias, M., & Justi, M. (2009). *Tempo e Clima no Brasil*. Oficina de Textos.
- Cavicchioli, A. & Gutz, I. G. R. (2003). O uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. *Química Nova*, 26, n.6, p. 913-921.
- Chang, S. T., Hon, D. N. S., & Feist, W. C. (1982). Photodegradation and photoprotection of wood surfaces. *Wood and Fiber Science*, 14(2), 104-117.
- Charter, I. C. O. M. O. S. (1999). Principles for the preservation of historic timber structures. *International council on monuments and sites—ICOMOS. 12th General Assembly. Mexico*.

Chudnoff, M. (1984). *Tropical timbers of the world* (No. 607). US Department of Agriculture, Forest Service.

Cia, P., Benato, E. A., Valentini, S. R. D. T., Anjos, V. D. D. A., Ponzio, F. S., Sanches, J., & Terra, M. M. (2009). Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'Niagara Rosada'. *Bragantia*, 68, 1010-1015.

Cidade-Brasil (2018). *Município de Salvador*. Prefeitura do Estado da Bahia. Recuperado em 25 novembro, 2018 de <https://www.cidade-brasil.com.br/municipio-salvador.html#municipio>

Ciferri, O. (1999). Microbial Degradation of Paintings. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, p.879-885.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. (28th ed.) CLSI supplement M100.

Cobb, T. C. (2016). UV-C Decontamination: NASA, Prions, and Future Perspectives. *Journal of ABSA International*, 21(2) 84-88. 2016. Acesso em 16 de março de 2018 de <http://www.southernbiosafety.wildapricot.org/resources/Documents/Cobb%20-%202016%20-%20UV-C%20Decontamination.pdf>

Collier, L., Balows, A. & Sussman, M. (1998). Bacterial Infections. In: Topley, W. W. C., & Wilson, G. S. (1998). *Microbiology and Microbial infections*. (9th ed.). Arnold.

Cosentino, A. (2015). Practical notes on ultraviolet technical photography for art examination. *Conservar Património*, 21, p.53-62.

Couto, J. F., Silva, M. S. da, Machado, W. C. A., Tyrrel, M. A. R., Couto, F. F., Nunes, M. A. S. & Figueiredo, N. M. A. de. (2021). Disinfection based on ultraviolet-c radiation: a bibliometric study in the international contexto Desinfección basada en la radiación ultravioleta-c: un estudio bibliométrico en el contexto internacional. *Research, Society and Development*, 10(1), e46910111785, (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11785>

Crisosto, C. H., Seguel, X., & Michailides, T. (1997, June). Comparing pulsed ultraviolet light and postharvest fungicide for peach fruit decay control. In *IV International Peach Symposium 465*, 471-480. DOI: 10.17660/ActaHortic.1998.465.59

Cruz, H. & Nunes, L. (2008). *A madeira como material de construção*. Lisboa: Núcleo de Estruturas da Madeira, Laboratório Nacional de Engenharia Civil, LNEC, pp.27.

Cruz, H. (2001, fevereiro-março). Patologia, avaliação e conservação de estruturas de madeira. *II Curso Livre Internacional de Património*. Associação Portuguesa dos Municípios com centro histórico. Fórum UNESCO Portugal. Santarém.

Cruz, Helena (2011, 6 de Abril): Inspeção, avaliação e conservação de estruturas de madeira: 1^{as} Jornadas Materiais na Construção. Porto, Portugal.

- Cutler, T. D., & Zimmerman, J. J. (2011). Ultraviolet irradiation and the mechanisms underlying its inactivation of infectious agents. *Animal Health Research Reviews*, 12(1), 15-23.
- Daniel, L.A. (2001). *Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável*. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico –PROSAB.
- Dark, P. J., & Rose, R. G. (Eds.). (1993). *Artistic heritage in a changing Pacific*. University of Hawaii Press.
- Decreto Lei n. 129/1977. (1977). *Classifica vários imóveis como monumentos nacionais*. (p.2390). Diário da República, DR, I Série, nº 226. Imprensa Nacional - Casa da Moeda.
- Decreto Lei n. 25/1937. (1937). *Organiza a proteção do patrimônio histórico e artístico nacional*. Livro de Tombo nº 126/1938 e Livro de nº 03 das Belas Artes do Serviço de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN).
- Desvallées, A., & Mairesse, F. (Eds.). (2013). *Conceitos-chave de Museologia*. São Paulo: Comitê Brasileiro do Conselho Internacional de Museus.
- Dhingra, O. D., & Sinclair, J. B. (2017). *Basic plant pathology methods*. (2th ed.) CRC press.
- Dias, K. D., & Barreiros, R. M. (2017). Resistência à biodeterioração das madeiras de rápido crescimento tratadas com tall oil e derivados. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*, 2, 22-36.
- Dias, M. H. (2011). *Farinha, madeira e cabotagem: a capitania de ilhéus no antigo sistema colonial*. EDITUS.
- Dijk, R. V. (2014). *Associação de métodos não destrutivos para inspeção de estruturas de madeira* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas]. Repositório da Unicamp. <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/257113>
- Donnelly, J. & Flegg, E. (Ed.) (2007). *Maintenance a guide to the care of older buildings*. Published by the Stationery Office, Government of Ireland.
- Doria, R. C. S. (2015). Conservação de madeiras de cobertura e forro: igreja de Nossa Senhora da Conceição da Praia em Salvador e do Convento Franciscano de Cairu, Bahia. In *Cultura Artística e Conservação de Acervos Coloniais*. (pp. 265-280). Clio Gestão Cultural.
- Doria, R. C. S. (in press) *Avaliação biológica e mecânica por ataque de fungos e identificação taxonômica nas madeiras de construção da Igreja Basílica de Nossa Senhora da Conceição da Praia, Salvador – Bahia, 2005* [Dissertação de Mestrado não-publicada]. Universidade Federal da Bahia.
- Došen, I., Nielsen, K. F., Clausen, G., & Andersen, B. (2017). Potentially harmful secondary metabolites produced by indoor Chaetomium species on artificially and naturally contaminated building materials. *Indoor Air*, 27(1), 34-46.

- Duke University Medicine Department (Duck Health, 2017). *UV Light Can Aid Hospitals' Fight to Wipe Out Drug-Resistant Superbugs*. Duke Health. Recuperado em 6 de julho, 2018 de <https://corporate.dukehealth.org/news/uv-light-can-aid-hospitals-fight-wipe-out-drug-resistant-superbugs>.
- Eaton, R. A. (1972). Fungi growing on wood in water cooling towers. *International biodeterioration bulletin*, 8, 39-48.
- Eaton, R. A., & Hale, M. D. (1993). *Wood: decay, pests and protection*. Chapman and Hall Ltd.
- Elamin, A., Takatori, K., Matsuda, Y., Tsukada, M. & Kirino, F. (2018). Fungicidal Effects of Ultraviolet Light (254 nm) Irradiation on Contaminated Museum Packing and Storing Materials. *Biocontrol Science*, 23(4), 177-186.
- EN 13501-1 (2018). *Eurocode 6: Fire classification of construction products and building elements - Part 1: Classification using data from reaction to fire tests*. European Committee for Standardization.
- Esteves, B. & Pereira, H., (2009). Novos métodos de protecção da madeira. In *Congresso Florestal Nacional, 6ª-A Floresta num Mundo Globalizado* (pp. 421-428). SPCF.
- Fan, X., Huang, R., & Chen, H. (2017). Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends in Food Science & Technology*, 70, 9-19. Recuperado de DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.004>
- Ferreira, M. T., Borges, P. A., Nunes, L., Myles, T. G., Guerreiro, O., & Scheffrahn, R. H. (2013). Termites (Isoptera) in the Azores: an overview of the four invasive species currently present in the archipelago. *Arquipélago. Life and Marine Science*, 30, 39-55.
- Ferreirinha, M. P. (1958). *Elementos de anatomia de madeiras: folhosas portuguesas* (Vol. 3). Ministério do Ultramar.
- Fiedler, K., Schütz, E., & Geh, S. (2001). Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International journal of hygiene and environmental health*, 204(2-3), 111-121.
- Figueiredo, A. C. R. (2018). *Manual de normas e rotinas da CME/FAO*. Faculdade de Odontologia. Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais.
- Fiorelli, J., Dias, A. A., & Coiado, B. (2009). Propriedades mecânicas de peças com dimensões estruturais de Pinus spp: correlação entre resistência à tração e classificação visual. *Revista Árvore*, 33, 741-750.
- Fonseca, E. P. (2017). *Resistência ao fogo de elementos de madeira pelo Eurocódigo 5 – estudo de caso na reabilitação de edifícios antigos* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia]. Repositório Aberto da UP. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/106074/2/202946.pdf>

- Fonseca, J. C. L., Marchi, M. R. R. & Fonseca, J. C. L. (2008, Trad.). *Programa Internacional de Segurança Química, Substâncias químicas perigosas à saúde e ao ambiente*. Organização Mundial da Saúde. Cultura Acadêmica.
- Furtado, E. (2000). Microrganismos manchadores da madeira. *Série Técnica IPEF, Piracicaba*, 13(33), 91-96.
- Gardner, D. W. M., & Shama, G. (2000). Modeling UV-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *Journal of food Protection*, 63(1), 63-70.
- Gaylarde, C. C., & Gaylarde, P. M. (2002, March). Biodeterioration of historic buildings in Latin America. In *Abstract Retrieved from 9th DBMC International Conference on Durability of Building Materials and Components (Brisbane)*.
- Goktas, O.; Mammadov, R.; Duru, M. E.; Ozen, E. (2008) A research on the usage of extracts from a poisonous plant (*Ornithogalum alpigenum* Spapf) as a wood preservative. *Abstracts / Journal of Biotechnology*, 136S, S672.
- Gomes, M. H. R (2003). *Uso da abordagem bayesiana para a estimativa de parâmetros sazonais dos modelos auto-regressivos periódicos* [Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade Estadual de São Paulo]. Biblioteca Digital da USP. DOI:10.11606/T.18.2016.tde-06012016-113635
- Gonzaga, A. L. (2006). Madeira: Uso e Conservação. *Cadernos técnicos*, 6, 23 -25. Programa Monumenta/IPHAN.
- Google (s.d.). [Mapa da cidade do Porto, Portugal]. Recuperado em 06 dezembro 2020 de <https://pt.maps-portugal.com/mapa-porto-portugal>
- Green, C. F., Scarpino, P. V., Jensen, P., Jensen, N. J., & Gibbs, S. G. (2004). Disinfection of selected *Aspergillus* spp. using ultraviolet germicidal irradiation. *Canadian journal of microbiology*, 50(3), 221-224. DOI: <https://doi.org/10.1139/w04-002>
- Green, M. R. & Sambrook, J. (2012). *Molecular Cloning: a laboratory manual*. (4th ed., Vol.1). CHS PRESS.
- Guedes, A. M. M., Novello, D., Mendes, G. M. de P. & Cristianini, M. (2009). Tecnologia de ultravioleta para preservação de alimentos. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 27(1), 59-70.
- Guerra, F. L., Cunha, E. G. D., Silva, A. C. S. B. D., & Knop, S. (2012). Análise das condições favoráveis à formação de bolor em edificação histórica de Pelotas, RS, Brasil. *Ambiente Construído*, 12, 7-23.
- Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food science and technology international*, 10(3), 137-147. <https://doi.org/10.1177/1082013204044359>
- Guiamet, P., Borrego, S., Lavin, P., Perdomo, I., & de Saravia, S. G. (2011). Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata,

Argentina and at the National Archive of the Republic of Cuba. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85(2), 229-234.

Guimarães, P. P., Rosa, T. S. & Castro, V. G. (2018). Agentes com alta capacidade de degradação da lignina. In: Vinicius G. de Castro & Pompeu P. Guimarães (org.). *Deterioração e Preservação da Madeira*, (pp. 55-65). Edufersa.

Günter, E. A., Kapustina, O. M., Popeyko, O. V., & Ovodov, Y. S. (2007). Influence of ultraviolet-C on the compositions of cell-wall polysaccharides and carbohydrase activities of *Silene vulgaris* callus. *Carbohydrate research*, 342(2), 182-189.

Gutarowska, B., Pietrzak, K., & Skóra, J. (2014). Disinfection as a factory reducing microbial threat at work posts in museum and library. A comparison of the effectiveness of photocatalytic ionization, UV irradiation and chemical misting. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 945-959.

Hanada, R. E., Sales-Campos, C., Abreu, R. L. S. D., & Pfenning, L. (2003). Mould and stain fungi in logs stored in wood industries of Manaus, Amazonas, Brazil. *Acta Amazonica*, 33(3), 483-488.

Henrique, P. de C. (2015). *Radiação ultravioleta (UV-C) em suco de uva integral* [Tese de Doutorado, Universidade Federal de Lavras]. Repositório da UFLA. <http://repositorio.ufla.br/handle/1/5087>

Henriques, M. D. e S. F. (2011). *Tratamento e consolidação de madeira de pinho degradada em elementos estruturais de edifícios antigos* [Tese de Doutorado, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa]. Universidade de Lisboa <https://catalogo-bibliotecas.ulisboa.pt/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=552032>

Highley, T. L. & Dashek, W. V. (1998). Biotechnology in the Study of Brown and White Rot Decay. In Bruce, A.; Palfreyman, J.W (Eds). *Forest products biotechnology*. Taylor and Francis.

Hoadley, R. B. (1990). *Identifying wood: accurate results with simple tools*. Taunton Press.

Homem, P. M. (2013). Conservação preventiva em contextos culturais: recursos tecnológicos para gestão de risco ambiental; poluição. *Revista da Faculdade de Letras: ciências e técnicas do património*, 12, 305-317.

Hon, D. N. S., & Chang, S. T. (1984). Surface degradation of wood by ultraviolet light. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 22(9), 2227-2241.

Huang, K., Zou, Y., Luo, J., Liu, Y. (2015). Combining UV-C treatment with biocontrol yeast to control postharvest decay of melon. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 14307-14313. Recuperado de DOI: 10.1007/s11356-015-4687-0

IBAMA (1997). *Madeiras Tropicais Brasileiras*. IBAMA-LPF.

ICOMOS, A. (2013). *The Burra Charter: The Australia ICOMOS charter for places of cultural significance 2013*. Australia ICOMOS Incorporated.

ICOMOS, N. (1994). The Nara document on authenticity. *Proceedings of the ICOMOS, Nara, Japan*, 1-6.

Ilies, D., Onet, A., Grigore, H., Liliana, I., Alexandru, I., Ligia, B., Ovidiu, G., Florin, M., Stefan, B., Tudor, C., Patricia, M., Pavel, O., Monica, C., Marin, I., Jan, W., & Dana, M. (2019). Explorar o ambiente interno de edifícios históricos e seu papel na conservação de objetos valiosos. *Environmental Engineering and Management Journal*, 18 (12), 2579-2586. <http://eemj.eu/index.php/EEMJ/article/view/4009>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019). *Cidades e Estados: Salvador*. Recuperado de <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ba/salvador.html>

International Council of Museums - Committee for Conservation (ICOM-CC, 2008). *Terminology to characterize the conservation of tangible cultural heritage*. Icom-CC. Recuperado de <http://www.icom-cc.org/242/about/terminology-for-conservation/#.Xw2IWSgzaUk>

IPHAN (2005). *Manual de Conservação de Telhado*. Brasília: Ministério da Cultura, Programa Monumenta.

Iseki, S., Ohta, T., Aomatsu, A., Ito, M., Kano, H., Higashijima, Y., & Hori, M. (2010). Rapid inactivation of *Penicillium digitatum* spores using high-density nonequilibrium atmospheric pressure plasma. *Applied physics letters*, 96(15), 153704. Recuperado de DOI: <https://doi.org/10.1063/1.3399265>

Jacobson, E. S., Hove, E., & Emery, H. S. (1995). Antioxidant function of melanin in black fungi. *Infection and immunity*, 63(12), 4944-4945.

Jankowsky, I. P. (1986). Os creosotos na preservação de madeiras. *Revista IPEF*, 34, 5-14.

Jóia, H. A., Fonseca, T., Silva, M. E., & Marques, C. P. (2006). Avaliação por métodos não destrutivos do diâmetro de cerne à altura do peito em eucalipto e em choupo. *Revista CERNE*, 12(4), 309-313.

Jokilehto, J. (1986). *A History of Architectural Conservation* [Tese de Doutorado, University of York]. Recuperado de http://www.iccrom.org/pdf/ICCROM_05_HistoryofConservation00_en.pdf

Juvvadi, P. R., & Steinbach, W. J. (2015). Calcineurin orchestrates hyphal growth, septation, drug resistance and pathogenesis of *Aspergillus fumigatus*: where do we go from here? *Pathogens*, 4(4), 883-893. DOI: 10.3390/pathogens4040883

Kaarik, A. (1980). Fungi causing sap stain in wood. *Intl. Research Group on Wood Preservation*, Doc. IRG/WP/199.

Kalil, E. M. & Costa, A. J. F. (1994). Desinfecção e esterilização. *Acta Ortopedica Brasileira*, 2(4).

- Kataoka, Y., Kiguchi, M., Williams, R.S. & Evans, P.D. (2007). Violet light causes photodegradation of wood beyond the zone affected by ultraviolet radiation. *Holzforschung*, 61, 23–27.
- Kato, M., Garcia, E. G. & Wunsch Filho, V. (2007). Exposição a Agentes Químicos e a saúde do Trabalhador. *Rev. Bras. Saúde Ocupacional*, 32(116), 06-10.
- Keissler, K. (1912). Zur Kenntnis der Pilzflora Krains. Beihefte zum Botanischen. *Centralblatt*, 29:395-440, Page 433.
- Klock, U., Muñiz, G. I. B., Hernandez, J. A. & Andrade, A. L. (2005). *Química da Madeira*. (3 Rev. ed., p. 86). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Kloiber, M., Drdácý, M., Machado, J. S., Piazza, M., & Yamaguchi, N. (2015). Prediction of mechanical properties by means of semi-destructive methods: A review. *Construction and Building Materials*, 101, Part 2, pp. 1155-1278.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non thermal processing of liquid food. *Food bioprocess technology*. 2, 138-155.
- Koutchma, T.N., Forney, L.J. & Moraru, C.I. (2009). *Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications*. CRC Press, Dublin.
- Koutchma, T. (2019). *Ultraviolet light in food technology: principles and applications* (Vol. 2). CRC press.
- Kramarenko, R. N, Levon, A. V., Drobot, V. I., Slyusarenko, T. P. (1987) Effect of UV radiation and temperature on micromycetes of cloths used in baking processes. *Pishchevaya Promyshlennost, Respublikanskii Mezhvedomstvennyi Nauchno-tekhnicheskii Sbornik*, 30, 85-88.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. (1997). Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR.
- Kruskal, W.H & Wallis, W.A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583-621.
- Lanza, J. (2016, 13 de novembro). *Desinfecção de embalagem utilizando radiação ultravioleta – parte 1*. Food Safety Brazil: Conteúdo para segurança de alimento. <https://foodsafetybrazil.org/desinfeccao-de-embalagem-utilizando-radiacao-ultravioleta-parte-1/>
- Larsen, K. E. & Marstein, N. (2000). *Conservation of historic timber structures - An ecological approach* (p.463) Butterworth-Heinemann Edit., Reed Elsevier plc group.
- Latgé, J. P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical microbiology reviews*, 12(2), 310-350.
- Leach, C. M. (1962). Sporulation of diverse species of fungi under near-ultraviolet radiation. *Canadian journal of botany*, 40(1), 151-161.

- Lebow, S., & Anthony, R. W. (2012). *Guide for use of wood preservatives in historic structures* (p.59). Government Printing Office.
- Lelis, A.T, Brazolin, S., Fernandes, J. L. G., Lopez, G. A. C., Monteiro, M. B. B. & Zenid, G. J. (2001). *Biodeterioração de madeiras em edificações*. IPT, Instituto de Pesquisas Tecnológicas.
- Lemos, A. R. S. (2016). *Desenvolver um sistema de envernizamento por cura ultravioleta para parquet e soalho de madeira* [Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro]. Repositório da UA. <http://hdl.handle.net/10773/16784>
- Lepage, E. S. (1986). *Manual de Preservação de Madeiras* (v. I). IPT. Divisão de Madeiras.
- Lima, C. M., Silva, L. F. X., Gonçalves, J. C., Pereira, R. S. & Costa, T. R. V. (2011, 21 de outubro). *A influência da radiação ultravioleta em lâminas de madeira, da espécie pau marfim tratada com produtos químicos, por câmara de envelhecimento e espectrocolorimetria*. V Congresso Florestal Latino-Americano. Lima, Peru.
- Lira, F. B. (2009). *Patrimônio cultural e autenticidade: montagem de um sistema de indicadores para o monitoramento* [Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco]. Repositório da UFPE. <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3020>
- Liu, C. Y., Tseng, C. H., Wang, H. C., Dai, C. F., & Shih, Y. H. (2019). The study of an ultraviolet radiation technique for removal of the indoor air volatile organic compounds and bioaerosol. *International journal of environmental research and public health*, 16(14), 2557. Recuperado de DOI: 10.3390/ijerph16142557
- Liu, D., Wei, L., Guo, T., & Tan, W. (2014). Detection of DOPA-melanin in the dimorphic fungal pathogen *Penicillium marneffeii* and its effect on macrophage phagocytosis in vitro. *PLoS One*, 9(3), e92610. Recuperado de DOI: 10.1371/journal.pone.0092610
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y., Wilson, C. L., Adeyeye, O., Kabwe, M. K., Pusey, P. L., Chalutz, E., Sultana, T. & Droby, S. (1993, Outubro). Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*, Great Britain, 56, pp. 868-8732. Recuperado de DOI: 10.4315 / 0362-028X-56.10.868
- Logsdon, N. (1998). *Influência da umidade nas propriedades de resistência e rigidez da madeira* [Tese Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos]. Biblioteca Digital da USP. DOI: 10.11606/T.18.2017.tde-21122017-121822
- Lopes, M. A. C. (2007). *Tipificação de soluções de reabilitação de estruturas de madeira em coberturas de edifícios antigos* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto]. Repositório Aberto da UP. <http://hdl.handle.net/10216/12915>
- López-Malo, A. & Palou, E. (2005). Ultraviolet light and food preservation. In: Barbosá-Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Cano, M.P. (Eds.), *Novel Food Processing Technologies* (Chap. 18, pp. 405–421). CRC Press.

- Lucas, J. (2003). Integrating MAP with new germicidal techniques. In *Novel food packaging techniques* (pp. 312-336). Woodhead Publishing Limited.
- Lumley, T. C., Gignac, L. D., & Currah, R. S. (2001). Microfungus communities of white spruce and trembling aspen logs at different stages of decay in disturbed and undisturbed sites in the boreal mixedwood region of Alberta. *Canadian Journal of Botany*, 79(1), 76-92.
- Machado, G. O., Calil Jr, C., Polito, W., & Pawlicka, A. (2006). Preservante natural de madeira para uso na construção civil: óleo de neem. *Minerva*, 3(1), 1-8.
- Machado, J. S., Cruz, H., Custódio, J., Palma, P., & Dias, A. (2009). Avaliação, Conservação e Reforço de Estruturas de Madeira (Evaluation, conservation and reinforcement of timber structures). *Verlag Dashöfer*.
- Machado, N. P., Coutinho, E. F., & Antunes, P. L. (2005). Técnicas alternativas no controle de podridões pós-colheita de pêssegos. *Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTECA-E)*.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2016, 14a ed.). *Microbiologia de Brock*. Artmed Editora.
- Marconi, M. D. A., & Lakatos, E. M. (2003). *Fundamentos de metodologia científica*. (5. ed.). Atlas.
- Martins, S. A., dos Santos, C. M. T., Gonçalves, J. C., & Camargos, J. A. A. (2011). Envelhecimento artificial acelerado por radiação ultravioleta de madeiras de *Eucalyptus benthamii* e *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. *Floresta*, 41(1), pp. 87-96.
- Martins, S. C., & Martins, C. (2013). Isolamento e controle químico de fungos filamentosos de documentos e obras de arte do Estado do Ceará. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, 9(17), pp. 2013 2822.
- Martins, S. F. M. F. (2009). *Estruturas de madeira—inspeção e diagnóstico: aplicação em caso de estudo* [Dissertação de Mestrado, Universidade do Minho]. Repositório da Uminho. <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/10758>
- Marto, P. M. R. (2013). *Avaliação não destrutiva das propriedades mecânica de postes de madeira com recurso a técnicas não destrutivas* [Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra]. Repositório da UC. <http://hdl.handle.net/10316/38477>
- Mazzer, C., Pazzetto, R., Moriwaki, C., & Matioli, G. (2009). Avaliação de métodos para manutenção e preservação de bactéria esporulada produtora da enzima CGTase. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 31(2), 113-118.
- McGill, B. J., Etienne, R. S., Gray, J. S., Alonso, D., Anderson, M. J., Benecha, H. K., ... & White, E. P. (2007). Species abundance distributions: moving beyond single prediction theories to integration within an ecological framework. *Ecology letters*, 10(10), 995-1015. Recuperado de DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01094.x.

- Melo Júnior, J. C. F. (2012). Aspectos anatômicos de madeiras históricas do período colonial do nordeste de Santa Catarina: elementos para conservação do patrimônio cultural. *Revista Confluências Culturais*, 1(1), 70-84.
- Melo, A.S. & Ribeiro, M. do C. (Coord.) (2012). Os materiais empregues nas construções urbanas medievais. Contributo preliminar para o estudo da região do Entre Douro e Minho. In: Melo, A.S. & Ribeiro, M. do C. (Coord.). *História da Construção – Os materiais*. (pp. 127-166). CITCEM/LAMOP.
- Melo, R.F.A. (2009). *Edifícios Novos em Sítios Históricos: análise dos impactos sobre a autenticidade e integridade do património construído* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco]. Repositório da UFPE <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3288>
- Mendes, A. D. S., & Alves, M. D. S. (1988). *A degradação da madeira e sua preservação* (No. 634.984 M538). Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Brasília. Dept. de Pesquisa. Laboratório de Produtos Florestais.
- Meneguetti, M. P. M. Z. & Carvalho, S. F. G. de. (1994). *Telhados com estrutura de aço: alguns aspectos projetivos*. Boletim Técnico da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- Menzies, D., Popa, J., Hanley, J. A., Rand, T., & Milton, D. K. (2003). Effect of ultraviolet germicidal lights installed in office ventilation systems on workers' health and wellbeing: double-blind multiple crossover trial. *The Lancet*, 362(9398), 1785-1791.
- Microbiology Manual (2010). *Merck Microbiology Culture Media Manual* (12th ed. online). Recuperado em 22 Agosto, 2019 de <https://vdocuments.mx/merck-microbiology-manual-12th.html>.
- Miller, R. B. (1999). Wood handbook—Wood as an engineering material. *Gen. Tech. Rep. FPL-GTR-113*.
- Moliterno, A. (2010). *Caderno de projetos de telhados em estruturas de madeira* (3ª ed.). Editora Blucher.
- Mongelo, A. I. (2012). *Validação de Método Baseado em Visão Computacional para Automação da Contagem de Viabilidade de Leveduras em Indústrias Alcooleiras* [Dissertação de Mestrado, Universidade Católica Dom Bosco]. Recuperado de <http://www.gpec.ucdb.br/pistori/orientacoes/dissertacoes/arnaldo2012.pdf>
- Montgomery, J. M. (1985). Disinfection, in: J.M.M., Consulting Engineers, Inc. *Water Treatment Principles and Design* (v. II, pp. 262-283). Edit. Wiley-Interscience Publication.
- Moreira, M. F. J. (2009). *Reabilitação de Estruturas de Madeira em Edifícios Antigos* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto]. Repositório Aberto da Universidade do Porto <http://hdl.handle.net/10216/59901>
- Moreschi, J. C (2013a). Biodegradação da Madeira. *Biodegradação e Preservação da Madeira*,1(4). Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da UFPR.

- Moreschi, J. C. (2013c). Métodos de Tratamento de Madeiras. *Biodegradação e Preservação da Madeira*, 3(4) Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da UFPR.
- Moza, M. I., Mironescu, M., & Mironescu, I. D. (2012). Action of UV radiations on two *Penicillium* species spores isolated from mortar. *Annals of RSCB*, 17, 67-76.
- Mueller, U. G., Rehner, S. A., & Schultz, T. R. (1998). The evolution of agriculture in ants. *Science*, 281(5385), 2034-2038.
- Napolitano, N. A., Mahapatra, T., & Tang, W. (2015). The effectiveness of UV-C radiation for facility-wide environmental disinfection to reduce health care-acquired infections. *American journal of infection control*, 43(12), 1342-1346.
- Nascimento, E. (2009). *Efeito da radiação UVB em conídeos e micélios dos ascomicetos – modelo Aspergillus fumigatus, Aspergillus nidulans e Metarhizium anisopliae* [Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, São Paulo]. Biblioteca Digital da USP. DOI:10.11606/T.60.2010.tde-23072010-102011
- Nascimento, F. V., Santos, M. C. D., Valdebenito-Sanhueza, R. M., & Bartnicki, V. A. (2014). Hidrotermia e radiação UV-C no controle de patógenos de manga e melão. *Summa phytopathologica*, 40, 313-317.
- Neves, A., & Henriques, D. F. (2014, 5-7 de março). Avaliação local da capacidade mecânica de elementos de madeira em edifícios antigos. In 1º Congresso Luso-Brasileiro de Materiais de Construção Sustentáveis (CLBMCS) (pp. 675-686).
- New Orleans Charter (AIC/APTI, 1992). *Joint Preservation of Historic Structures and Artifacts*. Recuperado de <https://www.uvm.edu/histpres/307/neworleanscharter.html>
- Nowakowicz-Dębek, B., Wlazło, L., Krukowski, H., Pawlak, H., & Trawińska, B. (2013). Reduction of microbial contamination of mobile phones using ultraviolet UV radiation and ozone. *African Journal of Microbiology Research*, 7(49), 5541-5545.
- Nunes, L., Cruz, H., Fragoso, M., Nobre, T., Machado, J. S., & Soares, A. (2005, January). Impact of drywood termites in the Islands of Azores. In *IABSE Symposium Report* (Vol. 90, No. 3, pp. 114-120). International Association for Bridge and Structural Engineering.
- Oliveira, A. M. F., Lelis, A. D., Lepage, E. S., Lopez, G. C., Oliveira, L. D., Cañedo, M. D., & Milano, S. (1986). Agentes destruidores da madeira. *Manual de preservação de madeiras*, 1, 99-278. IPT.
- Oliveira, M. T. D., Monteiro, A. C., Scala, N. L., Barbosa, J. C., & Mochi, D. A. (2016). Sensibilidade de isolados de fungos entomopatogênicos às radiações solar, ultravioleta e à temperatura. *Arquivos do Instituto biológico*, 83.
- Oliveira, M., Abreu, I., Ribeiro, H., & Delgado, L. (2007). Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. *Rev Port Imunoalergologia*, 15(1), 61-85.

Ortiz, R., Párraga, M., Navarrete, J., Carrasco, I., de la Vega, E., Ortiz, M., ... & Blanchette, R. A. (2014). Investigations of biodeterioration by fungi in historic wooden churches of Chiloé, Chile. *Microbial ecology*, 67(3), 568-575.

Ozaki, S. K. (2004). *Compósitos biodegradáveis de resíduos de madeira-PVA modificado por anidrido ftálico* [Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. São Carlos, São Paulo]. Biblioteca Digital da USP. DOI:10.11606/T.88.2004.tde-25112014-165852

Ozcelik, B. (2007). Fungi: Bactericidal and Static Effects of Ultraviolet Light in 254 and 354 nm Wavelengths. *Research Journal of Microbiology*, 2: 42-49. DOI: 10.3923/jm.2007.42.49

Palma, P. M. C. (2009). *Ligações tradicionais em estrutura de madeira: Avaliação experimental do seu comportamento mecânico*. [Dissertação de Mestrado, Laboratório Nacional de Engenharia Civil]. Repositório Científico do LNEC. <http://repositorio.lnec.pt:8080/jspui/handle/123456789/16907>

Parma, A. P. & Icimoto, F.H. (2018). Patologias em estruturas de madeira ocasionadas por agentes bióticos e abióticos. *Revista Científica Semana Acadêmica*, 1(141), pp.1-23

Patton, W. J. (1978). *Materiais de construção para engenharia civil*. EPU: Universidade de São Paulo.

Paulo, P. & Brito, J. (2001). *Classificação das Coberturas Inclinadas e Respectivos Revestimentos* [Dissertação de Mestrado, Instituto Superior Técnico]. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4173.3603>

Peixoto, P. (2003). Centros históricos e sustentabilidade cultural das cidades. In *Anais do Seminário "A Cidade entre Projectos e Políticas"* (pp. 211-226). Faculdade de Letras, Universidade do Porto. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/312155620_Centros_historicos_e_sustentabilidade_cultural_das_cidades

Peixoto, R. M. de F. T. (2012). *Conservação e Restauro da Escultura sobre Madeira Policromada de S. Francisco de Assis de Machado de Castro*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Católica Portuguesa]. Repositório da UCP. <http://hdl.handle.net/10400.14/16478>

Pereira, N. B. (2011). *Restauro em coberturas com estruturas em madeira: influência da decisão de projeto na preservação do patrimônio cultural* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil]. Repositório da Universidade Federal de Santa Catarina <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/95287>

Pfeil, W. & Pfeil, M. (2003). *Estrutura de Madeira* (6a ed., ed. rev. e ampl.) Ed. LTC, Rio de Janeiro.

Pfeil, W. (2017). *Estrutura de madeira: dimensionamento segundo a norma brasileira NBR 7190/97 e critérios das normas norte-americanas NDS e europeias EUROCODE 5* (6a ed. rev. e ampl.) Ed. LTC.

Philips (2019). *Catálogo Philips*. Disponível em <https://www.lighting.philips.pt/habitacao>

- Pitt, J. I. (1979). *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. Academic, pp 1–634.
- Ponta, C. C. & Havermans, J. B. G. A. (2017). Biodeterioration of tangible cultural heritage. In: *Uses of Ionizing Radiation for Tangible Cultural Heritage Conservation* (pp. 9-30). International Atomic Energy Agency (IAEA).
- Preston, F. W. (1948). The commonness, and rarity, of species. *Ecology*, 29(3), 254-283.
- Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2004). *Os reinos dos fungos* (2ª ed., v. 1). Edunisc.
- Rangel, D. E., Butler, M. J., Torabinejad, J., Anderson, A. J., Braga, G. U., Day, A. W., & Roberts, D. W. (2006). Mutants and isolates of *Metarhizium anisopliae* are diverse in their relationships between conidial pigmentation and stress tolerance. *Journal of invertebrate pathology*, 93(3), 170-182.
- Rato, V. & Brito, J. (2003). *Exigências funcionais das coberturas inclinadas*. Instituto Superior Técnico, Cadeira de Construção de Edifícios.
- Ravasi, R. & Lilge, D. S. (2012b). Métodos não industriais de tratamento da madeira. In: *Anais da 27ª Jornada Acadêmica Integrada*, Universidade Federal de Santa Maria.
- Ravasi, R., & Lilge, D. (2012a). Métodos Industriais de Preservação da Madeira. In: *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 4(2).
- Raven, P. H., Evert, R. F. & Eichhorn, S. E. (2001). *Biologia Vegetal* (6a ed.). Editora Guanabara/Koogan.
- Rêgo, C. de M., Santos, F. da S. (2015) Ocorrência de fungos anemófilos e sua relação com fatores abióticos em Barreiras, Bahia. *Revista Brasileira de Biociências*, 13(4), 265-271.
- Ribeiro, M. B. (2009). A importância do edifício para o conforto e o controle ambientais nos museus. In *Actas do I Seminário de Investigação em Museologia dos Países de Língua Portuguesa e Espanhola*. Semedo, A., Nascimento, E. N. (Coords), Volume 1, pp. 402-413.
- Ribeiro, M. B. A Importância do edifício para o Conforto e o Controle Ambientais nos Museus. In: *Actas do I Seminário de Investigação em Museologia dos Países de Língua Portuguesa e Espanhola*, 1, 402-413.
- Riley, R. L. & O'Grady, F. (1961). *Airborne infection - Transmission and Control*. Macmillan.
- Ritter, M. A. & Morrell, J. J. (1990). Bridge Inspection for Decay and other Deterioration. In Ritter, M.A. (Ed.), *Timber Bridges: Design, Construction, Inspection and Maintenance* (pp.727 - 793). United States Department of Agriculture.
- Robertson, K. L., Mostaghim, A., Cuomo, C. A., Soto, C. M., Lebedev, N., Bailey, R. F., & Wang, Z. (2012). Adaptation of the black yeast *Wangiella dermatitidis* to ionizing radiation: molecular and cellular mechanisms. *PloS one*, 7(11), 1-18.

- Rorimer, J. J. (1931). Ultra-violet rays and their use in the examination of works of art. *The Metropolitan Museum of Art* (4a ed.), 4. Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15436314.1932.11467293>
- Rysstad, G., & Kolstad, J. (2006). Extended shelf life milk—advances in technology. *International journal of dairy technology*, 59(2), 85-96.
- Saarela, M., Alakomi, H. L., Suihko, M. L., Maunuksela, L., Raaska, L. & Mattila-Sandholm, T. (2004). Heterotrophic microorganisms in air and biofilm samples from Roman catacombs, with special emphasis on actinobacteria and fungi, *International Biodeterioration & Biodegradation* 54(1) 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2003.12.003>
- Saccoman, N. A. F., Teixeira, S. O., David, G. Q., Peres, W. M., & Yamashita, O. M. (2016). Levantamento de fungos ocorrentes em madeira serrada de jatobá extraída da Amazônia Meridional. *Revista de Ciências Agroambientais*, 14(2).
- Sáiz-Jiménez, C. (1995). Deposition of anthropogenic compounds on monuments and their effect on airborne microorganisms. *Aerobiologia*, 11(3), 161-175.
- Samson, R. A. & Frisvad, J. C. (2004). Penicillium subgenus Penicillium: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. In: *Studies in Mycology*, 49.
- Santos, A. B. (2011). *Identificação biológica e aplicação de biocidas na população microbiana que forma os biofilmes de alguns monumentos históricos da Bahia* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Arquitetura da Universidade Federal da Bahia]. Repositório da UFBA. <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/12004>
- Santos, A. F. (2016). *Filogeografia de Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae) *na região Neotropical* [Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, Brasil]. Repositório da UNESP. <http://hdl.handle.net/11449/136332>
- Santos, H. P. A. V. (2011). *Espectro de esporos de fungos alergisantes na atmosfera de Lisboa* [Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa]. Repositório da Universidade de Lisboa <http://hdl.handle.net/10400.5/4103>
- Santos, J. A. (2007). *Estudo de modelos e caracterização do comportamento mecânico da madeira* [Tese de Doutorado, Universidade do Minho]. Repositório da Uminho. <http://hdl.handle.net/1822/9696>
- Santos, J. A. (Coord.). (2015). *A riqueza das madeiras portuguesas: propriedades e fichas técnicas*. AIMMP.
- Sass, J. E. (1940) *Elements of Botanical Microtechnique*. McGraw Book Company.
- Sbeghen, A. (2001). *Potencialidades de utilização de óleos essenciais de plantas aromáticas para controle de Cryptotermes brevis*. [Dissertação de Mestrado, Universidade de Caxias do Sul].

SCHEER (2017, february-2). Opinion on Biological effects of UV-C radiation relevant to health with particular reference to UVC lamps. *Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks*.

Scheffer, T. C. (1973). Microbiological degradation and the causal organisms. In: Nicholas, D.D. (ed.), *Wood deterioration and Its prevention by preservative Treatment*, 1. Syracuse University Press.

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., & Chen, W. (2012). Fungal Barcoding Consortium Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(16).

Schultz, T. R., Mueller, U. G., Currie, C. R. & Rehner, S. A. (2005). Reciprocal illumination: a comparison of agriculture of humans and in fungus-growing ants. In Vega, F. & Blackwell, M. (ed.), *Insect-fungal association: ecology and Evolution*. Oxford University Press, p. 149-190.

Sedlbauer, K. (2001). *Prediction of mould fungus formation on the surface of/and inside building components*. [Doctoral thesis, University of Stuttgart. Fraunhofer Institute for building Physics]. Repositório da Universidade de Stuttgart. <http://publica.fraunhofer.de/documents/B-88618.html>

Seifert, K. A., Morgan-Jones, G., Gams, W., & Kendrick, B. (2011). The genera of hyphomycetes. *CBS Biodiversity Series*, 9.

Senanayake, I. C., Rathnayaka, A. R., Marasinghe, D. S., Calabon, M. S., Gentekaki, E., Lee, H. B., ... & Xiang, M. M. (2020). Morphological approaches in studying fungi: collection, examination, isolation, sporulation and preservation. *Mycosphere*, 11 (1), 2678–2754.

Siegel, S. & Castellan Jr., N. J. (2006). *Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento*. Tradução de Sara landa Correa Carmona. 2ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed.

Silva, A. L. (2017). *Potencial da radiação ultravioleta na inibição de fungos leveduriformes e filamentosos* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas]. Repositório da UFPEL. <http://guaiaca.ufpel.edu.br:8080/handle/prefix/4628>

Silva, C. A. S. (2000). *Avaliação da radiação ultravioleta no controle de microrganismos aderidos em filmes de polietileno de baixa densidade* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa]. LOCUS Repositório da UFV. <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/10731>

Silva, C. M. M. D. S., & Melo, I. S. D. (1999). Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria alternata*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(3), 499-503.

Silva, F. F. (2006). *Análise bayesiana do modelo auto-regressivo para dados em painel: aplicação na avaliação genética de touros da raça Nelore* [Tese (Doutorado em

Estatística e Experimentação Agropecuária -Universidade Federal de Lavras]. Repositório da UFLA <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/5037>

Silva, J. C. (2007). Madeira preservada e seus conceitos. *Revista da Madeira*, 103 Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Silva, J. D. C., & Oliveira, J. T. D. S. (2003). Avaliação das propriedades higroscópicas da madeira de *Eucalyptus saligna* Sm., em diferentes condições de umidade relativa do ar. *Revista Árvore*, 27(2) 233-239.

Silva, J. P. A. G. (2008). *Especificações de tratamentos de preservação para elementos de madeira* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia do Porto]. Repositório da FEUP. <http://hdl.handle.net/10216/60291>

Silva, L. C. S. L. (2013). *Avaliação do desempenho estrutural da tesoura de caibro armado e solução estrutural em aço para telhados coloniais* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto]. Repositório da UFOP <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/4245>

Singh, J. (2000). Fungal problems in historic buildings. *Journal of architectural conservation*, 6(1), 17-37. DOI: 10.1080/13556207.2000.10785259

Sola M.C., Oliveira A. P., Feistel J.C. & Rezende C.S.M. 2012. Manutenção de microrganismos: conservação e viabilidade. *Enciclopédia Biosfera*, 8(14), pp.1398-1418.

Sousa, H. S., Branco, J. M., & Lourenço, P. B. (2014). Da inspeção à avaliação de segurança na reabilitação de estruturas de madeira. *Seminário: Intervir em construções existentes* (pp. 57-70). Guimarães, Portugal.

Souza, F. M. C. (2007). *Decisões racionais em situações de incerteza*. Editora Universitária UFPE.

Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y., Wilson, C. L., Pusey, P. L., Kabwe, M. K., ... & Droby, S. (1998). The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. *Crop Protection*, 17(1), 75-84. Recuperado de DOI: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)80015-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)80015-X)

Szücs, C. A., Terezo, R. F., VALLE, A., & MORAES, P. D. D. (2006). *Estruturas de madeira*. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Departamento de Engenharia Civil.

Tampone, G. (1996). *Il restauro delle strutture di legno: il legname da costruzione, le strutture lignee e il loro studio, restauro, tecniche di esecuzione del restauro*. Hoepli Editore.

Teixeira, D. E., Costa, A. F., & Santana, M. A. E. (1997). Aglomerados de bagaço de cana-de-açúcar: resistência natural ao ataque de fungos apodrecedores. *Scientia Forestalis, Piracicaba*, 52, pp.29-34.

- Terao, D., Cartaxo, C. D. C., Konda, E., & dos Santos, S. R. (2019). Radiação ultravioleta C no controle de *Aspergillus flavus* Link e de outros contaminantes da castanha-do-brasil. *Embrapa Meio Ambiente-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)*.
- Thom, C. & Church, M. (1926). *The Aspergilli* (p. 147). The Williams & Wilkins Company.
- Thom, C. (1910). *Cultural studies of species of Penicillium* (Vol. 118, p.61). US Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry.
- Thomasson, G., Capizzi, J., Dost, F., Morrell, J. & Miller, D. (2015). *Wood Preservation and Wood Products Treatment Training Manual EM 840* (pp.3-4). Oregon State University, Extension Service.
- Töfoli, J. G., Domingues, R. J., & Ferrari, J. T. (2015). Alternaria spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. *O Biológico*, 77(1), 21-34.
- Tortora, G. J., Case, C. L., & Funke, B. R. (2016). *Microbiologia* (12a ed.). Artmed Editora.
- Tseng, C. C., & Li, C. S. (2007). Inactivation of viruses on surfaces by ultraviolet germicidal irradiation. *Journal of occupational and environmental hygiene*, 4(6), pp. 400-405.
- Tsoumis, G. (2009). *Science and Technology of wood: structure, properties, utilization*. Verlag Kessel.
- Valero, A., Begum, M., Leong, S. L., Hocking, A. D., Ramos, A. J., Sanchis, V., & Marin, S. (2007). Effect of germicidal UVC light on fungi isolated from grapes and raisins. *Letters in applied microbiology*, 45(3), 238-243.
- Vasconcellos, S. (1979). *Arquitetura no Brasil: sistemas construtivos*. Rona Editora. Recuperado de https://www.academia.edu/38925822/Arquitetura_no_Brasil_Sistemas_Construtivos_Sylvio_de_Vasconcellos__
- Vianna Neto, J. A. A. & Milano, S. (1984). *Considerações sobre a mancha azul e Bolor em madeiras de Pinus spp.* IPT.
- Viitanen, H., Vinha, J., Salminen, K., Ojanen, T., Peuhkuri, R., Paajanen, L., & Lähdesmäki, K. (2010). Moisture and bio-deterioration risk of building materials and structures. *Journal of Building Physics*, 33(3), 201-224.
- Walker, C. A., Gómez, B. L., Mora-Montes, H. M., Mackenzie, K. S., Munro, C. A., Brown, A. J., ... & Odds, F. C. (2010). Melanin externalization in *Candida albicans* depends on cell wall chitin structures. *Eukaryotic cell*, 9(9), 1329-1342.
- Warda, J., Frey, F., Heller, D., Kushel, D., Vitale, T. & Weaver, G. (2011). Ultraviolet photography. In Jeffery Warda (Ed.) *AIC Guide to Digital Photography and Conservation Documentation* (2nd ed.). American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works.
- Weather Spark (2018). *Condições meteorológicas médias de Salvador*. Recuperado em 25 maio de 2018 de <https://pt.weatherspark.com/y/31054/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Salvador-Brasil-durante-o-ano>

- Wernegreen, J. J. (2004). Endosymbiosis: lessons in conflict resolution. *PLoS biology*, 2(3), e68. Recuperado de DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020068>
- Westling, R. (1911). Über die grünen Spezies der Gattung *Penicillium*. *Arkiv för Botanik*, 11(1), p. 131.
- Whittaker, R. J., & Fernández-Palacios, J. M. (2007). *Island biogeography: ecology, evolution, and conservation*. Oxford University Press.
- WHO (2011). Technical Report Series, No. 961. Annex 2. WHO Guidelines for Good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. *World Health Organization*.
- Willhoft, E. M. A. (1993). *Aseptic processing and packaging of particulate foods* (pp. 23-38). Blackie Academic & Professional.
- Wood, T. G., Johnson, R. A., Bacchus, S., Shittu, M. E., & Anderson, J. M. (1982). Abundance and distribution of termites (Isoptera) in a riparian forest in the southern Guinea savanna vegetation zone of Nigeria. *Biotropica*, 14(1), pp. 25-39.
- World Health Organization. (2002). Reducing risks, promoting healthy life. *World health report 2002*.
- Wraight, S. P., Inglis, G. D. & Goettel, M. S. (2007). Fungi. In: Lacey, L.A. & Kaya, H.K. (Eds.) *Field manual of techniques in invertebrate pathology* (2a ed., pp. 223-248). Springer.
- Xavier, M. O., Madrid, I. M., Cleff, M. B., Cabana, Â. L., Silva Filho, R. P. & Meireles, M. C. A. (2008). Contaminação do ar por *Aspergillus* em ambiente de reabilitação de animais marinhos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 45(3), pp. 174-179.
- Xu, P., Peccia, J., Fabian, P., Martyny, J. W., Fennelly, K. P., Hernandez, M., & Miller, S. L. (2003). Efficacy of ultraviolet germicidal irradiation of upper-room air in inactivating airborne bacterial spores and mycobacteria in full-scale studies. *Atmospheric Environment*, 37(3), 405-419.
- Zabel, R. A. & Morrell, J. J. (2020). Factors affecting the growth and survival of fungi in wood (fungal ecology). In: *Wood Microbiology: decay and its prevention* (2nd ed., pp. 99-128). Elsevier Academic Press.

Apêndice 1 - Memória de cálculo: Dose de radiação UV-C

Dadas as informações sobre a montagem:

- Potência irradiada, $P = 2.4 \text{ W}$;
- Comprimento da lâmpada, $L = 28.33 \text{ cm}$;
- Distância entre as lâmpadas, $d = 1.5 \text{ cm}$;
- Distância para a amostra, $r = 14 \text{ cm}$;
- Área da amostra, $A = 4 \text{ cm}^2$;



Se considerarmos cada lâmpada como a soma de diversas lâmpadas de comprimento infinitesimal dx , podemos calcular a dose emitidas por cada uma dessas para então obter a dose total.

Inicialmente, obtemos a distância de cada segmento infinitesimal. Para a lâmpada central (P_2), essa distância será dada por

$$l = \sqrt{r^2 + x^2}, \quad (1)$$

enquanto que para as lâmpadas externas (P_1 e P_3) a distância será dada por

$$l = \sqrt{r^2 + d^2 + x^2}. \quad (2)$$

Considerando que a potência emitida pela lâmpada é homogeneamente distribuída por toda ela, a emissão de cada segmento infinitesimal será $P_1 = P dx/L$. Considerando também que a emissão é isotrópica, uma amostra de área A a uma distância l receberá somente $A/(4\pi l^2)$ da dose emitida. Logo,

$$P_{\text{total}} = P_1 + P_2 + P_3, \quad (3)$$

$$P_2 = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi l^2} \frac{dx}{L} = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi (x^2 + r^2)} \frac{dx}{L} = \frac{PA}{2\pi Lr} \arctan\left(\frac{L}{2r}\right) \quad (4)$$

$$P_1 = P_3 = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi l^2} \frac{dx}{L} = \int_{-L/2}^{L/2} P \frac{A}{4\pi (x^2 + r^2 + d^2)} \frac{dx}{L} = \frac{PA}{2\pi L \sqrt{r^2 + d^2}} \arctan\left(\frac{L}{2\sqrt{r^2 + d^2}}\right) \quad (5)$$

Substituindo os valores:

$$P_2 = \frac{2.4 \times 4}{2\pi (28.33 \times 14)} \arctan\left(\frac{28.33}{2 \times 14}\right) \text{ W} = 0.00305 \text{ W}, \quad (6)$$

$$P_1 = P_3 = \frac{2.4 \times 4}{2\pi (28.33 \times \sqrt{14^2 + 1.5^2})} \arctan\left(\frac{28.33}{2 \times \sqrt{14^2 + 1.5^2}}\right) \text{ W} = 0.00303 \text{ W}, \quad (7)$$

$$P_{\text{total}} = P_1 + P_2 + P_3 = (0.00303 + 0.00305 + 0.00303) \text{ W} = 9.11 \text{ mW}. \quad (8)$$

Em 1 minuto, a energia depositada será

$$E = Pt = 9.11 \times 60 \text{ mJ} = 546.6 \text{ mJ}. \quad (9)$$

Logo, a dose em um minuto será $0.13665 \text{ J/cm}^2 = 1366.5 \text{ J/m}^2$.

Podemos refazer a conta de uma forma mais aproximada, o que resultará num resultado mais conservador, isto é, uma dose de UV ligeiramente maior. Para isso não consideramos as lâmpadas como objetos com comprimento e sim como objetos pontuais.

Aqui consideramos também que a emissão é isotrópica (igual em todas as direções). A radiação é emitida em todas as direções e a uma distância r cobre uma área $4\pi r^2$ (esfera de raio r). Logo, a radiação que chega na área A é simplesmente proporcional a $A/(4\pi r^2)$.

Portanto,

$$P = P_1 + P_2 + P_3 = P \left(\frac{A}{4\pi r_1^2} + \frac{A}{4\pi r_2^2} + \frac{A}{4\pi r_3^2} \right) = \frac{2.4 \times 4}{4\pi} \times \left(\frac{1}{14^2 + 1.5^2} + \frac{1}{14^2} + \frac{1}{14^2 + 1.5^2} \right) \text{ W} = 11.61 \text{ mW}, \quad (10)$$

e, com isso, após 1 minuto, teremos







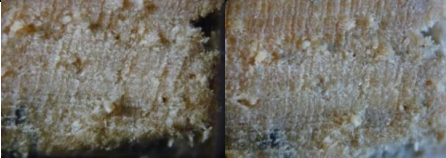
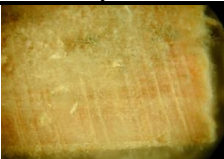

$$E = Pt = 11.61 \times 60 \text{ J} = 696.63 \text{ mJ}. \quad (11)$$










Finalmente, a dose de UV em 1 minuto será $0.17416 \text{ J/cm}^2 = 1741.6 \text{ J/m}^2$. Nesse caso a dose é







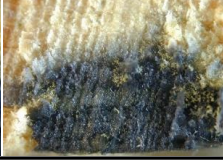


2








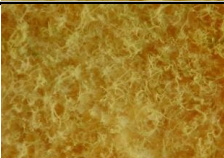



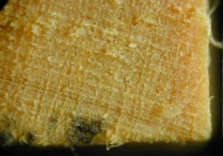

27.44% maior, o que é a uma estimativa mais conservadora. ("É melhor errar para cima")










Apêndice 2 - Tabelas de imagens obtidas durante os ensaios com radiação UV-C



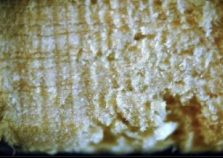





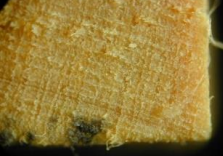
| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo / SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 4 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 7 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |






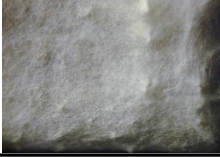


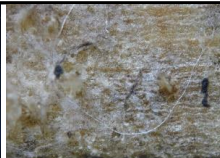
| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 2 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA 5 | 2 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |
| UA 8 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |


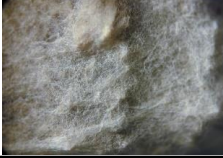







| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo / SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 3 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 6 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 9 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |


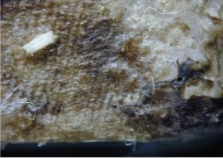
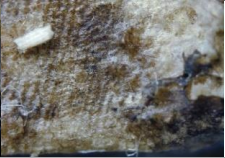




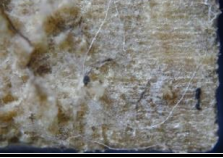

| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |









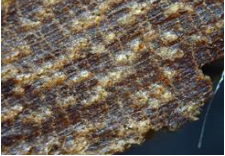
| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |





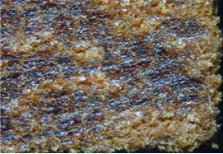



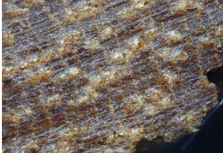
| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |








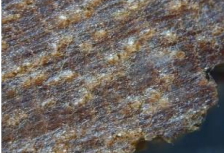
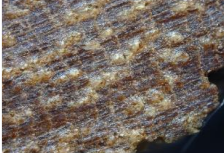
| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |






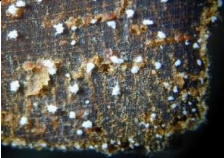


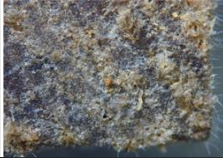
| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |





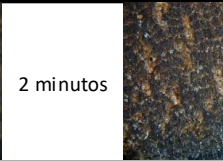


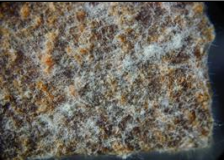

| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |



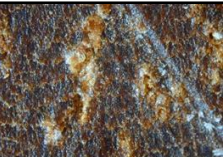
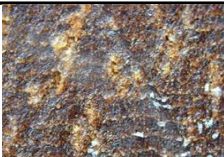

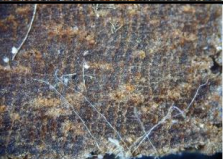







| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |

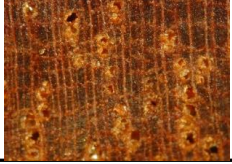

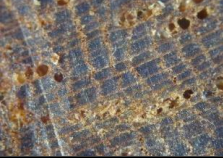
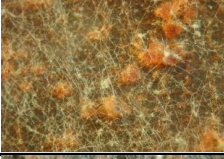



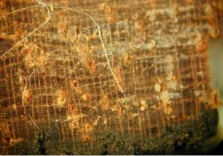

| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |


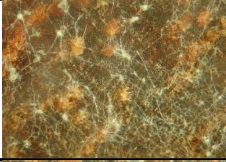


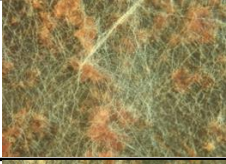


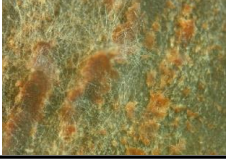


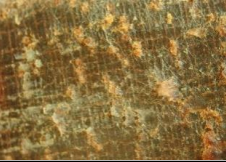


| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |

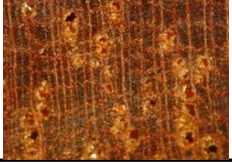

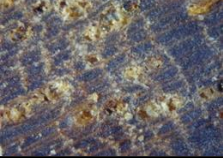




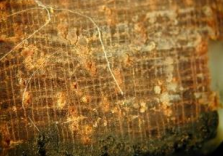
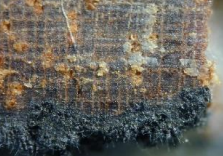
| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B' - 1º Ensaio SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |










| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |





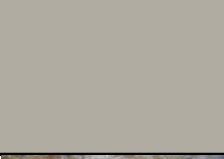








| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |










| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B' - 1º Ensaio SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |










| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |



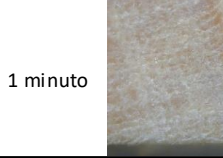

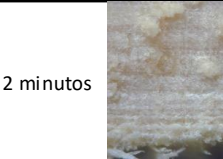




| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B' - 1º Ensaio IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UAs após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |



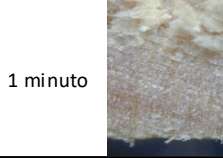

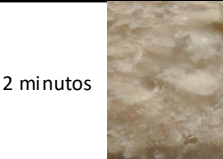

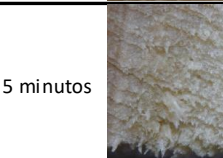


| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |










| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |



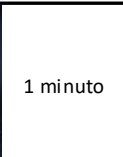

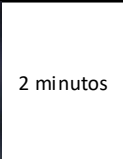

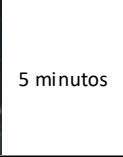


| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |






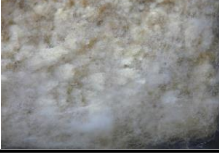



| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |

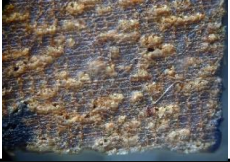












| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) | |



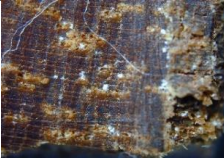


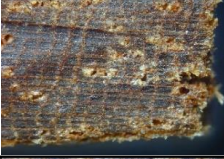







| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |










| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |



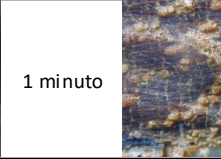



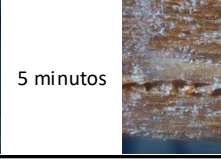
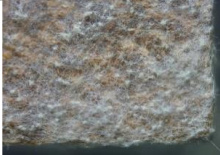
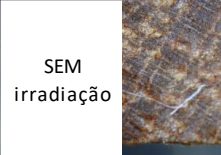
| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |










| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (29,4%) | |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) | |


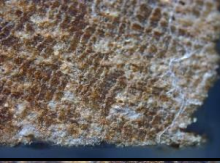



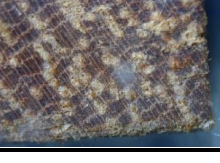



| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) | |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) | |







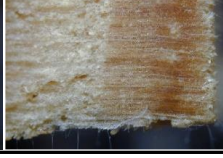


| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |



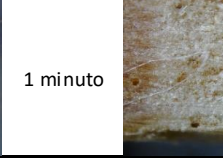



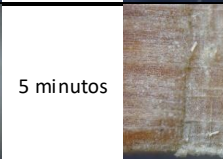


| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |










| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |










| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |










| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B'' DUPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) | |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) | |










| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |














| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |



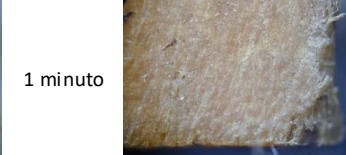






| PORTO <i>Aspergillus fumigatus</i> - F1P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |

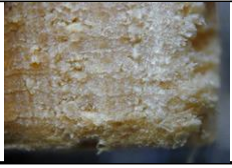

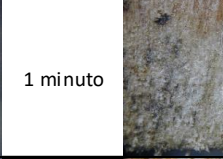

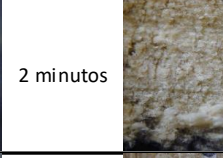

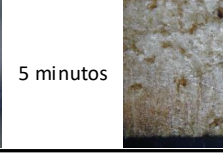

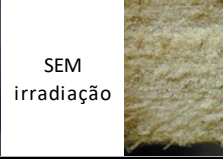
| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |





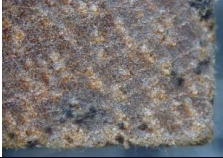








| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |

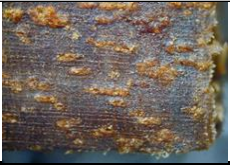
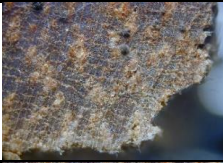

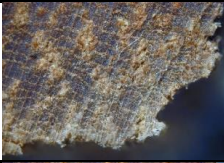

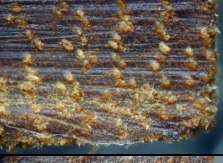
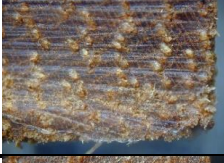


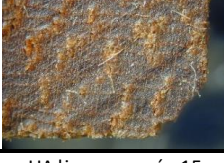



| PORTO <i>Penicillium glabrum</i> - F2P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |

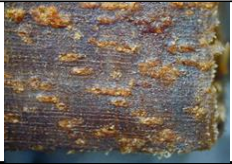







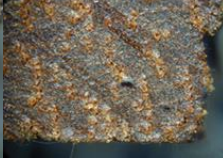
| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |


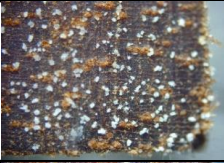
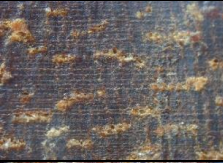










| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |


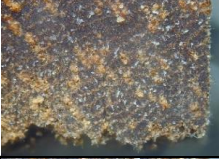
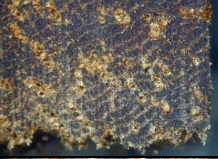










| PORTO <i>Alternaria alternata</i> - F3P''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|---|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfícies Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |



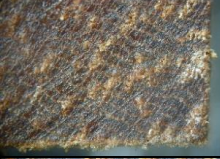










| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |





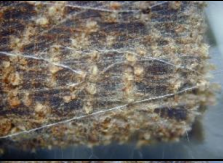




| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) | |













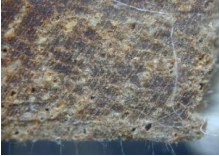
| SALVADOR <i>Chaetomium globosum</i> - F1B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |


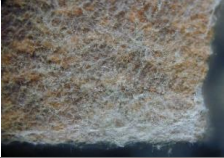





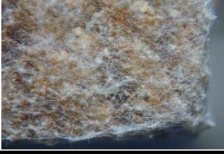





| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (1000%) |

| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |

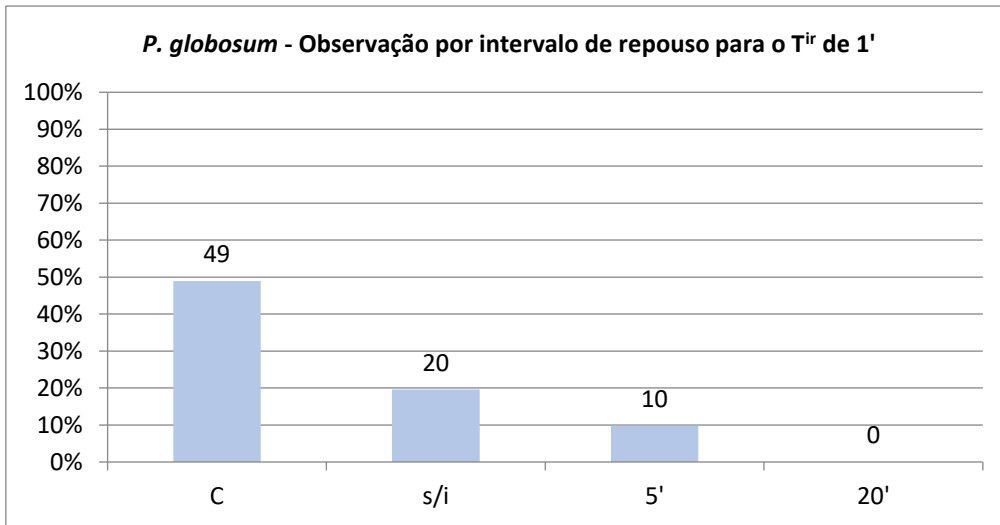
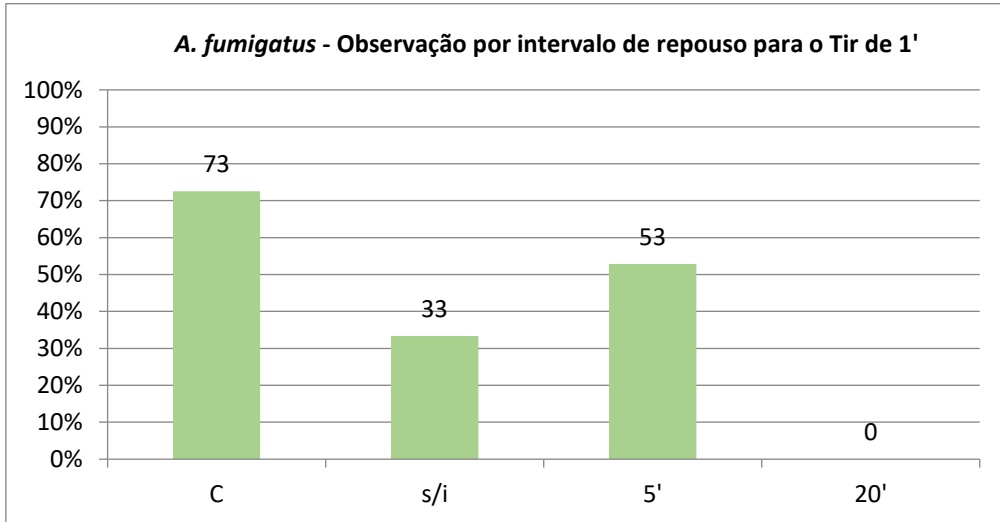
| SALVADOR <i>Penicillium citrinum</i> - F2B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Ausência superfícies Lateral (0%) | |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação | |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) | |

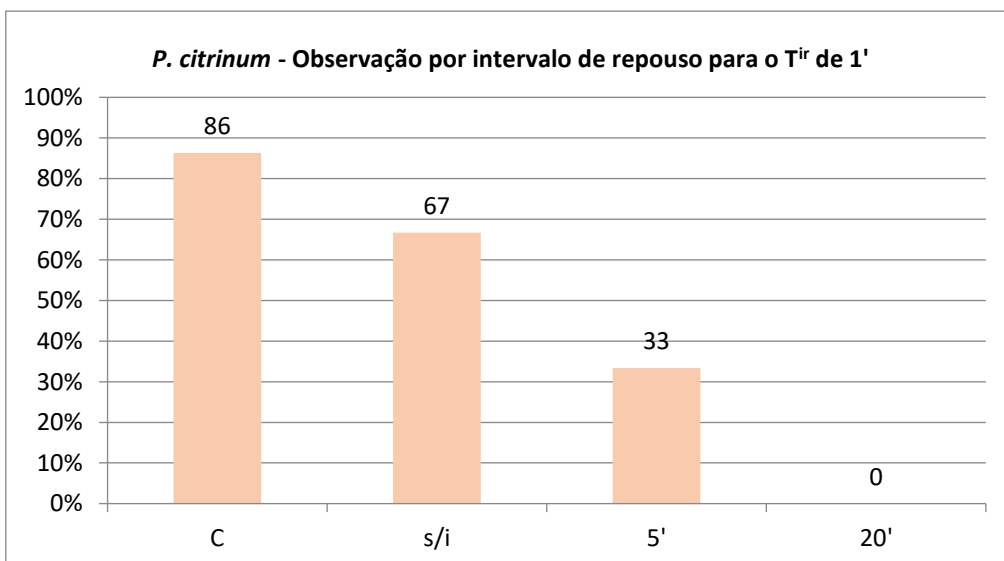
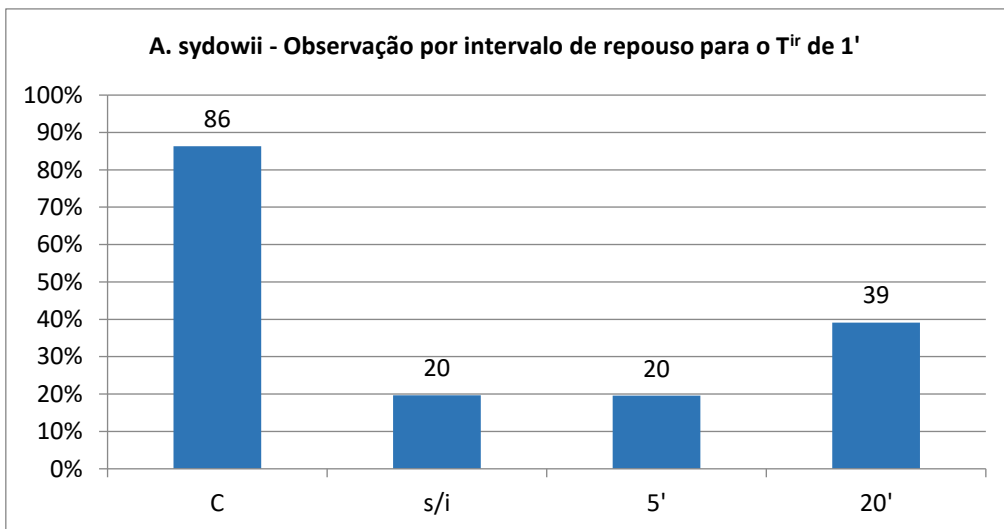
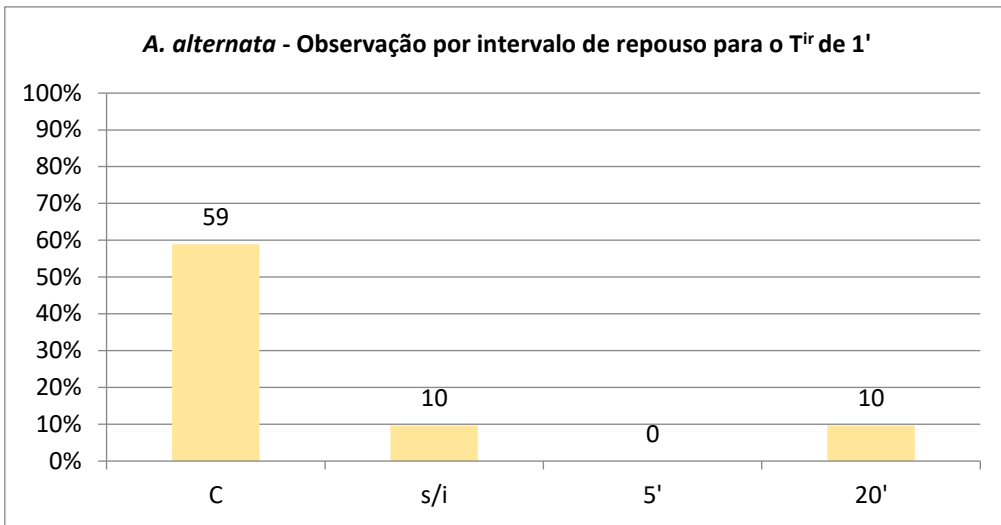
| SB3:G11ALVADOR Aspergillus sydowii - F3B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO SEM INTERVALO | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|------------------------|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 | 1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 2 | 2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 | 5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) | SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |

| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 5min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|---|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |

| SALVADOR <i>Aspergillus sydowii</i> - F3B''' TRIPLICATA IRRADIAÇÃO COM INTERVALO DE 20min | | Controlo (C-) SEM fungo/SEM irradiação | |  |
|--|---|---|--|---|
| UAs infectadas e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa e irradiada | UA limpa e irradiada após 15 dias | Taxa de contaminação |
| UA 1 |  1 minuto |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 2 |  2 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA 3 |  5 minutos |  |  | Ausência superfície Plana + Presença superfície Lateral (58,7%) |
| UA infectada e após 7 meses SEM irradiação | Tempo de irradiação | UA limpa | UA limpa e após 15 dias | Taxa de contaminação |
| Controlo (C+) |  SEM irradiação |  |  | Presença superfície Plana + Presença superfícies Lateral (100%) |

Apêndice 3 - Gráficos gerados pela estatística descritiva dos Irep para o T^{ir} de 1 minuto em relação a todos os fungos analisados.





Apêndice 4: Tabelas de resultados da estatística inferencial da amostra total para as avaliações dos I^{rep} referentes aos T^{ir} de 2 e 5 minutos dos fungos de Porto e de Salvador.

I^{rep} para o tempo de 2 minutos para os fungos do Porto

Tabela. Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 2' para os fungos de Porto.

| Irep | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo | p-valor* |
|---------------|--------------------|---------------|--------|---------|--------|--------------|
| Controlo | 60.01 ^a | 17,84 | 29,40 | 58,70 | 100,00 | 0,000 |
| Sem intervalo | 6.52 ^b | 19,57 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 9.79 ^b | 20,76 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 20' | 13.11 ^b | 26,02 | 0,00 | 0,00 | 59,00 | |

*Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. ^{a, b, ab} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

I^{rep} para o tempo de 2 minutos para os fungos de Salvador

Tabela. Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 2' para os fungos de Salvador.

| Irep | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo | p-valor* |
|---------------|--------------------|---------------|--------|---------|--------|--------------|
| Controlo | 86.33 ^a | 21,17 | 59,00 | 100,00 | 100,00 | 0,002 |
| Sem intervalo | 19.57 ^b | 30,31 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 9.78 ^b | 23,96 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 20' | 19.62 ^b | 30,39 | 0,00 | 0,00 | 59,00 | |

*Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. ^{a, b, ab} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

I^{rep} para o tempo de 5 minutos para os fungos de Porto

Tabela. Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 5' para os fungos de Porto.

| Irep | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo | p-valor* |
|---------------|---------------------|---------------|--------|---------|--------|--------------|
| Controlo | 60.01 ^a | 17,84 | 29,40 | 58,70 | 100,00 | 0,001 |
| Sem intervalo | 6.52 ^b | 19,57 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | |
| 5' | 17.63 ^b | 36,48 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |
| 20' | 26.13 ^{ab} | 27,28 | 0,00 | 29,40 | 59,00 | |

*Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. ^{a, b, ab} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.

I^{rep} para o tempo de 5 minutos para os fungos de Salvador

Tabela. Caracterização da amostra total segundo o I^{rep} entre as irradiações de 5' para os fungos de Salvador.

| Irep | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo | p-valor* |
|----------------------|--------------------|---------------|--------|---------|--------|--------------|
| Controlo | 86.33 ^a | 21,17 | 59,00 | 100,00 | 100,00 | |
| Sem intervalo | 19.57 ^b | 30,31 | 0,00 | 0,00 | 58,70 | 0,004 |
| 5' | 9.83 ^b | 24,09 | 0,00 | 0,00 | 59,00 | |
| 20' | 26.45 ^b | 43,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | |

*Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. ^{a, b, ab} Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os grupos.