

74654 - AVALIAÇÃO DO REVESTIMENTO E DA NÉVOA ÁCIDA NA BIODETERIORAÇÃO DE CORPOS DE PROVA DE ARGAMASSA

*Diogo Simas Bernardes Dias¹, Lizeth Yuliana Acevedo Jaramillo², Douglas Guedes
Ferreira², Ulrich Vasconcelos³, Thiago Gonçalves Cavalcanti⁴, Cristiana Cravo-
Laureau⁵, Márcia Teresa Soares Lutterbach⁶, Eliana Flávia Camporese Sérvulo⁷*

¹Doutor, TPQB/UFRJ

²Doutorando, TPQB/UFRJ

³Professor Doutor do DB/CBIOTEC/UFPB

⁴Graduando em Biotecnologia UFPB

⁵ Professora Doutora, Environment et Microbiologie/UPPA (França)

⁵Doutora, pesquisadora/INT

⁶Professora Doutora DEB/EQ/UFRJ

RESUMO: O homem vem construindo templos, esculpindo estátuas e monumentos, de diversos estilos arquitetônicos, com intuito de passar para futuras gerações sua crença e cultura. Ao longo dos últimos anos a ciência vem reafirmando a necessidade de preservação e prevenção dos monumentos históricos. O presente trabalho tem por objetivo investigar a atuação de um consórcio microbiano isolado da parede do Museu Nacional do Rio de Janeiro, sobre o processo de biodeterioração de corpos de prova, com a avaliação do uso de revestimento e da névoa ácida. Para tanto o trabalho caracteriza os corpos de prova por Fluorescência de Raio-X (FRX), realiza coletas de imagens, por exemplo por estereomicroscopia, bem como conduz a enumeração de microrganismos. O emprego de tinta diminuiu a diversidade e a quantidade de microrganismos. A presença de poluentes auxilia no desenvolvimento microbiano bem como na deterioração dos corpos de prova, sendo o melhor crescimento o das bactérias heterotróficas totais, com valor de aproximadamente 10^7 UFC/cm².

Palavras-chave: Biofilmes; Biodegradação ambiental; Biodiversidade.

EVALUATION OF COATING AND ACID MIST IN THE BIODETERIORATION OF CEMENT

ABSTRACT: Humankind has been building temples, sculpting statues and monuments, of various architectural styles, in order to pass its beliefs and culture to future generations. Over the last few years, science has been reaffirming the need for preservation and prevention of historical monuments. The aim of this work was to investigate the performance of a microbial consortium isolated from the wall of the National Museum of Rio de Janeiro, on the biodeterioration process of test specimens, with the evaluation of the coating and the acid mist. For this, the work characterizes the specimens by X-Ray Fluorescence (FRX), collects images, for example by stereomicroscopy, as well as leads to the enumeration of microorganisms. The use of paint decreased the diversity and quantity of microorganisms. The presence of pollutants assists in the development of microorganisms as well as in the deterioration of the specimens, with the best growth being the total heterotrophic bacteria, with a value of approximately 10^7 CFU/cm².

Keys-word: Biofilms; Environmental biodegradation; Biodiversity.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo de sua história, o homem vem construindo templos e esculpindo estátuas e monumentos, de diversos estilos arquitetônicos, motivados em princípios religiosos, preservação da crença e de sua cultura, inclusive para se impor como forma de poder. A civilização moderna, além de continuar a veneração a seus deuses, santos e mortos, encontra no turismo, um potencial de desenvolvimento econômico, como uma segunda motivação para a conservação, recuperação e criação de monumentos (1).

Os monumentos são compostos por diferentes materiais, de natureza orgânica ou inorgânica, tais como pinturas, metais, vidro, mármore, argamassas, concreto e rochas, quando expostos ao ar livre, estão sujeitos ao processo de desgaste natural, em razão da interação dos diferentes determinantes, tais como, chuva, vento, salinidade, poluição atmosférica e o desenvolvimento de microrganismos. Em consequência, esse processo promove alterações de diferentes naturezas, especialmente nas superfícies desses materiais, resultando, por exemplo, a formação de crostas, a perda de material e as

alterações na coloração, que envolvem ações que produzem custos elevados, além das questões relacionadas ao valor histórico e cultural (2-5).

A deterioração causada por microrganismos, ou biodeterioração, vem sendo estudada em monumentos históricos, obras de arte e estátuas. Em uma clássica revisão sistemática publicada no início da década de 90, fica evidente a preocupação em torno da tentativa de proteção e perpetuação do legado histórico para futuras gerações, quando foram identificados mais de 500 artigos científicos tratando de questões envolvendo agentes promotores do processo de corrosão, participação da poluição atmosférica no processo, indicadores microbiológicos, biocidas, conservação, biorremediação e biofilmes, embora até os dias atuais, algumas dessas abordagens ainda não possuam informações suficientemente concisas (6).

Ao longo dos últimos anos, muitos outros estudos foram publicados, visando entender o mecanismo de biodeterioração, reafirmando a necessidade de preservação e a valorização de obras artísticas como patrimônio e identidade cultural, sobre a óptica da ciência. Em geral, os objetivos desses estudos foram semelhantes, prevenção e preservação, bem como o entendimento do fenômeno. Porém cada caso investigado configura uma matéria em particular, em função das características próprias, isto é, composição, localização, idade, tempo de exposição, grau de deterioração e estimativa do valor histórico-cultural e afetivo da obra, dentre outros fatores.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar a atuação de um consórcio microbiano isolado da parede do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MN), sobre o processo de deterioração de corpos de prova confeccionados com material semelhante ao da parede, em ambiente climatizado, investigando a interferência de condições atmosféricas do Rio de Janeiro, na presença e ausência de revestimento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Matriz do experimento

Foi construído para este estudo um sistema experimental composto de um reator de vidro de 60 cm de largura x 30 cm de profundidade x 40 cm de altura, dividido em 5 compartimentos, com tampa, dotada da parte superior de um sistema de iluminação artificial com dois reatores de duas lâmpadas fluorescentes de 60W, um higrômetro (Incoterm) e um umidificador (Multitoc Health) utilizado durante 30 minutos por dia para umidificar o sistema. Durante os testes (Tabela 1) foram monitorados a temperatura ($28^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$) e umidade (30-50%). O tempo total da simulação foi de 100 dias, sendo

realizadas análises de quantificação celular das culturas adicionadas aos corpos de prova e dos microrganismos desenvolvidos ao final do processo de biodeterioração.

Os corpos de prova confeccionados em paralelepípedos de 4 cm de comprimento x 2 cm de largura x 1 cm de altura, com mistura de areia/cimento/barro e água, numa relação de 20/30/5/13, baseado na caracterização por análises de FRX do material proveniente da parede do MN.

Tabela 1. Estudo da avaliação da formação de biofilmes sob os corpos de prova.

Condição	Microrganismo	Revestimento	Névoa
1	Ausente	Ausente	Água destilada
2	Ausente	Presente	Água destilada
3	Ausente	Ausente	Ácida
4	Ausente	Presente	Ácida
5	Presente	Ausente	Água destilada
6	Presente	Presente	Água destilada
7	Presente	Ausente	Ácida
8	Presente	Presente	Ácida

Simultaneamente, foram ensaiados corpos de prova não revestidos e revestidos com tinta (Coral-premium) para observação da formação do biofilme à superfície. A névoa ácida simulou aquela encontrada na cidade do Rio de Janeiro: NaNO_3 (1607 $\mu\text{g/L}$); $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5281 $\mu\text{g/L}$); K_2SO_4 (1570 $\mu\text{g/L}$); $(\text{NH}_4)\text{Cl}$ (1118 $\mu\text{g/L}$); NaCl (3680 $\mu\text{g/L}$); NaOH (212 $\mu\text{g/L}$); pH (5,12) (7) e o controle com névoa de água destilada.

Coleta, cultivos de microrganismos e meios de cultura

A coleta do material de superfície do Museu Nacional do Rio de Janeiro foi realizada mediante raspagem, com bisturi estéril (Medbisturi 23) em 5 diferentes pontos de uma parede, com área por ponto de 4 cm^2 , adicionada em um frasco de penicilina de 50 mL de solução redutora (8,5 g/L de NaCl). O consórcio microbiano foi composto a partir da mistura de grupos-chaves, isolados em meios de cultivo específicos (8): bactérias heterotróficas aeróbias (caldo nutriente - 10^{10} UFC/mL), heterotróficas anaeróbias (meio tioglicolato - 10^8 Cels/mL), ferrobactérias (caldo citrato férrico amoniacal - 10^8 UFC/mL), fungos (caldo sabouraud - 10^6 UFC/mL) e microrganismos fotossintetizantes (caldo difco - 10^5 Cels/mL). Posteriormente, os isolados foram incubados separadamente e após misturados para compor um volume final de 2 mL de

suspensão celular a ser transferidas para a superfície dos corpos de prova. A suspensão celular foi mantida sob refrigeração e usada por mais duas vezes no $t=7$ e $t=14$ dias de experimento.

Quantificação em meios de cultura

Ao final do experimento foi realizada a raspagem dos corpos de provas em solução redutora para quantificação dos grupos microbianos. As amostras foram misturadas em vortex durante aproximadamente 3 minutos, difundindo o material, tornando a solução redutora mais turva e homogênea. Foi realizada a diluição em série aplicando a técnica Spread Plate para Fungos (Agar Sabouraud), Bactérias aeróbias heterotróficas totais (Agar Nutriente) e Ferrobactérias (Agar citrato amoniacal), e Número Mais Provável (NMP) para Bactérias Anaeróbias heterotróficas totais e microrganismos fotossintetizantes (Difco). Os meios foram mantidos de 3 a 28 dias de incubação, sendo as algas sob luz constante (8).

Detecção da biodeterioração

Para a caracterização da superfície foi realizada a captação de imagens com câmera (Nikon) e a microscopia ótica foi feita com auxílio de estereomicroscópio (Opton).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de FRX

A Tabela 2 apresenta a caracterização da composição do corpo sintético próxima com as amostras do MN, expressos em percentual (%). Houve variação quanto a perda por calcinação, 13,4% e 12,1% nos pontos 1 e 2 das paredes, respectivamente, enquanto a perda do CP foi de 6,2%. Isto se deve a presença de matéria orgânica na tinta usada no recobrimento da parede e microrganismos aderidos, resíduos de plantas, partículas de solo e outros materiais presentes nos biofilmes, trazidos pelo vento e pela chuva, inclusive polissacarídeos produzidos pelo metabolismo microbiano que dão origem a matriz do próprio biofilme.

Tabela 2. Caracterização por FRX do corpo de prova e de duas paredes do Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Id	MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	K ₂ O	CaO	Fe ₂ O ₃	*PPC
P1	0,45	3,85	60,8	0,72	17,6	0,58	13,4
P2	0,56	4,2	60,4	0,77	18,8	0,57	12,1
CP	1,9	11,2	53,6	1,2	21,5	1,6	6,2

Id. Identificação; P1. Parede 1 do Museu Nacional; P2. Parede 2 do Museu Nacional; CP. Corpo de prova; PPC - Perda Por Calcinação; Foram determinados os seguintes componentes com baixa variação: Na₂ (0-0,5%); P₂O₅ (0,06-0,43%); SO₃ (1,3-1,7%); TiO₂ (0,14-0,37%).

Elementos como Ca, K, Mg, Zn, S, Mn, Na e Fe contribuem para o desenvolvimento de microrganismos, e a grande maioria desses elementos existem em superfície de monumentos históricos (9). Os microrganismos se desenvolvem naturalmente sobre os monumentos históricos, formando comunidades complexas (biofilmes), pelas quais são estabelecidas interações tanto sinérgicas quanto antagônicas entre as espécies de diferentes grupos microbianos envolvidos (10).

Biodeterioração dos corpos de prova

A Figura 1 apresenta as imagens dos corpos de prova nas condições ensaiadas. Na primeira coluna de imagens são apresentados os CPs, com e sem revestimento, logo antes de iniciados os experimentos. Na segunda coluna, têm-se os CPs decorridos 100 dias, na ausência de microrganismos, enquanto na terceira foram compiladas as imagens dos CPs inicialmente inoculados. Por fim, a quarta coluna compreende os corpos de prova da terceira coluna após efetuar a raspagem das suas superfícies para remoção dos biofilmes sobre elas formados.

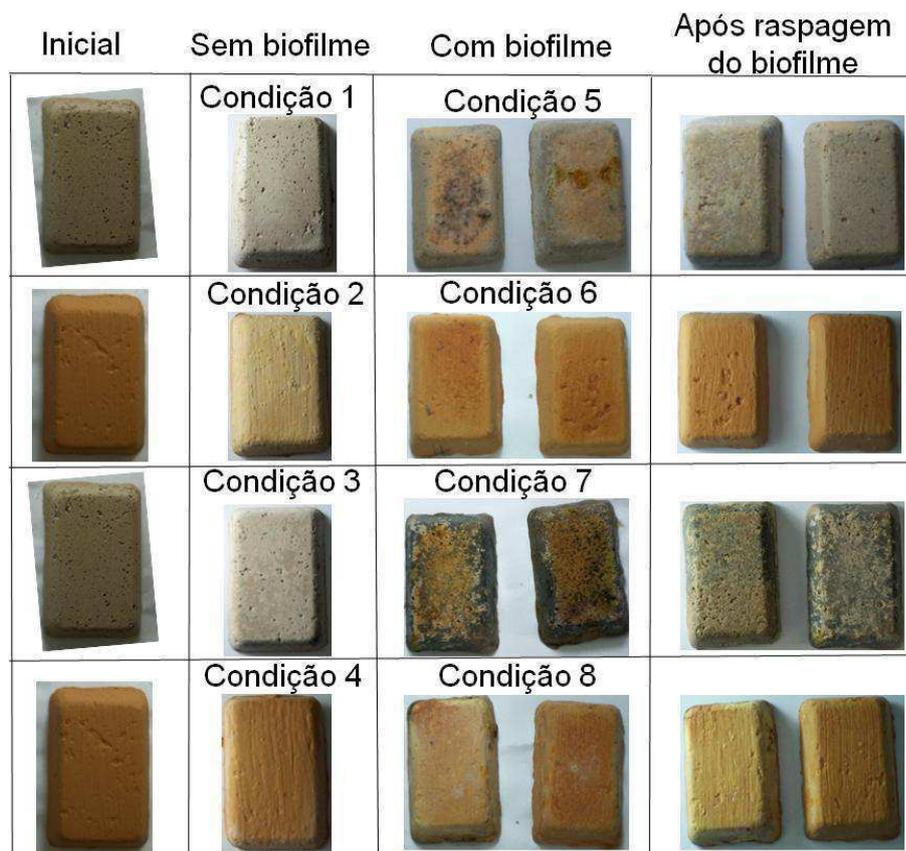


Figura 1. Fotografias dos corpos de prova em fase inicial, nas condições estudadas e após raspagem para quantificação.

Nos CPs sem atuação de microrganismos (condições 1, 2, 3 e 4) ocorreu maior alteração da cor nos que continham revestimento (condições 2 e 4). A descoloração pode ser causada pela umidade, e pode ser tão ou mais intensa quanto maior contato com água. Adicionalmente, a presença de solutos reforça a ação da umidade, ou seja, a presença desses solutos interfere nas trocas com o ambiente favorecendo uma maior umidade sobre a superfície (11).

A literatura reporta testes qualitativos com corpos de prova, com e sem biocida com o intuito de avaliar a descoloração do material, atribuindo-se pontuação de 0 a 5, segundo a seguinte classificação: 0 - quando não havia nenhuma modificação, 1 - menos de 10%, 2 - de 10 a 30%, 3 - de 30 a 60%, 4 - de 60 a 80% e 5 - de 80 a 100% de alteração da cor em relação ao material original. Como conclusão os autores verificaram que em todos os casos ocorreu alteração da cor dos CPs, em especial escurecimento. Na presença do biocida, o efeito foi classificado como 2. Adicionalmente, eles observaram que o desenvolvimento dos biofilmes ocorreu de forma não homogênea (12).

Observou-se nos CPs com biofilme, a presença de substâncias oriundas do crescimento microbiano. Nos CPs revestidos com tinta, um precipitado marrom foi detectado em razão da metabolização de ferrobactérias. Em materiais compostos de dolomita e calcário, os microrganismos foram a principal causa da deterioração (13). A atividade dos microrganismos sobre os materiais teve piores consequências em comparação com a ação da água, o que resultou em aumento da porosidade do material, com diminuição da sua resistência e provocando seu esfarelamento.

Em alguns casos, a colonização microbiana resulta em lixiviação dos minerais. A carbonatação auxilia na deterioração de materiais à base de cimento. Por isso, os materiais a base de cimento quando expostos a fatores ambientais, tais como umidade, chuva ácida, e neve, entre outros, estão mais sujeitos à lixiviação (14).

Os CPs sem revestimento expostos à névoa (condição 5) apresentaram aspectos diferenciados em sua área, abrangendo partes mais e menos ressecadas, e diferentes colorações, variando de amarelo mostarda a roxo. Após a raspagem do biofilme, os CPs perderam grande parte da pigmentação, retornando a cor original cinza. Quando CPs/tinta foram mantidos sob névoa (condição 6) aparentemente apresentaram poucas alterações.

As superfícies dos CPs sem revestimento e expostos a deposição ácida apresentaram coloração verde (condição 7). Provavelmente, decorrente do desenvolvimento de microrganismos fotossintetizantes. Nota-se ainda que grande parte do material apresenta coloração alaranjada, possivelmente relacionada à atividade de ferrobactérias. Após a raspagem dos biofilmes, esses CPs foram os que mais apresentavam alterações visuais, com inúmeras manchas por toda a superfície.

Quando CPs/tinta foram expostos a névoa ácida (condição 8), partes das suas superfícies se tornaram esbranquiçadas, o que remete ao crescimento de micélio fúngico. Após remoção do biofilme, foi constatada a alteração de cor da tinta para amarelo forte, bem diferente dos CPs expostos à névoa. Tal fato ratifica que a névoa ácida causa mais danos ao material do que exclusivamente a umidade decorrente da névoa.

Dados da literatura sobre a avaliação do aspecto visual de amostras de diversos materiais expostos a condições atmosféricas distintas (rural, industrial e urbana) indicam que as amostras da zona rural apresentaram poucos pontos de deterioração. Os demais corpos de prova apresentaram uma superfície coberta por produtos de corrosão, sendo que os da zona urbana apresentavam um filme verde. Os autores indicam ser o grau de

deterioração dessas áreas decrescente na seguinte ordem: zona urbana > zona industrial > zona rural (15).

Observados por estereomicroscopia, pôde-se observar as imperfeições de cada CP, sobretudo daqueles sem revestimento. Isto já era previsto, uma vez que a aplicação de revestimento torna a superfície do material menos biosusceptível (2). A Figura 2 apresenta as imagens dos CPs obtidas por estereomicroscopia nas condições estudadas e após raspagens nas condições que havia a presença de microrganismos.

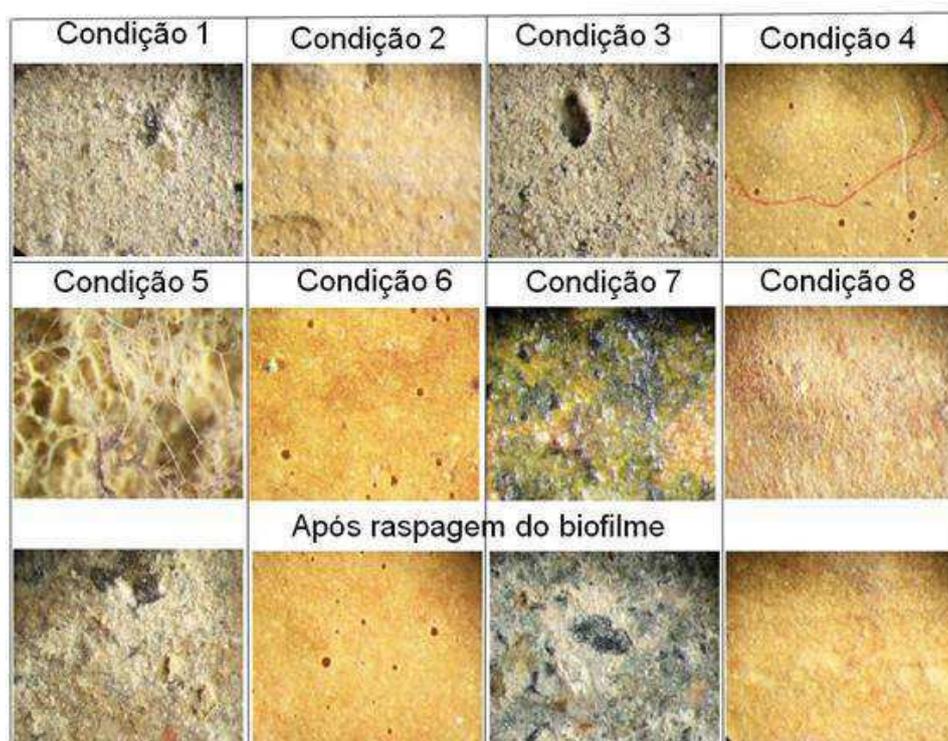


Figura 2. Imagens dos corpos de provas com desenvolvimento de microrganismos com aumento de 50 vezes.

É possível notar a formação de biofilmes heterogêneos, bem como estruturas como hifas e um provável exopolímero aderido. Percebe-se facilmente a diferença de coloração. Quando se associam a presença/ausência da cobertura ao tipo de névoa, a visualização da diferença de coloração é observada nas condições 5 a 8.

Há também presença de ranhuras e pites no revestimento, provavelmente pela atuação dos microrganismos. O revestimento com rupturas pode criar ambientes favoráveis ao depósito, com maior acúmulo de impurezas, substâncias orgânicas e inorgânicas, e principalmente água.

Os CPs sem revestimento, quando comparados aos com revestimento, apresentaram um maior desenvolvimento dos microrganismos, com formação de biofilmes heterogêneos, abrangendo toda a área superficial exposta, principalmente devido à dificuldade de adesão a superfície (biosusceptibilidade para os microrganismos). Quando comparadas as condições 5 e 7, fica notória uma maior aderência à superfície quando sofre influência da névoa ácida (condição 7), essa diferença foi devido principalmente a retenção de umidade na superfície e pelos componentes da névoa ácida que auxiliam para um melhor desenvolvimento de algumas populações microbianas (7). A condição que apresentou o pior desenvolvimento foi a condição 6, menos agressiva aos CPs. Mesmo com condições menos favoráveis, ocorreu biodeterioração uma vez que somado ao alto crescimento de microrganismos foi observada a diferenciação da cor original após remoção do biofilme.

Estudos na literatura complementam os achados da presente pesquisa, por exemplo, a observação de uma densa colonização microbiana sobre fissuras na superfície de azulejos, causando descamação, provavelmente como resultado de mudança de volume, penetração na matriz e lançamento de metabólitos, tais como ácidos orgânicos e inorgânicos, como ocorre em argamassas (16).

Outro exemplo ocorreu no estudo com corpos de provas expostos por um ano na região de Fontivegge e Cortonese (Peruggia), onde não foram encontradas significantes variações na composição mineralógica atribuídas pela interação com poluentes atmosféricas. Em contraste, as análises microbianas indicaram níveis altos de contaminação, principalmente pela participação de fungos, onde foram significantes após 5 meses de exposição, com valores maiores de 2 UFC/cm², os valores cresceram progressivamente e chegaram a atingir números maiores que 150 UFC/cm² (17).

No presente trabalho não foi possível observar a interação entre os poluentes e a atuação diretamente na deterioração, entretanto foi confirmada a influência da névoa ácida no desenvolvimento dos microrganismos, apresentando um biofilme bastante aderido e de forma intensa, levando a danos não somente estéticos e sim estruturais.

Quantificação da comunidade microbiana

Na Figura 3 estão apresentadas as densidades celulares das diferentes populações microbianas nas quatro condições ensaiadas. Em todas as condições ensaiadas, as bactérias heterotróficas foram as dominantes, sendo as aeróbias ligeiramente prevalentes sobre as anaeróbias. A pouca variação entre estas populações sugere a presença de bactérias facultativas.

Nota-se ainda que a colonização microbiana foi mais intensa nos CPs não revestidos em relação aos cobertos com tinta. Nos CPs expostos à névoa ácida, não houve diferenciação expressiva de algumas populações microbianas em função da presença ou não de revestimento. Adicionalmente, a névoa ácida parece ter favorecido o desenvolvimento microbiano sobre os CPs, sobretudo os revestidos (Condições 6 e 8), porém não houve diferenciação expressiva entre as populações microbianas em função da presença ou não de revestimento.

Os números de bactérias heterotróficas aeróbias nos biofilmes foram similares, com exceção da condição 6, apresentando valor em torno de 10^5 células/cm². Por outro lado, a pintura teve efeito ligeiramente adverso no desenvolvimento das ferrobactérias nos biofilmes expostos a névoa (Condições 5 e 6) e névoa ácida (Condições 7 e 8), sendo possível notar que os CPs sem revestimento apresentaram crescimento um pouco maior (condições 5 e 7).

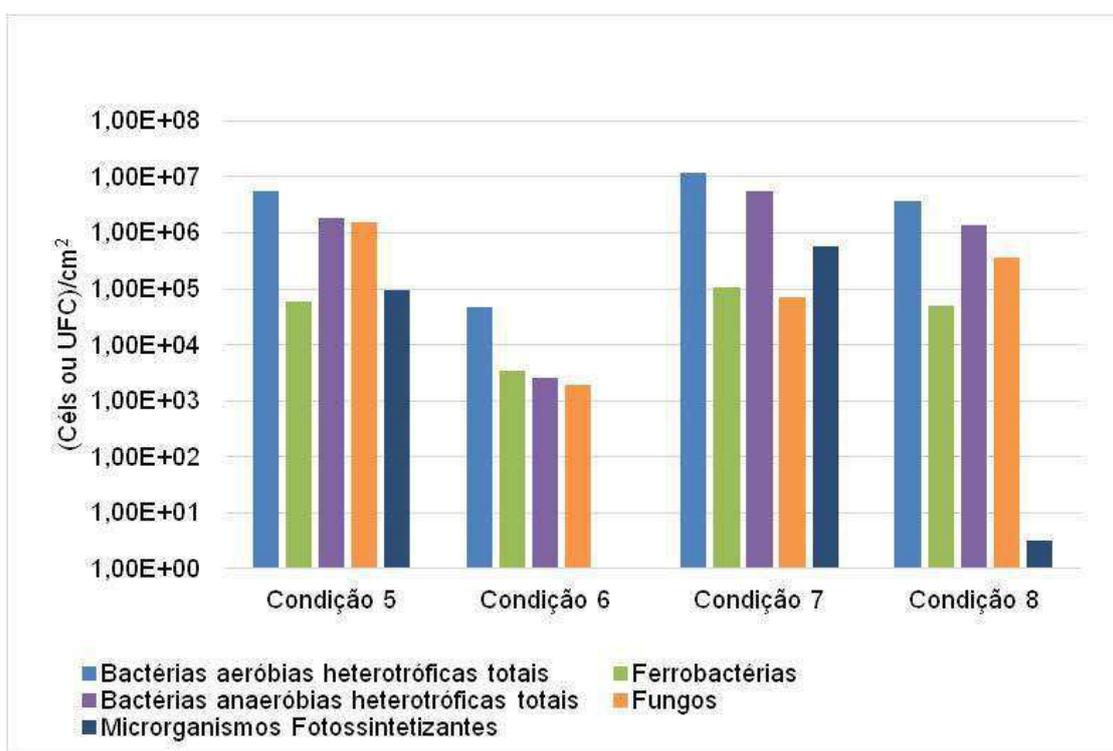


Figura 3. Quantificação dos microrganismos nas condições 5, 6, 7 e 8.

Para os fungos o maior desenvolvimento foi constatado na condição 5, com $1,6 \times 10^6$ UFC/cm². Nos biofilmes das condições 7 e 8 observou-se densidade um pouco menor, e na condição 6 foi evidenciado o valor mínimo ($1,9 \times 10^3$ UFC/cm²). Em suma, desenvolvimento decrescente foi observado para estes eucariotos na seguinte ordem:

CP + névoa (condição 5) > CP/tinta + névoa ácida (condição 8) > CP + névoa ácida (condição 7) > CP/tinta + névoa (condição 6). Portanto, pode-se observar que a tinta assegura a atividade dos fungos, especialmente quando associada à névoa.

Com relação aos fotossintetizantes, o seu desenvolvimento nos CPs com revestimento foi nulo (condição 6) ou quase nulo ($3,1 \text{ cels/cm}^2$, condição 8), independente da condição atmosférica. Mas, os CPs sem revestimento de tinta favoreceram o crescimento desta população, em especial quando expostos a névoa ácida, onde seu desenvolvimento é ligeiramente maior.

Em geral, o crescimento dos microrganismos foi maior nos biofilmes formados sobre o CP sem tinta exposto, exposto à névoa ácida (condição 7), onde observou a maior densidade. Possivelmente, a névoa ácida conduziu a maior produção de exopolissacarídeos como forma de proteção, o que contribui para o desenvolvimento das espécies microbianas presentes. A redução de maior quantidade microbiana possivelmente pode ser explicada pela presença do revestimento, nos corpos de prova que o receberam, uma vez que a biossusceptibilidade é alterada. Segundo o fabricante da tinta, aditivos como dióxido de titânio, piritonato de zinco e amônio-solução aquosa, etano1,2-diol e Kaolin atribuem ao revestimento, o caráter biocida. Entretanto, ao observar a Figura 3, pode ser constatado que mesmo com a presença do revestimento, a névoa ácida favoreceu o desenvolvimento microbiano, exceto ao grupo fotossintetizante. Se o ambiente natural expõe aos monumentos estas condições, o revestimento pode não ser eficiente com relação à redução da densidade microbiana, carecendo de mais investigações para melhor entendimento destas lacunas.

4. CONCLUSÃO

O emprego de tinta com fungicida e bactericida em corpos de provas de argamassa (CPs) tiveram efeito positivo para diminuir a diversidade e a enumeração dos microrganismos. Os CPs sem tinta, expostos a névoa ácida apresentaram maior enumeração, maior diversidade de populações microbianas e biofilmes mais aderidos a superfície. Entretanto a exposição dos CPs sem revestimento a névoa resultou em biofilmes mais volumosos e de fácil remoção mecânica (raspagem). Houve redução da população fúngica em 3 ordens de grandeza, quando comparados os CPs não revestidos e revestidos quando expostos à névoa, no entanto não foi detectada variação de densidade populacional sob influência da névoa ácida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e a CAPES (bolsista processo 99999.008278/2014-08) pelo suporte financeiro e ao CETEM pelas análises de FRX.

REFERÊNCIAS

1. Tavin KM. If you see something, say something: visual events at the visual culture gathering. *Visual Arts Res.* 2004; (32): 2-6.
2. NASA - National Aeronautics and Space Administration. Fundamentals of corrosion and corrosion control. Disponível em: http://http://corrosion.ksc.nasa.gov/corr_fundamentals.htm. 2013 Jun.
3. Mapelli F, Morasco R, Balloi A, Rolli E, Cappitelli F, Daffinchio D, Borin S. Mineral-microbe, interactions: biotechnological potential of bioweathering. *J Biotechnol.* 2012; (157): 473-481.
4. Saddique R, Chahal NK. Effect of ureolytic bacteria on concrete properties. *Construc Build Mat.* 2011; (25): 3791-3801.
5. Sarró MI, García AM, Rivalta VM, Moreno DA, Arroyo I. Biodeterioration of the lions fountain at the Alhambra palace, Granada (Spain). *Build Environ.* 2006; (41): 1811-1820.
6. Koestler RJ, Vedral J. Biodeterioration of cultural property: A bibliography. *Int Biodegrad Biodeterior.* 1991; (28): 229-240.
7. Hernández RPB, Pászti Z, De Melo HG, Aoki IV. Chemical characterization and anticorrosion properties of corrosion products formed on pure copper in synthetic Rainwater of Rio de Janeiro and São Paulo. *Corr Sci.* 2010; (52): 826-837.
8. Genhardt P, Murray RGE, Wood WA, Kieg NR. *Methods for general and molecular bacteriology.* 1st ed. Washington: American Society for Microbiology; 1994.
9. Nuhoglu Y, Oguz E, Uslu H, Ozbek A, Ipekoglu B, Ocak I, Hasenekoglu, I. The accelerating effects of the microorganisms on biodeterioration of stone monuments under airpollution and continental-cold climatic conditions in Erzurum, Turkey. *Sci Total Environ.* 2006; (364): 272-283.
10. Miller AZ, Sanmartín P, Pereira-Pardo L, Dionísio A, Saiz-Jimenez C, Macedo MF, Prieto B. Bioreceptivity of building stones: A review. *Science of the Total Environment.* 2012; (426): 1-12.
11. Atkins PW, Jones L. *Princípios de Química. Questionando a vida moderna e o meio ambiente.* 5^a ed. Rio de Janeiro: Bookman; 2011.
12. Shirakawa MA, Gaylarde CC, Sahão HD, Lima JRB. Inhibition of *Cladosporium* growth on gypsum panels treated. *Int Biodegrad Biodegrad.* 2013; (85): 57-61.

13. Papida S, Murphy W, May E. Enhancement of physical weathering of building stones by microbial populations. *Int Biodeter Biodegrad.* 2000; (46): 305-317.
14. Wiktor V, De Leo F, Urzì C, Guyonnet R, Grosseau PH, García-Díaz E. Accelerated laboratory test to study fungal biodeterioration of cementitious matrix. *Int Biodeter Biodegrad.* 2009; (63): 1061-1065.
15. Gil H, Calderón JA, Buitrago CP, Echavarría A, Echevarría F. Indoor atmospheric corrosion of electronic materials in tropical-mountain environments. *Corr Sci.* 2010; (52): 327-337.
16. Coutinho ML, Miller AZ, Gutierrez-Patricio S, Hernandez-Marine M, Gomez-Bolea A, Rogerio-Candelera MA, Philips AJL, Jurado V, Saizjimenez C, Macedo MF. Microbial communities on deteriorated artistic tiles from Pena National Palace (Sintra, Portugal). *Int Biodeterior Biodegrad.* 2013; (84): 322-332.
17. Pitzurra L, Morioni B, Nocentini A, Sbaraglia G, Poli G, Bistoni F. Microbial growth and air pollution in carbonate rock weathering. *Int Biodegrad.* 2003; (52): 63-68.