

AVALIAÇÃO DA BIODETERIORAÇÃO DAS ROCHAS GNAISSICAS DO MOSTEIRO DE SÃO BENTO

Marcelo De Lucas Dourado

Aluno de Graduação da Engenharia Química, 6º período, UFF
Período PIBIC/CETEM : fevereiro de 2015 a julho de 2016, mdourado@cetem.gov.br

Andrea Camardella de Lima Rizzo

Orientadora, Engenheira Química, D.Sc.
arizzo@cetem.gov.br

Roberto Carlos da Conceição Ribeiro

Orientador, Engenheiro Químico, D.Sc.
rcarlos@cetem.gov.br

Maria Inez de Moura Sarquis

Orientadora, LCCFF IOC/FIOCRUZ RJ, Bióloga, D.Sc.
isarquis@ioc.fiocruz.br

Resumo

A biodeterioração é considerada um mecanismo secundário de degradação das superfícies rochosas. Entretanto, as modificações causadas por microrganismos podem causar a alteração do diâmetro do poro das rochas bem como a possibilidade do aumento e propagação das trincas já existentes no material, além de alterações estéticas das fachadas (BECKER, 1994). O objetivo deste trabalho foi realizar coleta e isolamento dos microrganismos presentes nas rochas gnaisse das fachadas do complexo arquitetônico do Mosteiro de São Bento, Rio de Janeiro. A coleta e o isolamento resultaram na seleção prévia de 70 microrganismos, sendo 29 fungos filamentosos, 30 bactérias, 7 actinomicetos e 4 leveduras. A identificação dos fungos filamentosos, dentre eles *Penicillium sp* e *Aspergillus niger*, nos permite inferir alguns possíveis mecanismos de corrosão do monumento. Entretanto, ainda se faz necessária a identificação por espécies tanto dos fungos filamentosos quanto dos outros filos microbiológicos para saber se há metabólitos que interagem com as fachadas de forma a aumentar a biodeterioração. Posteriormente, pretende-se avaliar os efeitos da propagação microbiológica e da sua consequente influência no processo de alterabilidade de rochas ornamentais, bem como propor um mecanismo de proteção contra o crescimento e desenvolvimento de colônias microbiológicas neste monumento.

Palavras chave: biotecnologia, rochas ornamentais, biodeterioração, microbiologia.

EVALUATION OF BIODETERIORATION OF GNAISSIC ROCKS FROM THE SÃO BENTO MONASTERY

Abstract

Biodeterioration is considered a secondary mechanism of rock degradation. However, microorganisms are able to modify rock pore diameter as propagation of existing cracks in the material in addition to aesthetic changes in the facade of the monastery. The aim of this work was collect and isolate of the microbiological community that dwell in the stone surface of the São Bento Monastery, Rio de Janeiro. The isolation results were about 70 microorganisms, in which are divided into fungi, bacteria, yeast and filamentous bacteria. The identification of filamentous fungi, such as *Penicillium sp* and *Aspergillus niger*, allowed us to infer some possible corrosion mechanisms. However, it is still necessary to identify the species of the filamentous fungi as other microbiological phyla in order to determine if there are metabolites

interacting with the fronts of São Bento Monastery. In a second time, we intend to study the interaction between the microorganism and the rock and to propose a protection that will stop the microbiological growth in this stone-based monument.

Keywords: biotechnology, ornamental rock, Biodeterioration, microbiology.

1. INTRODUÇÃO

Localizado próximo à Praça Mauá, no Centro da Cidade do Rio de Janeiro, a fachada do complexo aquitetônico do Mosteiro de São Bento é composta por gnaiss, uma rocha metamórfica composta por três minerais: feldspato, mica e quartzo. O primeiro caracteriza um grupo mineral constituído de alumínio silicatos de potássio, sódio e cálcio. Já o segundo se refere a um grupo de minerais constituídos por silicatos hidratados de diversos metais, cristalizado no sistema monoclinico, com diferentes composições e propriedades físicas. Por fim, o terceiro se refere a fase estável da sílica a temperatura ambiente (ERLICH, 2009; UFJF, 2009).

O intemperismo biológico, ou biodeterioração, é considerado um mecanismo secundário de degradação das superfícies rochosas (BECKER et al., 1994). Geralmente a biodeterioração ocorre porque outros agentes erosivos permitiram que naquele ambiente houvesse a deposição de matéria inorgânica e/ou orgânica como nutrientes básicos para o complexo crescimento microbiano.

Segundo Erlich (2009), são citados alguns filos microbiológicos capazes de solubilizar sílica e silicatos como, por exemplo, bactérias (*Pseudomonas sp.*) e fungos (*Aspergillus niger*). O autor indica que o ataque à rocha pode ocorrer, principalmente, de quatro diferentes formas: produção de substâncias quelantes; produção de ácidos orgânicos ou inorgânicos; produção de bases; produção de material polissacarídeo extracelular.

No primeiro caso, a produção de substâncias quelantes, oriundas do metabolismo, são capazes de complexar os cátions dos silicatos quando o pH está próximo a neutralidade. Pode-se citar o 2-cetoglutarato, ácido glucônico, ácido cítrico e ácido pirúvico.

No segundo caso, a secreção de ácidos orgânicos tem maior potencial de biodeterioração de silicatos quando comparados aos ácidos minerais. Isto ocorre pois os ácidos orgânicos apresentam tanto o efeito corrosivo, intrínseco à substância, em regiões de baixo pH quanto o efeito quelante em pH levemente ácido. Deste modo, este tipo de corrosão pode acelerar ainda mais a biodeterioração, visto que pode haver uma combinação sinérgica entre os dois mecanismos de ataque às fachadas do monumento. Podem-se citar os ácidos oxálicos, cítrico e pirúvico.

No terceiro caso, o estabelecimento de condições alcalinas também favorece a quebra da ligação Al-O e Si-O, visto que ambas podem sofrer ataques nucleofílicos. Um exemplo deste tipo é a geração de amônia a partir da uréia por cepas de *Sarcina ureae*.

No último caso, o material polissacarídico extracelular pode reagir com o siloxano para formar compostos orgânicos derivados de siloxano. Na literatura, tal mecanismo foi estudado tanto em bactérias (*Bacillus mucilaginosus*) quanto em fungos da espécie *Aspergillus niger* (ERLICH, 2009).

Além da biocorrosão dos monumentos, as modificações causadas por microrganismos também incluem a alteração do diâmetro do poro das rochas bem como a possibilidade do aumento e propagação das trincas já existentes no material, além de alterações estéticas das fachadas (BECKER, 1994). Deste modo, é necessário buscar mecanismos que sejam capazes de diminuir significativamente a deterioração deste bem pétreo.

2. OBJETIVOS

Verificar, através da coleta, isolamento e identificação, se pode ocorrer degradação das rochas ornamentais do complexo arquitetônico do Mosteiro de São Bento, localizado na Cidade do Rio de Janeiro, por possível ação microbiológica.

3. METODOLOGIA

3.1. Pontos de coleta

Devido ao avançado grau de biodeterioração das fachadas, os pontos de amostragem microbiológica foram selecionados por observação visual. Coletou-se material microbiológico dos seguintes pontos: fachada posterior, em dois pontos distintos; fachada lateral direita, em cinco pontos diferentes; fachada frontal em três pontos distintos; fachadas frontal e lateral direita da torre do campanário; sinos; balcão 8 da fachada posterior em três pontos distintos, bem como o ornamento localizado imediatamente abaixo dele, e dois pontos do busto de Cristo, esculpido em mármore, localizado próximo a fachada frontal.

3.2 Amostragem e Isolamento

Com auxílio de um swab estéril (um chumaço de algodão fixado a uma haste plástica), foi realizado um esfregão nas fachadas gnáissicas do Mosteiro de São Bento. O swab foi armazenado em solução de cloreto de sódio 0,9% para transporte até o laboratório (HIRSCH et al., 1995). Em laboratório, cada tubo contendo a solução de cloreto de sódio e swab foi agitada por cerca de 10 segundos. Em seguida, utilizou-se a técnica de espalhamento em superfície *pour plate* (VERMELHO et al., 2006; HIRSCH et al., 1995). Foram utilizados os meios de cultura Agar Nutriente (AN), Triptona de Soja Agar (TSA) e Batata Dextrose Agar (BDA).

Tabela 1: Composição dos meios de cultura utilizados. Valores expressos em gramas por litro (g/L).

Componente	Agar Nutriente (Rabinovitch, 2015)	TSA (Gomes-Alarcon, 1995)	BDA (BISWAS, 2013)
Caseína Hidrolisada	x	15,0	x
Papaínico de Soja	x	5,0	x
Extrato de Carne	1,0	x	x
Extrato de Levedura	2,0	x	x
Peptona	5,0	x	x
Amido de Batata	x	x	4,0
Dextrose	x	x	20,0
Agar	15,0	15,0	15,0
NaCl	5,0	5,0	x
pH final	7,4	7,3	5,6

3.3 Identificação

A identificação dos fungos filamentosos foi realizada pelo grupo do Laboratório de Taxonomia, Bioquímica e Bioprospecção de Fungos Filamentosos IOC/FIOCRUZ. Para tanto, foi feito o estudo microscópico e macroscópico de cada cepa. As características macroscópicas foram observadas em meios adequados, como o BDA, extrato de malte agar e Czapek-Dox extrato de levedura agar. As características microscópicas celulares

bem como as estruturas das hifas e conidióforos foram estudadas criteriosamente a partir das preparações de microcultivos em lâminas segundo Rivalier & Sydel (1932) e em lâminas temporâneas segundo Hawksworth (1977). As identificações e classificações por gênero e espécies foram feitas segundo Ellis (1971, 1976), Raper e Fennel (1965) e Pitt (1985).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foram isolados 70 microrganismos, dos quais 29 são possíveis fungos filamentosos, 30 são possíveis bactérias, 4 são possíveis leveduras e 7 são possíveis actinomicetos.

Os possíveis filamentosos microbiológicos encontrados são explicados pela flexibilidade da exigência nutricional, somado a capacidade de lidar com flutuações na temperatura, umidade e pressão osmótica bem como períodos de escassez nutricional, uma vez que as condições locais não são homogêneas durante o ano (BECKER, 1994).

O meio TSA é altamente nutritivo e versátil, normalmente utilizado para crescimento de microrganismos heterotróficos. Já o meio BDA (BISWAS, 2013) é o meio comumente empregado para a cultura de fungos. Entretanto, não se deve descartar a presença de microrganismos autotróficos. Segundo a análise feita por Becker (1994), alguns microrganismos como *Nitrosomonas sp* são capazes de secretar ácidos inorgânicos sobre as fachadas dos monumentos. Apesar de incitarem também a corrosão, a extensão dela é menor pois não há o mesmo efeito quelante, presente nos ácidos orgânicos.

A identificação dos gêneros de fungos filamentosos forneceu os seguintes gêneros: *Fusarium spp*, *Nigrospora sp*, *Penicillium spp* e *Urocladium sp*. Além destes, foi possível identificar as espécies *Aspergillus niger*, *Mycelia sterilia* e *Dreschlera australiensis*. Dentre eles, o *Aspergillus niger* é um fungo conhecido por secretar ácidos orgânicos, como o ácido cítrico (LIMA, 2001). Assim, dois possíveis mecanismos de corrosão podem ocorrer. O primeiro seria o sequestro de cátions da estrutura cristalina da rocha por complexação. O segundo ocorre em condições mais drásticas, ou seja, em região de baixo pH, onde a corrosão evolui pela produção de ácido orgânico oriundo do metabolismo do fungo. A interação desta classe de compostos com a rocha pode acelerar os efeitos de biodeterioração do monumento. Além disso, o gênero *Penicillium* é conhecido por sintetizar penicilina (LIMA, 2001). Esta produção pode favorecer a colonização das fachadas por outros fungos bem como microrganismos resistentes a este antibiótico.

O estudo do metabolismo dos microrganismos é de grande importância. A partir dele, pode-se inferir o mecanismo de corrosão do gnaiss via microbiológica. Por exemplo, ao excretar os ácidos orgânicos, o gnaiss se dissocia, gerando, assim, íons cálcio livres. Devido à grande quantidade de compostos derivados de enxofre presente no local, o cálcio livre reage com os compostos de enxofre e, assim, há a formação de um novo mineral, a gipsita (CaSO_4) (Erlich, 2009). Neste momento, duas hipóteses podem ser formuladas para futura investigação: os microrganismos são agentes de transformação do gnaiss em gipsita ou houve a formação da gipsita e, em seguida, os microrganismos colonizaram o novo mineral.

5. CONCLUSÕES

Embora a identificação por gênero dos fungos filamentosos forneça uma estimativa de parte da origem da biodeterioração do monumento, ainda são necessários mais coletas e ensaios a fim de estudar o efeito do metabolismo bem como a interação microrganismo-rocha para que o restauro e preservação do monumento sejam feitos de forma adequada.

Além disso, ainda se faz necessária a identificação bacteriana a fim de elucidar melhor seus efeitos sobre as rochas gnáissicas.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida, a Dr^a Maria Inez de Moura Sarquis (FIOCRUZ) e a todos os participantes diretos e indiretos deste projeto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER, T.W.; KRUMBEIN, W.E.; WARSCHEID, Th.; RESENDE, M.A. Investigations into Microbiology. Project IDEAS: Investigation into Devices against Environmental Attack on Stones – A German-Brazilian Project. p.147-186, 1994.

BISWAS, J.; SHARMA, K.; HARRIS, K.K.; RAJPUT, Y. Biodeterioration agents: Bacterial and fungal diversity dwelling in or on the pre-historic rock-paints of Kabra-pahad, India. **Iranian Journal of Microbiology**. 2013. Vol 5. p. 309-314

ELLIS, M.B. Dermatiaceous Hyphomycetes. 2^a ed. Kew, Surrey, England. CAB Press. 1971. 608p.

ELLIS, M.B. More Dermatiaceous Hyphomycetes. 2^a ed. Kew, Surrey, England. CAB Press. 1976. 507p.

ERLICH, H. L.; NEWMAN, D.K. Geomicrobiology. Boca Raton: CRC Press, 2009. 606p.

GOMES-ALARCON, G; CILLEROS, B.; FLORES, M.; LORENZO, J. Microbial communities and Alteration Processes in Monuments at Alcalá de Henares, Spain. **Science of Total Environment**. 167. p 231-239. 1995

HAWKSWORTH, D.L. Mycologist's handbook. 2^a ed. Kew, Surrey, England CAB Press, 1977. 231p.

HIRSCH, P.; ECKHARDT, F.E.W.; PALMER JR., R.J. Methods for the study of rock-inhabiting microorganisms-A mini review. **Journal of Microbiological Methods**. 23v.1995. p. 143-167.

LIMA, U. de A. Biotecnologia Industrial – Processos Fermentativos e Enzimáticos. São Paulo: Blucher. 2001. 593p.

PITT, J.I. A Laboratory Guide to Common Penicillium Species. Australia. Academic Press. 1985. 182p.

RABINOVITCH, L.; OLIVEIRA, E. J. Coletânea de Procedimentos Técnicos e Metodologias Empregadas para o Estudo de Bacillus e Gêneros Esporulados Aeróbios Correlatos. 1^a ed. Rio de Janeiro: Montenegro Comunicação, 2015. 160p.

RAPER, K.B.; FENNEL, D.I. The Genus *Aspergillus*. Baltimore, England. The Williams & Wilkins Co. 1965. 690p.

RIVALIER, E.; SEYDEL, S. Nouveau procédé de culture sur lames gélosés appliqué a l'étude microscopique des champignons deteignes. Ann. Parasitol 10(5): 444-452. 1932.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA. Geologia. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nugeo/files/2009/11/Geologia-Cap6.pdf>>. Acesso em 26/02/2016 as 14:22.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; SOUTO-PADRÓN, T. C. B. Práticas de Microbiologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2006. 239p.