

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E ENGENHARIAS
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

MATHEUS JORGE SANTOS LOPES

**EFEITO DA LUZ BRANCA SOBRE A ATIVIDADE FUNGICIDA DE PARTÍCULAS
DE COBRE EM FILME COMPÓSITO PMMA-PVA**

CAXIAS DO SUL
2024

MATHEUS JORGE SANTOS LOPES

**EFEITO DA LUZ BRANCA SOBRE A ATIVIDADE FUNGICIDA DE PARTÍCULAS
DE COBRE EM FILME COMPÓSITO PMMA-PVA**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Química, pela Universidade de Caxias do Sul, na Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alejandro Figueroa.
Coorientadora: Me. Aline Lucchesi Schio.

CAXIAS DO SUL

2024

MATHEUS JORGE SANTOS LOPES

**EFEITO DA LUZ BRANCA SOBRE A ATIVIDADE FUNGICIDA DE PARTÍCULAS
DE COBRE EM FILME COMPÓSITO PMMA-PVA**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Química, pela Universidade de Caxias do Sul, na Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alejandro Figueroa.
Coorientadora: Me. Aline Lucchesi Schio.

Aprovado em 8 de julho de 2024.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carlos Alejandro Figueroa
Universidade de Caxias do Sul

Prof. Dr. Cesar Aguzzoli
Universidade de Caxias do Sul

Prof(a). Dr(a). Ana Paula Longaray Delamare
Universidade de Caxias do Sul

Dedico este trabalho a minha mãe por todo esforço em nossa jornada e ao meu pai por ter me proporcionado viver bons momentos da vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de prestar meus agradecimentos em primeiro lugar à minha família, Mãe, Pai, Pietro, minhas Tias e Tios, e meu amor, a Marina.

Sem vocês, essa conquista não seria possível, sem seu apoio, incentivo e compreensão dos desafios e das exigências que foram demandadas por mim. O tempo de qualidade com a família foi um sacrifício para que hoje possamos festejar juntos estes louros acadêmicos. Obrigado!

Marina, você foi e continua peça fundamental na minha vida, obrigado por tudo o que você fez e por tudo aquilo que você é.

Aos meus colegas de trabalho, sejam na Plasmar, Tecbril ou Amalcaburio, cada um de vocês acompanhou uma fração dessa jornada, e colaboraram com carinho para minha formação profissional.

Aos Srs. Stevan Scussel Tomiello e Carlos Alejandro Figueroa, por terem sido a base fundamental para minha carreira profissional e acadêmica, me sinto um profissional mais completo diante do conhecimento que me repassaram durante a minha carreira na Plasmar.

Aos meus colegas de laboratório, do Laboratório de Engenharia de Superfícies e Tratamentos Térmicos II, agradeço de coração por todo o conhecimento compartilhado, aos bons ensinamentos sobre a UCS, sobre a Ciência e sobre a vida. Vocês despertaram em mim o interesse pela Engenharia.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Carlos Alejandro Figueroa e Eng. Me. Aline Lucchesi Schio, por terem me acompanhado nesta etapa final e terem me mostrado o caminho para alcançar os objetivos com este trabalho, apontando meus acertos e erros, para que através destes eu pudesse me tornar um acadêmico qualificado.

Aos Prof(a). Dra. Ana Paula Longaray Delamare e Prof. Dr. Fernando Joel Scariot, e a todos os IC's e estagiários, do Laboratório de Microbiologia Aplicada por terem me auxiliado nos ensaios e no acompanhamento dos resultados.

E agradeço a Universidade de Caxias do Sul e Coordenação do curso de Engenharia Química, por todo o amparo e estruturas fornecidos para a realização deste trabalho.

RESUMO

O cobre é um metal com larga aplicação na história, sendo muito utilizado atualmente como forma de conduzir eletricidade, entretanto, as suas propriedades vão além disto, sendo empregado também como um material sanitário com propriedades antimicrobianas e antivirais. Esta propriedade em particular foi pesquisada e analisada para aplicações de materiais antimicrobianos e antivirais de variadas formas, entre elas a aplicação de filmes compósitos com micropartículas do metal, a qual o presente trabalho pretende aplicar e explorar com um patógeno fúngico, a *Candida albicans*. Estas micropartículas de cobre apresentam propriedades fotoreativas, que com base na literatura, podem ser ampliadas pela ação da luz. Os filmes compósitos são formados em geral por uma matriz polimérica e um aditivo, que dispõe de uma propriedade a ser aplicada, neste contexto, filmes compósitos com cobre apresentam propriedades intrínsecas a este metal, além disto, a escolha de uma matriz polimérica diz respeito a que tipo de comportamento se espera do filme, com isso, a escolha de polímeros com biodegradabilidade e resistência mecânica foram parte fundamental para definir a matriz polimérica que melhor se enquadrava para a proposta deste trabalho. Como matriz polimérica, foram escolhidos o PVA e o PMMA, sendo 2,5% m/v para ambos em Dimetilformamida, diluídos à 100°C por 4 horas sob agitação constante, com base na literatura foi utilizado uma concentração de 2% m/v de cobre disperso através de ultrassonificação na solução polimérica, desta forma, foram produzidos dois filmes, correspondendo ao branco, sem cobre, e o compósito, com cobre. Para caracterização do filme compósito foram utilizadas técnicas como MEV-EDS, DRX, UV-Vis, FTIR e GDOES, e para avaliação da atividade antifúngica contra *Candida albicans* sob efeito da luz branca e a ausência de luz, foi utilizada um procedimento adaptado da norma JIS Z 2801. Por meio destes ensaios, foi verificado que o filme possui espessura média de 65,3 µm, com sinais de cobre reportados ao longo da camada mais externa do filme, porém, em maiores concentrações internas, verificou-se também que o PVA e PMMA se encontram presentes, sendo possível caracterizá-los através dos picos de absorção nas análises de FTIR. Para os ensaios antifúngicos realizados em diferentes condições de iluminação, foi perceptível que o filme obteve uma ação antifúngica e que essa propriedade foi ampliada pela presença de luz, sendo considerado um resultado promissor para futuras aplicações.

Palavras-chave: Cobre; Filme; Compósito; Antifúngica; Luz; *Candida albicans*; PVA; PMMA.

ABSTRACT

Copper is a metal with wide application in history, being widely used today as a way to conduct electricity, however, its properties go beyond this, being also used as a sanitary material with antimicrobial and antiviral properties. This property in particular was researched and analyzed for applications of antimicrobial and antiviral materials in various ways, including the application of composite films with metal microparticles, which the present work intends to apply and explore with a fungal pathogen, *Candida albicans*. These copper microparticles have photoreactive properties, which, based on the literature, can be amplified by the action of light. Composite films are generally formed by a polymeric matrix and an additive, which has a property to be applied, in this context, composite films with copper have properties intrinsic to this metal, in addition, the choice of a polymeric matrix concerns what type of behavior is expected from the film, therefore, the choice of polymers with biodegradability and mechanical resistance were a fundamental part of defining the polymeric matrix that best suited the purpose of this work. As a polymeric matrix, PVA and PMMA were chosen, with 2.5% w/v for both in Dimethylformamide, diluted at 100°C for 4 hours under constant agitation, based on the literature, a concentration of 2% w/v was used. v of copper dispersed through ultrasonification in the polymeric solution, in this way, two films were produced, corresponding to the white one, without copper, and the composite, with copper. To characterize the composite film, techniques such as SEM-EDS, XRD, UV-Vis, FTIR and GDOES were used, and to evaluate the antifungal activity against *Candida albicans* under the effect of white light and the absence of light, a procedure adapted from the standard was used. JIS Z 2801. Through these tests, it was verified that the film has an average thickness of 65.3 μm , with signs of copper reported along the outermost layer of the film, however, at higher internal concentrations, it was also verified that the PVA and PMMA are present, making it possible to characterize them through absorption peaks in FTIR analyses. For the antifungal tests carried out under different lighting conditions, it was noticeable that the film had an antifungal action and that this property was amplified by the presence of light, being considered a promising result for future applications.

Keywords: Copper; Film; Composite; Antifungal; Light; *Candida albicans*; PVA; PMMA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção de cobre nas minas nacionais em milhões de toneladas nos últimos 10 anos	12
Figura 2 - Esquema ilustrativo de como ocorre a fotocatalise por irradiação	14
Figura 3 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de CoVH-229E sobre superfícies metálicas (1) e o início da atividade antimicrobiana após 10 minutos (2), até a completa destruição do patógeno em 30 minutos (3).....	15
Figura 4 - A) membrana se dissolve B) liberando o conteúdo citoplasmático que C) propiciando a formação de ROS e D) ocasiona a liberação do material genético.....	16
Figura 5 - Esquema ilustrativo da composição de compósitos.....	19
Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de um compósito à base de quitosana-vanilina	20
Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura de uma célula de levedura.	22
Figura 8 - Imagem microscópica da forma micelial de <i>C. albicans</i> , ampliação de 400x.	26
Figura 9 - Fluxograma de atividades desenvolvidas para a obtenção do filme compósito com cobre e suas caracterizações.....	28
Figura 10 - Etapas envolvidas na preparação de amostras do filme compósito, sendo, (a) homogeneização dos polímeros em DMF, (b) a solução de matriz polimérica após completa solubilização, (c) dispersão do cobre por ultrassom e (d) aplicação dos filmes compósitos	31
Figura 11 - (a) Preparação e (b) incubação das amostras	35
Figura 12 - Diluição seriada da solução de <i>C. albicans</i>	35
Figura 13 - Imagem de microscópio óptico sobre como deve ser realizada a contagem de colônias	36
Figura 14 - Câmara de iluminação adaptada (esquerda) e a representação do feixe de luz incidindo dentro da câmara (direita)	37
Figura 15 - Micrografias obtidas por MEV da superfície da amostra A0 em diferentes magnificações	39
Figura 16 - Microscopia da seção transversal do filme polimérico A0	40
Figura 17 - Micrografias com EDS da seção longitudinal.....	41
Figura 18 - EDS da seção transversal da amostra A0 e seu índice de intensidade elementar de sinal detectado	42

Figura 19 - Micrografias obtidas por MEV em diferentes resoluções da amostra A1	42
Figura 20 - Microscopia da seção transversal do filme deslocado do substrato destacando a partícula de cobre não dispersa.....	43
Figura 21 - Micrografias com EDS da amostra A1 apontando as regiões.	44
Figura 22 - EDS da seção transversal da amostra A1 e seu índice de intensidade elementar de sinal detectado	45
Figura 23 - Difractogramas obtidos por DRX dos filmes A0 e A1.....	46
Figura 24 - Espectros obtidos de ATR-FTIR dos filmes A0 e A1.	48
Figura 25 - (a) Comprimento de onda absorvidos pelo filme de cobre e (b) método gráfico de Tauc.....	49
Figura 26 - Perfil químico da amostra formada somente pela matriz polimérica PMMA-PVA	50
Figura 27 - Perfil químico da amostra A1 em função da profundidade de amostra ...	51
Figura 28 - Comparação do crescimento de colônias de fungos sobre diferentes tratamentos na ausência de luz.....	52
Figura 29 - Comparação do crescimento de colônias de fungos expostas a luz sobre diferentes tratamentos na ausência de luz.....	53
Figura 30 - Comparação do crescimento de <i>C. albicans</i> em diferentes condições de iluminação	54
Figura 31 - Representação do controle de crescimento de <i>C. albicans</i> em diferentes tratamentos sobre ausência e presença de luz.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nomenclatura de amostras.....	32
Tabela 2 - Porcentagem de controle sobre o crescimento de <i>C.albicans</i> nas amostras A0 e A1.....	55
Tabela 3 - Análise de variância por sequenciamento de letras.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Lista de Patógenos Fúngicos Prioritários pela OMS.	25
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

Å	angstrom
β	beta
Λ	lambda
et al.	e outros
eV	elétron-Volt
kV	quilovolt
M	metro
mA	miliampere
mm	milímetros
nΩ	nano-Ohm
θ	tetha
Sp	espécie
W	Watt

LISTA DE SIGLAS

Ap-CVD	Atmospheric pressure Chemical Vapor Deposition
BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
CNA	<i>Candida não-albicans</i>
DMF	Dimetilformamida
DRX	Difração de Raios X
EDS	Energia dispersiva
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GDOES	Espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
JIS	<i>Japanese Industrial Standards</i>
LCMIC	Laboratório Central de Microscopia
LMA	Laboratório de Microbiologia Aplicada
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NPs	Nanopartículas
MPNs	Nanopartículas de metais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PMMA	Polimetilmetacrilato
PVA	Álcool Polivinílico
PVC	Cloreto de Polivinila
PVDF	Fluoreto de Polivinilideno
ROS	Reactive Oxygen Specie
SARS-CoV-2	Corona vírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave
YEPD	Extrato de Levedura Peptona Dextrosado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 COBRE.....	11
2.1.1 Propriedades do Cobre	13
2.1.2 Fotoatividade do cobre e seus derivados óxidos	13
2.1.3 Atividade antimicrobiana do cobre e seus derivados óxidos	15
2.2 COMPÓSITOS	17
2.2.1 Polimetilmetacrilato (PMMA)	20
2.2.2 Álcool Polivinílico (PVA)	21
2.3 FUNGOS E SAÚDE PÚBLICA	22
2.3.1 <i>Candida albicans</i>	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILME COMPÓSITO.....	29
3.1.1 Fabricação do filme compósito.....	29
3.1.2 Análise morfológica e elementar do filme compósito por microscopia eletrônica de varredura (MEV) seguido de espectroscopia por energia dispersiva (EDS)	32
3.1.3 Determinação da cristalinidade e da estrutura química do cobre no filme compósito por espectroscopia de DRX	32
3.1.4 Energia da banda proibida da partícula de cobre no filme compósito por espectroscopia UV-Vis.....	33
3.1.5 Análises por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) dos filmes	33
3.1.6 Análises de espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente (GDOES).....	33
3.2 CONDIÇÃO DE ILUMINAÇÃO, ENSAIO FUNGICIDA E SUA CARACTERIZAÇÃO	34

4 RESULTADOS	38
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO FILME COMPÓSITO	38
4.1.1 Análise de morfologia, composição e espessura de filme por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS)	38
4.1.2 Análise da estrutura cristalina por DRX	45
4.1.3 Análises da estrutura química por espectroscopia de infravermelho do filme compósito	46
4.1.4 Análises de absorção por espectroscopia UV-Vis e método de Tauc	48
4.1.5 Análises química por espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente	49
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ENSAIO FÚNGICO E FOTOATIVIDADE FUNGICIDA DOS FILMES COMPÓSITOS	52
5 CONCLUSÃO	57
6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	57
REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

O cobre é o vigésimo nono elemento da tabela periódica, um metal de transição obtido por dois tipos de processos subsequentes à sua mineração, o processo pirometalúrgico e o hidrometalúrgico (ANDRADE, *et al.* 1997). Possuindo extrema relevância para o desenvolvimento da humanidade em diversos segmentos do conhecimento, registros históricos apontam sobre seu uso há mais de três mil anos, e que atualmente tem como principal atribuição, devido às suas propriedades, a utilização como um bom condutor de eletricidade. A partir disto, com o passar da revolução científica, diversas propriedades interessantes do cobre foram descobertas, entre elas, destaca-se o seu potencial uso como um material biocida.

Esta importante propriedade, despertou o interesse de pesquisadores durante o decorrer da Pandemia de SARS-CoV-2, onde, mediante esforços científicos globais, muitos materiais passaram a ser desenvolvidos buscando minimizar os efeitos causados pelo vírus, e por outros patógenos fúngicos causadores de epidemias como espécies pertencentes ao gênero *Candida* (WHO, 2022). Desta forma, buscaram-se aditivos sintéticos ou naturais a serem incorporados em diferentes substratos, que de alguma forma, pudessem desenvolver essa atividade antimicrobiana e antiviral. Entre os aditivos que ganharam relevância, destacam-se a utilização de micropartículas de cobre, nanopartículas de cobre e micropartículas de óxido de cobre na incorporação de materiais como polímeros, cerâmicas, metais e compósitos (BALASUBRAMANIAM, 2021).

Diante disso, encontram-se na literatura trabalhos que apresentaram bons resultados quando incorporadas as nanopartículas de cobre em matrizes poliméricas tais como, cloreto de polivinila (PVC), fluoreto de polivinilideno (PVDF) (PALZA; QUIZADA; DELGADO, 2015), álcool polivinílico (PVA) e polimetilmetacrilato (PMMA) (SCHIO, 2023) exibindo comportamento antifúngico e antibacteriano. O mecanismo por trás deste comportamento revela que compósitos, produzidos a base de uma matriz polimérica e nanopartículas de cobre, são capazes de liberar íons com mais eficiência propiciando um melhor desempenho da atividade antimicrobiana (PALZA; QUIZADA; DELGADO, 2015).

Entre os filmes compósitos em potencial para a aplicação das nanopartículas de cobre, podem ser citados os filmes à base de PVA pelo seu teor de biodegradabilidade e ser solúvel em água e os filmes à base de PMMA devido a sua

elevada dureza, resistência química e transparência (HARPER, 2002). Em complemento às propriedades dos polímeros, o compósito com nanopartículas de cobre pode ter suas propriedades biocidas ampliadas por irradiação, uma vez que o cobre se trata de um metal fotoativo, tornando-o um material com elevado grau de interesse científico para sistemas de desinfecção.

Entretanto, se torna uma matéria de pesquisa desafiadora em virtude da escassez de bibliografia disponível na área, no que se refere a filmes compósitos com atividade antifúngica que avaliam o efeito da luz contra o patógeno, onde, a sua eficiência na atividade biocida na ausência ou presença de luz ainda é pouco discutida e não muito relatada, e que tornam as pesquisas na área fundamentais para a explicação do fenômeno (GHOSH, 2018; VINCENT, *et al.* 2018) e muito atrativas para a indústria hospitalar e sanitária. É importante ressaltar que, o mercado de revestimentos antimicrobianos foi alavancado pela Pandemia de *SARS-CoV-2*, tendo movimentado, de acordo com Balasubramaniam, *et al.* 2021, cerca de US\$ 4,19 bilhões, com uma taxa de crescimento anual composta adicional de 12,1%, considerando os cinco anos anteriores.

Nesse contexto, o presente trabalho busca avaliar a eficiência da atividade antifúngica sobre o crescimento micelial do fungo, entre muitos, causador da candidíase, a *Candida albicans*, na ausência ou presença de luz, em um filme compósito com base polimérica resultante da combinação entre álcool polivinílico (PVA) e polimetilmetacrilato (PMMA) com a inserção de nanopartículas de cobre.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da luz branca na atividade antimicrobiana de um filme compósito à base de álcool polivinílico e polimetilmetacrilato com partículas de cobre sobre o crescimento de *Candida albicans*.

1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Para alcançar o objetivo geral, foram definidos os objetivos específicos:

- a) desenvolver filmes compósitos a partir da incorporação das partículas comerciais em matriz polimérica por *drop casting*;
- b) caracterizar os filmes compósitos obtidos quanto à banda proibida, composição e disposição das partículas metálicas, e morfologia do filme sobre o substrato;
- c) avaliar a fotoatividade fungicida *in vitro* dos filmes compósitos no combate ao fungo *Candida albicans* na ausência de luz ou sob iluminação por luz branca;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 COBRE

O cobre é um metal que vem sendo utilizado há cerca de 10.000 anos, sendo considerado o primeiro metal utilizado em larga escala pela humanidade. Todas as grandes culturas e civilizações do passado, incluindo a suméria, a egípcia, grega, romana e a chinesa, usaram o cobre e suas ligas, principalmente bronze e latão, para áreas decorativas e utilitárias, como a medicina por exemplo, em termos biocidas. A partir do medievo e da Renascença, o cobre passou a ser utilizado com fins militares e artísticos, quando utilizado para a fabricação de sinos e estátuas de igrejas (DAVIS, 2001).

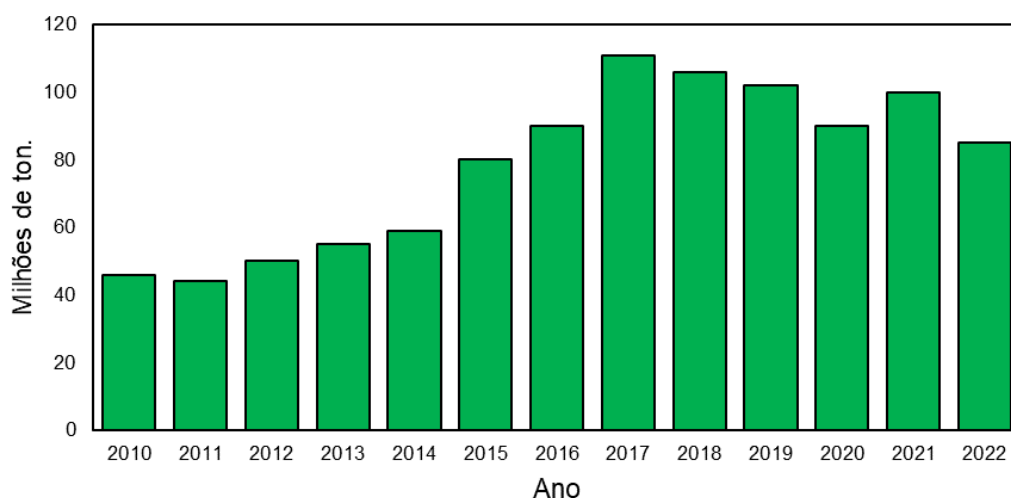
No entanto, foi a partir da Revolução Industrial que a utilização do cobre passou de um simples instrumento decorativo para um metal essencial para o sistema produtivo que se instalava nos grandes centros urbanos, sua produção e processamento ganharam escalas de níveis globais, passando a ser um dos elementos mais importantes para o crescimento econômico (FREUDENBERGER; WARLIMONT, 2018). O domínio do eletromagnetismo veio como uma revolução científica inigualável, sendo, o cobre seu principal responsável, devido as suas propriedades únicas referentes a essas áreas. Grandes descobertas surgiram nesse período, como a indução eletromagnética por Michael Faraday em 1831, o efeito fotoelétrico por Becquerel em 1839, assim como grandes invenções, o dínamo elétrico por Werner von Siemens em 1866, e o registro da patente da lâmpada elétrica por Thomas Edison em 1878 (DAVIS, 2001).

A importância industrial levantada pelo cobre nos séculos XX e XXI foi ampliada pela implementação da combinação de materiais, formando ligas e desenvolvendo novas propriedades, pois o cobre é um metal com facilidade em formar ligas com outros elementos (DAVIS, 2001). Essas novas atribuições, por meio da incorporação do cobre em ligas metálicas, propiciaram a utilização deste material em áreas de construção civil, e nas engenharias existentes dos setores automotivos, marítimo, químico, eletrônico e biológico (RODRIGUES; SILVA; GUERRA, 2015). O desenvolvimento contínuo desses setores, no que diz respeito a áreas como, semicondutores, fotoeletricidade, eletrônicos e por último, devido a pandemia,

sanitários e hospitalares, em grande escala serão capazes de garantir que o cobre continue a ser um material essencial para o futuro.

Na atualidade, o cobre é obtido por processos hidrometalúrgicos e pirometalúrgicos, dado pelo uso de altas temperaturas para a obtenção do metal puro. No processo pirometalúrgico, o cobre bruto precisa ser purificado por eletrólise, neste processo, o cobre impuro é utilizado como ânodo e o cobre puro como cátodo, onde ambos serão imersos em uma solução de ácido sulfúrico contendo íons de cobre (II). Dessa forma, os metais presentes na amostra, mais reativos que o cobre (como ferro e zinco, por exemplo), oxidam e permanecem em solução na forma iônica. Em contrapartida, os metais menos reativos (prata e ouro) não oxidam no ânodo (RODRIGUES; SILVA; GUERRA, 2015). Tendo dessa forma, como resultado do processo, a passagem do cobre puro do ânodo para o cátodo, os subprodutos desse processo que possuem alto valor agregado são vendidos à parte. Os principais mineradores de cobre no mundo são Estados Unidos, Peru, China, Austrália, Indonésia e Chile, sendo este último o detentor da maior reserva de cobre do mundo. Como forma de ampliar e explorar suas propriedades, atualmente existem mais de mil ligas de cobre registradas, com empregabilidade em diversos setores (DAVIS, 2001). Segundo a Agência Nacional de Mineração, de 2010 a 2022 o cobre obteve um claro crescimento em sua produção, rendendo 14 bilhões de produto beneficiado em 2022, a Figura 1 seguir apresenta esse desenvolvimento.

Figura 1 - Produção de cobre nas minas nacionais em milhões de toneladas nos últimos 10 anos



Fonte: Agência Nacional de Mineração (2023).

2.1.1 Propriedades do Cobre

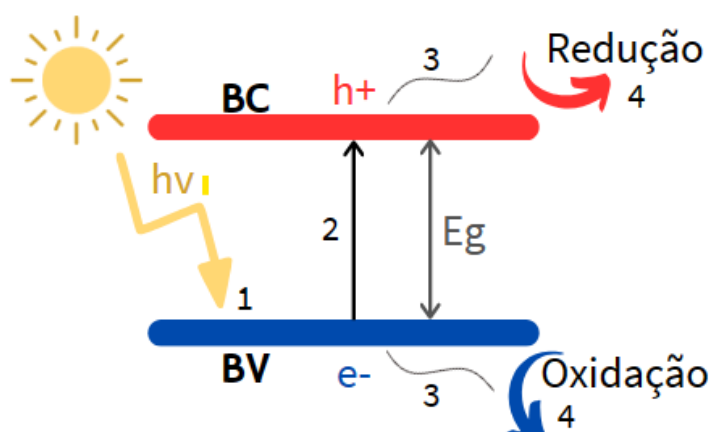
O cobre é um metal que apresenta ductibilidade, maleabilidade e coloração avermelhada, quando combinado com outros elementos possui números de oxidação da ordem de +1, +2 e +3, este último sendo mais raro de ocorrer. Quando combinado com estanho, forma o bronze, ganhando boa resistência a oxidação, e boa condutividade elétrica, e junto do zinco, formam as ligas de latão, que possuem também boa resistência a oxidação e maleabilidade (FREUDENBERGER; WARLIMONT, 2018). O cobre e suas ligas são utilizados principalmente devido a sua baixa resistividade elétrica e alta condutividade térmica, a temperatura ambiente ($T=23\text{ }^{\circ}\text{C}$), por exemplo, sua resistividade é de $16,78\text{ n}\Omega\cdot\text{m}$, considerada umas das melhores entre os metais levando em consideração o custo e benefício, e uma condutividade térmica equivalente a $1401\text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$, o que o torna o preferido para as tubulações de trocadores de calor (DAVIS, 2001; FREUDENBERGER; WARLIMONT, 2018).

O óxido de cobre I (Cu_2O) e óxido de cobre II (CuO), formas em que o metal é encontrado na natureza, são semicondutores do tipo-*p* com bandas de valência que variam de 2,0 a 2,5 eV e 1,2 e 1,5 eV, respectivamente. No que diz respeito ao Cu_2O , o óxido tem sido procurado como alternativa de semicondutor para células solares, devido a sua abundância na crosta terrestre e boa condutividade, além de boa estabilidade química, com alta mobilidade de elétrons (CHATTERJEE; SAHA; PAL, 2016; RAJENDRAN et al., 2020).

2.1.2 Fotoatividade do cobre e seus derivados óxidos

Metais, como muitos outros materiais, absorvem a radiação incidente em um espectro específico, propiciando efeitos e propriedades muito distintas, como por exemplo, a influência da luz sobre a atividade antimicrobiana, que ocorre por meio da fotocatalise. Este processo fotocatalítico produz reações de oxirredução na superfície do material, onde serão formadas espécies reativas de oxigênio ou ROS, que são reportadas como responsáveis pela eliminação de microorganismos e vírus causando estresse oxidativo na parede celular ou membrana proteica para o caso de vírus (NOSAKA, 2017). O mecanismo é explicado pela Figura 2 a seguir.

Figura 2 - Esquema ilustrativo de como ocorre a fotocatalise por irradiação



Fonte: Adaptado de Colmenares e Xu, 2016.

As quatro etapas do processo são definidas como: (1) a absorção da irradiação de luz em comprimentos de onda; (2) excitação dos elétrons da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) do semicondutor; (3) transporte dos pares de elétrons gerados para a superfície do semicondutor, e por último; (4) as reações de redução e oxidação que promovem a geração de ROS (SCHIO, 2023; COLMENARES; XU, 2016).

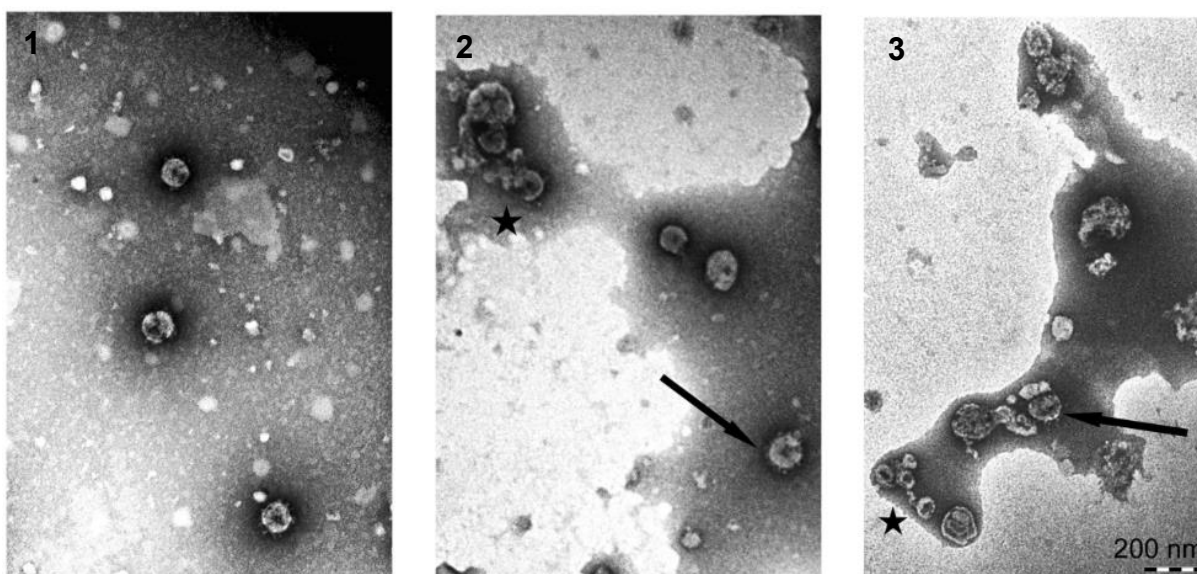
Através desse fenômeno, a procura tem-se intensificado por mecanismos fotocatalíticos que tenham baixo custo e desenvolvam essa atividade antimicrobiana, sem a adição de oxidantes químicos ou demais compostos que possam agregar problemas para as demais propriedades do material, além disso, possibilitando o uso de uma fonte de energia renovável e econômica, a energia solar, nesse contexto a utilização do cobre e seus derivados óxido é mais do que justificada, visto que as faixas de banda proibida destes materiais se enquadram para tal aplicação (SCHIO, 2023; COLMENARES; XU, 2016).

Em Ditta *et al.*(2008), desenvolveu-se um filme de TiO_2/CuO , depositado via Ap-CVD (*Atmospheric pressure Chemical Vapor Deposition*), para testar a atividade antimicrobiana do filme contra *Escherichia coli* sobre a influência da fotocatalise, e como resultado foi possível observar um melhor desempenho do filme sob o efeito da luz. Em Hajipour *et al.*, (2021) nanopartículas de TiO_2 foram dopadas com nanopartículas de cobre, reportando que a dopagem aumentou a absorção de luz do material na região do visível, sua atividade foi avaliada contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* na ausência e na presença de luz, observando-se superioridade das amostras dopadas e irradiadas com luz visível em relação às amostras puras de TiO_2 .

2.1.3 Atividade antimicrobiana do cobre e seus derivados óxidos

No ano de 2020, com a crescente de casos da *SARS-CoV-2*, destacou-se o potencial uso de superfícies para desinfecção fotoreativas com aditivos metálicos, entre eles o cobre e seus derivados óxido de cobre I e II, devido a sua propriedade antimicrobiana. Trabalhos como de Behzadinasab et al. (2020), onde foi desenvolvido um revestimento de poliuretano com micropartículas de Cu_2O , depositadas em vidro e aço inoxidável de uso comum, testadas contra o vírus *SARS-CoV-2* e apresentando por subsequente boa atividade antiviral, outro estudo desenvolvido na área por Warnes, Little e Keevil (2015), foram expostos coronavírus-229E humano a superfícies de cobre por 10 a 30 minutos, relatando uma eficácia do material contra o patógeno, como pode ser visualizado na Figura 3 a seguir, a marcação em forma de estrela indica cápsula de material genético do vírus já rompida após 10 minutos de contato, as setas de indicação apresentam que o vírus está em contato direto com o material, sendo, posteriormente destruídas.

Figura 3 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de CoVH-229E sobre superfícies metálicas (1) e o início da atividade antimicrobiana após 10 minutos (2), até a completa destruição do patógeno em 30 minutos (3).



Fonte: Warnes, Little e Keevil (2015).

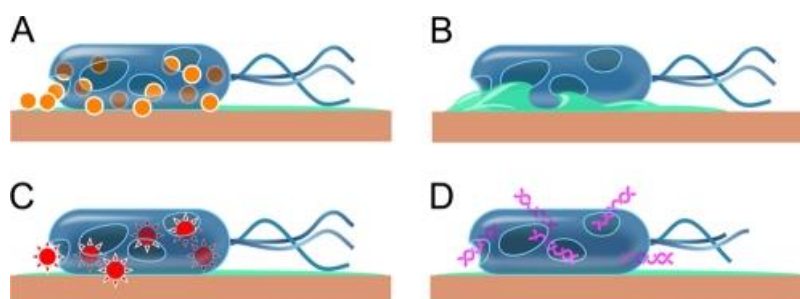
Em um estudo comparativo da atividade antiviral de compostos contendo cobre e prata de Minoshima *et al.* (2016) mostraram uma superioridade do Cu_2O na inativação de vírus *influenza*, um outro estudo realizado por Schio (2023) propõe o uso de micro e nanopartículas de cobre em filmes poliméricos de PVA na avaliação do efeito da luz sobre a atividade antimicrobiana e viral, mostrando que estudos e aplicações na área estão dispostos de elevado interesse científico e de aplicações em potencial na saúde pública em sistemas de revestimento ou como aditivação.

O mecanismo por trás da atividade antimicrobiana ainda tem sido pouco explorado, porém, em buscas na literatura três hipóteses têm ganhado destaque, como apresentados em Schio, (2023), são elas:

- (1) morte por contato, onde a exposição ocasiona um rápido declínio na integridade da membrana celular, de sua permeabilidade por acúmulo na superfície seguido da difusão e dissolução da membrana celular;
- (2) dano oxidativo e degradação do DNA, o qual a internalização e reação de espécies reativas de oxigênio ou de íons de cobre com os componentes das cadeias lipídicas do microorganismo, interrompendo a replicação do DNA;
- (3) dano proteico, onde ocorre a inibição de proteínas celulares pelo cobre, gerando perda na produção de energia, reduzindo o metabolismo e a replicação de DNA (CHATTERJEE; CHAKRABORTY; BASU, 2014; VINCENT *et al.*, 2018).

A Figura 4 ilustra a ação bactericida do cobre por meio do mecanismo proposto.

Figura 4 - A) membrana se dissolve B) liberando o conteúdo citoplasmático que C) propiciando a formação de ROS e D) ocasiona a liberação do material genético.



Fonte: Adaptado de Grass, Rensing e Solioz (2011).

Para fungos, a morte por contato foi documentada e relatada como sendo o mecanismo atuante, seguindo as mesmas etapas de inativação em superfícies de

cobre observadas para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (DEPNER *et al.*, 2015). Em Quaranta *et al.* (2011) células de *C. albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* absorveram quantidade grandes de íons de cobre que ao entrarem em contato com a superfície antimicrobiana, a despolarização da membrana citoplasmática foi seguida de um extenso e rápido dano, onde os vacúolos do fungo aumentaram de tamanho até sua membrana se romper, no entanto, o efeito oxidativo no citoplasma e nas mitocôndrias mesmo sendo elevado não afetou o material genético.

2.2 COMPÓSITOS

Formular materiais possui um conceito muito amplo, pois diz respeito a todos os processos necessários para se chegar no material desejado, passando por intermediários ou produtos acabados através da mistura de diversas matérias-primas (EL AOUNI *et al.*, 2019; SARDE; PARTIL, 2019;). De forma mais precisa, a formulação pode ser definida como todos os conhecimentos e operações aplicados ao misturar, combinar ou moldar matérias-primas de origem natural ou sintética, as quais em muitos casos são incompatíveis entre si, de um modo que seja possível obter um produto comercialmente apto caracterizado por sua função de utilização e sua capacidade de satisfazer uma necessidade por meio de uma especificação predeterminada. Entre os materiais que irão compor a fórmula, deve-se fazer a distinção entre aqueles necessários para cumprir a função principal pretendida, ditada pela propriedade a ser definida, e os auxiliares da formulação que desempenham funções de estabilização e secundárias (HSISSOU *et al.*, 2020; VALINO *et al.*, 2019;).

Desta forma, o material compósito pode ser definido como a montagem de dois ou mais materiais, que resultam em um material final com propriedades superiores às propriedades de cada um dos materiais constituintes separadamente. Materiais compósitos são comumente empregados como materiais de reforço ou de preenchimento que são incorporados a uma matriz, seja ela polimérica, metálica ou cerâmica (AMROLLAHI *et al.*, 2019; HSISSOU *et al.*, 2021; LE GUEN *et al.*, 2016).

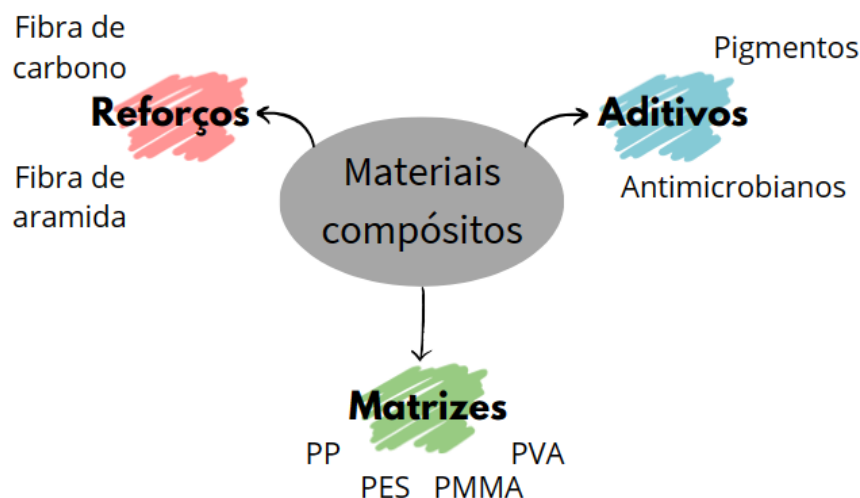
Essa matriz irá garantir a coesão e orientação da carga de compósito, no entanto, essa relação matriz e carga gera materiais muito heterogêneos e com comportamento anisotrópico, que altera as suas propriedades conforme a orientação da sua estrutura molecular ou cristalina, sendo assim, a natureza do material matriz e da carga de compósito, sua relação de proporcionalidade, a interação entre suas

interfaces e o processo de fabricação como principais parâmetros que irão influenciar nas propriedades do material compósito (AMROLLAHI et al., 2019; HSISSOU et al., 2021; LE GUEN et al., 2016).

Existem dois tipos gerais de compósitos, diferenciados pelo tipo de materiais utilizados na construção e pelo mercado geral em que podem ser encontrados. Os compósitos mais comuns, como os usados em placas de circuito, chuveiros e barcos, são reforçados com tecido de fibra de vidro, usam um tipo de resina de poliéster como matriz e podem ser chamados de compósitos básicos. Com grandes sobreposições para os dois tipos; por exemplo, há uma porcentagem significativa em peso de plástico reforçado com fibra de vidro na maioria dos aviões comerciais, e carbono/grafite ou aramida, poliamida aromática ou comercialmente conhecido como *kevlar*, têm sido usados no reforço de vigas de treliça laminadas para construção civil. Os compósitos estruturais modernos, referidos como compósitos avançados, se distinguem dos compósitos básicos devido ao seu uso frequente de materiais de matriz pouco utilizados, em geral mais caros, mas com propriedades excepcionais, como carbono/grafite, podendo ser encontrados em locais estruturalmente mais exigentes onde a relação entre o peso e a resistência mecânica é um fator importante (PETERS, 2002).

Compósitos avançados são uma mistura de dois ou mais componentes, onde um componente é feito de fibras longas e rígidas, e o outro, em casos de compósitos com matriz polimérica, é um aglutinante ou matriz resinosa que mantém as fibras no lugar, como termoplásticos. As fibras são fortes e rígidas em relação à matriz e geralmente são ortotrópicas, que possuem propriedades diferentes ao longo do eixo longitudinal (DEBNATH, 2017). A Figura 5 a seguir simplifica a composição geral de materiais compósitos.

Figura 5 - Esquema ilustrativo da composição de compósitos.



Fonte: Adaptado de Hsissou et al., 2021.

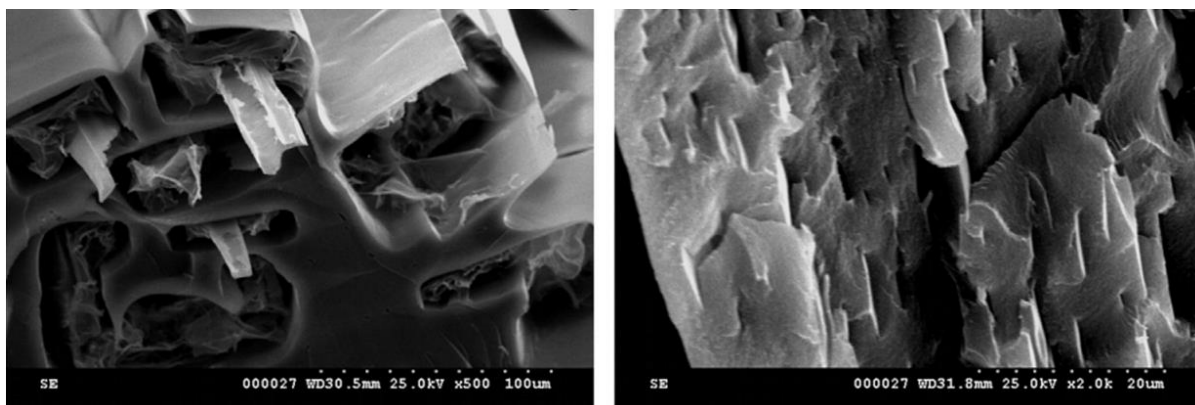
O campo da engenharia atingiu um novo patamar com a introdução da tecnologia dos compósitos com propriedades únicas e particulares. Em particular, nas duas últimas décadas, nas quais, a área da ciência dos polímeros foi ampliada com as nanotecnologias e a descoberta das propriedades em escala nanométrica. Com isso, os compósitos poliméricos e nanocompósitos têm estado em constante inovação, substituindo gradativamente materiais de uso convencional (BATRA, 2008; DE OLIVEIRA; BEATRICE, 2018). Estudos na área têm-se desenvolvidos para criar compósitos compatíveis para a variedade de aplicações em que o material compósito mostrou ser potencialmente apto para a projeção de novos materiais com amplas propriedades (SULTANA *et al.*, 2023).

Foi demonstrado que as propriedades morfológicas, fisicoquímicas e antimicrobianas desses compósitos podem ser adequadamente melhoradas e desenvolvidas pela adição de nanopartículas ou nanoestruturas de reforço (SULTANA *et al.*, 2023). Para adaptar as características químicas, físicas e biológicas de nanopartículas de metais (MNPs), várias estratégias foram adotadas, incluindo método sol-gel, mistura de soluções, mistura por fusão e polimerização *in situ*, buscando sempre o desenvolvimento de métodos de síntese econômicos e ecologicamente corretos (SINHA *et al.*, 2009).

Geralmente, as MNPs como cargas são empregadas para melhorar as propriedades eletroquímicas, mecânicas e antimicrobianas dos compósitos poliméricos ou nanohíbridos sugeridos, tornando-os excelentes materiais, e em alguns

casos biodegradáveis. Normalmente, a biodegradação leva a produtos mais baratos do que o despejo de sobras de plástico e o retorno de materiais poliméricos ao ciclo regular do carbono. Espera-se que os produtos resultantes tenham usos potenciais em tecnologias emergentes, incluindo eletrônica, dispositivos médicos, acessórios ópticos, sensores e materiais de uso hospitalar (SULTANA *et al.*, 2023). Em Stroescu *et al.* (2015), um material compósito à base de quitosana e vanilina foi desenvolvido para avaliação da propriedade antimicrobiana, como é apresentado na Figura 6, o material base, quitosana, tendo seu aspecto em filamentos característico de fibras com a presença de pequenos cristais de vanilina.

Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de um compósito à base de quitosana-vanilina



Fonte: Stroescu *et al.* (2015).

Em especial o desenvolvimento de filmes finos poliméricos tem-se tornado uma árdua tarefa para a comunidade científica. As propriedades dos filmes híbridos poliméricos podem variar de acordo com a espessura e aos tipos de partículas associadas ao filme, bem como às proporções de NPs, permitindo assim inúmeras aplicações em muitas indústrias. Nanocompósitos poliméricos-inorgânicos podem ser fabricados em nova escala com o desenvolvimento de filmes finos para aplicações alimentícias e médicas, por meio de processos simples que se utilizam da física única dos nanocompósitos poliméricos (SULTANA *et al.*, 2023).

2.2.1 Polimetilmetacrilato (PMMA)

O poli(metilmetacrilato) é um material termoplástico transparente de resistência mecânica moderada com resistência a diversas condições climáticas. Normalmente,

as aplicações de PMMA otimizam transparência de produtos acabados, com até 92% de transmissão de luz, dependendo da espessura da amostra (BAKER; MEAD, 2002). O PMMA é um dos polímeros amorfos descobertos no início da década de 1930 e está entre os polímeros que apresentam alta resistência à exposição solar. É conhecido por suportar temperaturas entre 70 e 100 °C. Além disso, possui propriedades ópticas com índice de refração variando entre 1,3 e 1,7 (MAEDA, 2016). Devido à sua alta resistência ao impacto, leveza e resistência ao estilhaçamento, o PMMA incolor é um dos melhores materiais ópticos orgânicos e é amplamente utilizado como substituto do vidro inorgânico. Sendo assim, considerado um dos polímeros mais aplicados para projetos de compósitos com MNPs, devido a diversas propriedades como segurança e inércia química.

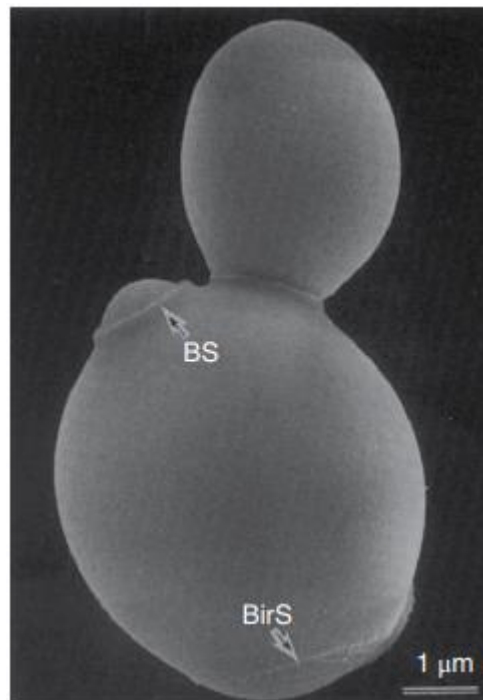
2.2.2 Álcool Polivinílico (PVA)

O poli (álcool vinílico) (PVA) foi um polímero muito usado durante a segunda metade do século XX. O PVA é um polímero artificial com *band gap* de 5,1 eV, índice de refração de 1,48 e constante dielétrica de 2,44 (GHANIPOUR; DORRANIAN, 2013). O PVA tem sido aplicado nos setores industrial, comercial, médico e alimentício, usado para produzir fios cirúrgicos, produtos de papel e materiais de embalagem de alimentos. Ele tem atraído atenção considerável devido à sua facilidade para a formação de filmes, boa processabilidade, biocompatibilidade e boa resistência química (ETEFAGH et al., 2017; DEMERLIS; SCHONEKER, 2003). Este polímero é amplamente utilizado para mistura com outros compostos poliméricos, como biopolímeros e outros polímeros com propriedades hidrofílicas. A adição de um material inorgânico, como MNPs à matriz polimérica é vantajosa para melhorar ainda mais as propriedades químicas, estruturais e físicas (ALSAAD et al. 2021; SULTANA et al., 2023). O PVA possui grupos de hidroxila (OH) dispostos regularmente de um lado a outro do plano, fornecendo assim redes de ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas. Isto pode induzir alta clareza óptica e resposta de polarização nos filmes finos polimerizados híbridos resultantes. Consequentemente, os polímeros PVA podem ser aplicados para meios fotocatalíticos (ALSAAD et al. 2021).

2.3 FUNGOS E SAÚDE PÚBLICA

Fungos são microrganismos eucarióticos caracterizados pela formação de hifas, estruturas filamentosas constituídas por uma sucessão de células interligadas, que juntas constituem o micélio. Estas estruturas representam a forma invasiva dos fungos patogênicos e são aquelas observadas em preparações histológicas de tecido infectado, embora alguns fungos miceliais também possam esporular no tecido invadido, o que facilita sua disseminação. Porém, um importante grupo de fungos patogênicos não produz hifas e se caracteriza por apresentar apenas estruturas unicelulares, ou leveduras (GUARRO, 2012). A Figura 7 abaixo apresenta uma estrutura comum de levedura, do *Saccharomyces cerevisiae*, e sua forma elipsóide, onde BS é a cicatriz de broto (*Bud Scar*) e BirS é a cicatriz de nascimento da levedura (*Birth Scar*).

Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura de uma célula de levedura.



Fonte: Walker e White (2017).

A fisiologia fúngica pode variar conforme a nutrição, metabolismo, crescimento e reprodução do organismo. Podendo se relacionar também com a interação dos fungos com o seu ambiente biótico e abiótico, incluindo respostas das células ao estresse ambiental. A fisiologia das células fúngicas impacta significativamente o meio

ambiente, os processos industriais e a saúde humana, em aspectos ecológicos, os ciclos bioquímicos do carbono na natureza são realizados com por fungos, que atuam como decompositores primários da matéria orgânica (WALKER; WHITE, 2017). Além disso, nas operações agrícolas, os fungos desempenham papéis importantes como simbiontes mutualistas, patógenos e saprófitos, onde mobilizam nutrientes e afetam o ambiente físico-químico, podendo ser explorados como agentes de controle e fertilizantes biológicos (NEWBOUND; MCCARTHY; LEBEL, 2010).

O metabolismo dos fungos também é responsável pela desintoxicação de poluentes orgânicos e pela biorremediação de metais pesados e outros produtos químicos problemáticos no meio ambiente, que acometem águas residuais e subterrâneas. A produção de muitos produtos industriais economicamente importantes depende da exploração do metabolismo de leveduras e fungos e estes incluem produtos tão diversos como alimentos integrais, aditivos alimentares, bebidas fermentadas, antibióticos e biocombustíveis. Em contrapartida, fungos podem causar doenças, deterioração consideráveis nos mais diversos materiais, mercadorias, edifícios e, claro, abastecimento de alimentos (WALKER; WHITE, 2017).

Os fungos desempenham um papel fundamental na manutenção da biosfera, pois são os principais decompositores da matéria orgânica, permitindo assim completar o ciclo da matéria e da energia. Outra característica importante dos fungos é a produção de metabólitos secundários de interesse na medicina e na biotecnologia. Como aspecto negativo, devemos destacar a capacidade de um número significativo de fungos produzirem doenças em humanos e animais que podem resultar em alergias ou infecções fúngicas ou micoses (GUARRO, 2012).

A onipresença dos fungos no meio ambiente deve-se a sua evolução e adaptação para viver numa grande variedade de ambientes e nichos ecológicos, constituindo um grupo muito diversificado de organismos. Existem menos de 100.000 espécies de fungos identificadas até o momento; no entanto, é provável que isto seja apenas a ponta do iceberg e foi estimado de forma conservadora que existem provavelmente pelo menos 1,5 milhões de espécies de fungos habitando o nosso planeta. Dado este vasto número de espécies e a sua prevalência no ambiente, não é de surpreender que os humanos entrem involuntariamente em contacto com muitos tipos diferentes de fungos microscópicos todos os dias e que os humanos ofereçam uma fonte potencial de nutrientes para algumas destas espécies de fungos (SULLIVAN; MORAN; COLEMAN, 2017).

Os patógenos fúngicos são uma ameaça significativa à saúde pública, possivelmente impulsionada pela pandemia de COVID-19 e pelo aumento da resistência aos agentes antifúngicos (HOENIGL, *et al.* 2022; CDC, 2022). Durante a pandemia de COVID-19, as infecções fúngicas invasivas aumentaram significativamente em pacientes hospitalizados (HOENIGL, *et al.* 2022). As infecções fúngicas tornaram-se cada vez mais comuns e resistentes ao tratamento com os principais agentes antifúngicos disponíveis no mercado e a falta de candidatos terapêuticos torna-os um problema (FISHER, *et al.* 2022). A maioria dos patógenos fúngicos carece de diagnóstico rápido e sensível, e os que existem não estão amplamente disponíveis ou acessíveis globalmente (FISHER, *et al.* 2022). As infecções fúngicas invasivas afetam frequentemente pacientes imunossuprimidos ou gravemente doentes, incluindo aqueles com cancro, HIV, infecção tuberculosa pós-primária, transplantes de órgãos e doenças respiratórias crônicas (WHO, 2022). A incidência e a gama global de doenças fúngicas vem aumentando devido ao aquecimento global, o intenso tráfego internacional e ao aumento da resistência ao tratamento, o que significa que os riscos de desenvolvimento de infecções mais invasivas na população em geral tendem aumentar (WHO, 2022).

As infecções fúngicas têm recebido pouca atenção, particularmente nos últimos anos, e muitas vezes uma espécie ou variação desconhecida das doenças fúngicas mais comuns pode surgir, evoluindo para um novo tipo de doença ou fortalecendo patógenos já existentes contribuindo para sua resistência antifúngica à medicamentos desenvolvidos. Como forma de auxiliar na prevenção, a OMS organizou uma Lista de Patógenos Fúngicos Prioritários, que identifica patógenos fúngicos críticos, de alta e média prioridade classificados de acordo com seu impacto na saúde pública e/ou risco de resistência antifúngica emergente (WHO, 2022), apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 - Lista de Patógenos Fúngicos Prioritários pela OMS.

Prioridade Crítica	Prioridade Alta	Prioridade Média
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Coccidioides spp.</i>
<i>Candida auris</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Lomentospora prolificans</i>
	<i>Histoplasma spp.</i>	<i>Paracoccidioides spp.</i>

Fonte: Adaptado de WHO (2022).

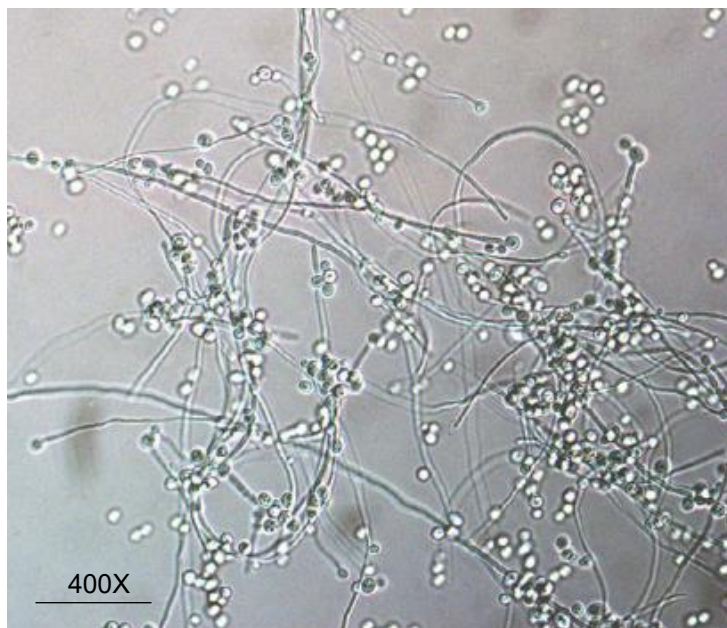
Existem três ações principais recomendadas pela OMS: investir em inovação, pesquisa e desenvolvimento; melhorar a capacidade laboratorial e a capacidade de realizar vigilância de infecções; e melhorar as intervenções de saúde pública para prevenção e controle de infecções fúngicas. Os critérios mais importantes para alocação de pesquisa e desenvolvimento incluem resistência antifúngica, mortalidade de pacientes, tratamento baseado em evidências, acesso a diagnósticos, incidência anual e complicações e sequelas de infecção (WHO, 2022).

2.3.1 *Candida albicans*

O gênero *Candida* engloba aproximadamente 200 espécies de leveduras, a maioria das quais não possui fase reprodutiva teleomórfica (ou seja, sexuadamente) conhecida. Eles são onipresentes no meio ambiente (frequentemente associados a plantas e animais), mas pouco mais de uma dúzia foram associados ao comensalismo ou a doenças humanas (SULLIVAN; MORAN; COLEMAN, 2017).

A maioria destas espécies de *Candida* são transportadas de forma assintomática por seres humanos, particularmente nas superfícies epiteliais da boca, trato gastrointestinal, trato vaginal e pele (GNAT *et al.*, 2021). Eles normalmente crescem como blastósporos ovóides, entretanto, sob condições específicas, a maioria pode produzir células filamentosas conhecidas como hifas, enquanto *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* podem produzir micélio e estruturas refráteis semelhantes a esporos conhecidas como clamidósporos, na Figura 8 é possível observar os filamentos de hifas e os clamidósporos em forma de esporo circular (SULLIVAN; MORAN; COLEMAN, 2017).

Figura 8 - Imagem microscópica da forma micelial de *C. albicans*, ampliação de 400x.



Fonte: Gnat et al. (2021).

A contaminação com resposta de sintomas ocorre depois que as células de *Candida* se instalam nas mucosas ou na pele, e se sobrepondo ao sistema imunológico, que já possa estar debilitado, causando uma ampla gama de infecções (DA ROCHA et al., 2021). Estas variam desde infecções superficiais da pele e das membranas mucosas da cavidade oral e da vagina até casos em que as células penetram através do epitélio e são disseminadas por todo o corpo pelo sangue para infectar uma grande variedade de órgãos, incluindo o rim, o fígado e cérebro (SULLIVAN; MORAN; COLEMAN, 2017; DA ROCHA et al., 2021).

As espécies associadas ao gênero *Candida* podem causar infecções fúngicas como candidíase vulvovaginal, candidíase orofaríngea, que ataca regiões da boca e garganta, e infecções nas unhas dos pés e das mãos (DA ROCHA et al., 2021).

Mudanças na epidemiologia da candidíase e o aumento da prevalência de infecções por *Candida* não-*albicans* (CNA) nos últimos anos foram observados na Europa, América do Norte, América do Sul e Ásia (GNAT et al., 2021). Conforme revisto por Pal et al. (2015), estima-se que as espécies CNA, entre 1970 a 1990, representaram 10 a 40% de todas as candidíases sistêmicas, seguidas por 35 a 65% de 1995 a 2015. A crescente prevalência de infecções causadas por espécies NAC representa uma séria ameaça devido ao fato de muitas destas espécies apresentarem

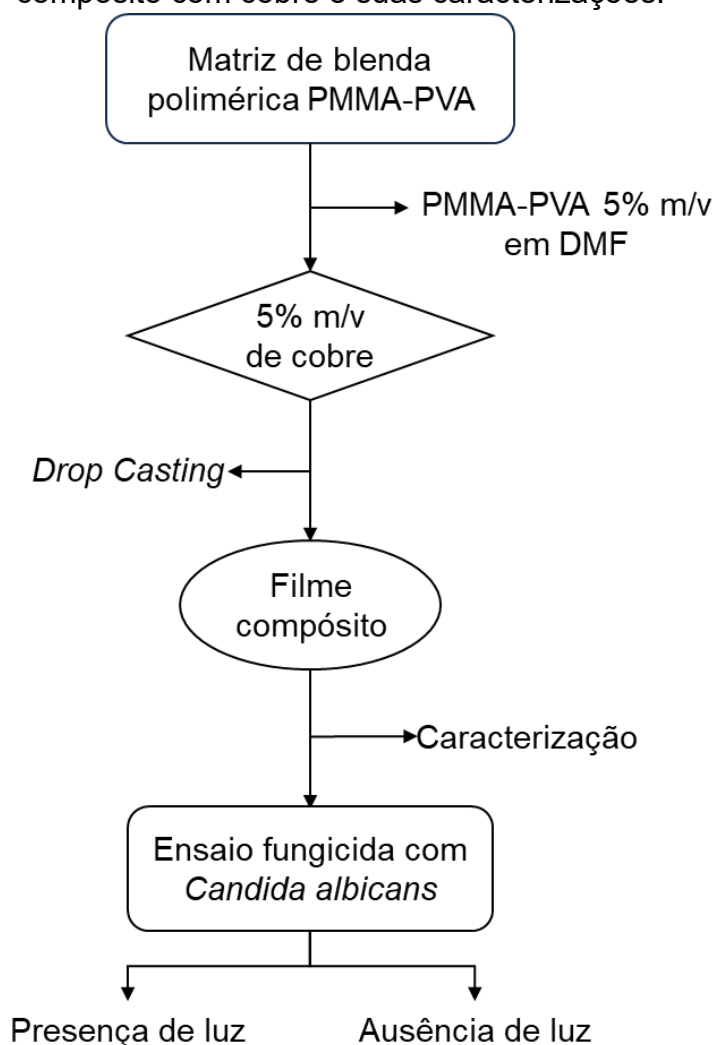
resistência intrínseca ou adquirida aos antifúngicos habitualmente utilizados (ARENDRUP, 2014; LEE *et al.*, 2020).

O perfil de suscetibilidade de *Candida sp.* aos medicamentos antifúngicos utilizados para o tratamento de micoses sistêmicas tem-se agravado nas últimas duas décadas, indicando uma crescente no surgimento de novas espécies do gênero com maior resistência (GNAT *et al.*, 2021; STRAVOU *et al.*, 2019). Os fatores de risco mais comuns dessas infecções incluem idade avançada, desnutrição, obesidade, diabetes e deficiência imunológica (GNAT *et al.*, 2021). De 1997 a 2016, a proporção total de candidíase invasiva atribuível a *C. albicans* diminuiu de 57,4 para 46,4%, enquanto as infecções causadas por outras espécies do gênero *Candida*, se tornaram mais resistentes aos medicamentos, e como sequência tiveram uma crescente no número de casos (LAMOTH *et al.*, 2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentadas as formas de preparação e processamento aplicados aos filmes compósitos com as micropartículas de cobre comercial, seguido de sua respectiva caracterização, sendo descritas a metodologia empregada para a obtenção do filme compósito de matriz polimérica para a incorporação das partículas, assim como as técnicas de caracterização empregadas para avaliação do filme compósito. E por último será apresentado a metodologia de ensaio empregada para avaliação da fotoatividade deste material frente ao combate de fungos quando submetido a diferentes condições de iluminação. A Figura 9 ilustra, de forma esquemática, as etapas envolvidas para a realização do trabalho.

Figura 9 - Fluxograma de atividades desenvolvidas para a obtenção do filme compósito com cobre e suas caracterizações.



3.1 PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILME COMPÓSITO

Para avaliar a fotoatividade do cobre contra patógenos fúngicos sob diferentes condições de iluminação, as partículas de cobre foram adquiridas comercialmente. Sendo estas, fornecidas pela Metalpó com tamanho médio inferior a 44 μm , com pureza de 99,5%, conforme dados repassados pelo fornecedor.

O filme compósito foi caracterizado por técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para análise morfológica e da estrutura transversal seguido de espectroscopia por energia dispersiva (EDS) para composição elementar, difração de raios X (DRX), espectroscopia UV-Vis, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GDOES).

3.1.1 Fabricação do filme compósito

Visando a avaliação da influência da luz na atividade fungicida das partículas de cobre, serão utilizadas lamínulas e lâminas de vidro como substrato, devido à sua propriedade de transparência e translucidez. As lâminas possuem dimensão retangular de 75 mm por 25 mm com 1 mm de espessura, enquanto as lamínulas são circulares com 13 mm de diâmetro e 0,1 mm de espessura. As dimensões das amostras foram definidas de acordo com o exigido pelo ensaio a ser realizado.

Inicialmente, as amostras foram limpas em banho de ultrassom com álcool isopropílico por 30 minutos. Após a etapa de limpeza ultrassônica, as amostras foram limpas com papel macio manualmente uma a uma, para retirada de resíduos superficiais. Por fim, após a limpeza manual, os substratos foram postos para secar a 100 °C em uma estufa por 1 hora.

Os filmes foram depositados por *drop casting*. Os polímeros a serem utilizados foram adquiridos comercialmente, os quais; o PVA possui uma massa molar média de 12 a 18,0 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, com ponto de fusão de 230 °C e 99% de pureza, enquanto, o PMMA possui uma massa molar média de 18 a 20,0 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, com ponto de fusão de 213 °C e 99% de pureza. Dados estes informados pelo fornecedor.

Em um primeiro momento, foram avaliados na bibliografia os métodos mais convenientes a fim de se chegar a uma matriz polimérica ideal para o desenvolvimento dos filmes compósitos. Como primeiro método, foi avaliado a possibilidade de

solubilizar os polímeros, PMMA e PVA, de forma parcial em separado, onde seria utilizado água DI para o preparo da solução de PVA, e DMF para o preparo da solução de PMMA com base nos relatos encontrados em literatura, porém, ao realizar a junção de ambas as soluções houve uma precipitação praticamente instantânea e que foi identificada como sendo a incompatibilidade do PMMA com água.

Posterior a isso, foi proposto a solubilização dos polímeros em um mesmo solvente, o DMF, de forma conjunta, visto que a solubilidade de ambos os polímeros é considerada satisfatória para o solvente empregado. Desta maneira, foi estipulado a concentração de polímero de 2,5% (m/v) para ambos, a solução ocorreu sob agitação constante com um agitador magnético à 100°C, temperatura essa observada ao longo dos testes que apresentou melhor desempenho, e após 4 horas foi possível observar a formação de uma solução com aspecto cristalino e incolor, indicando a solubilização completa.

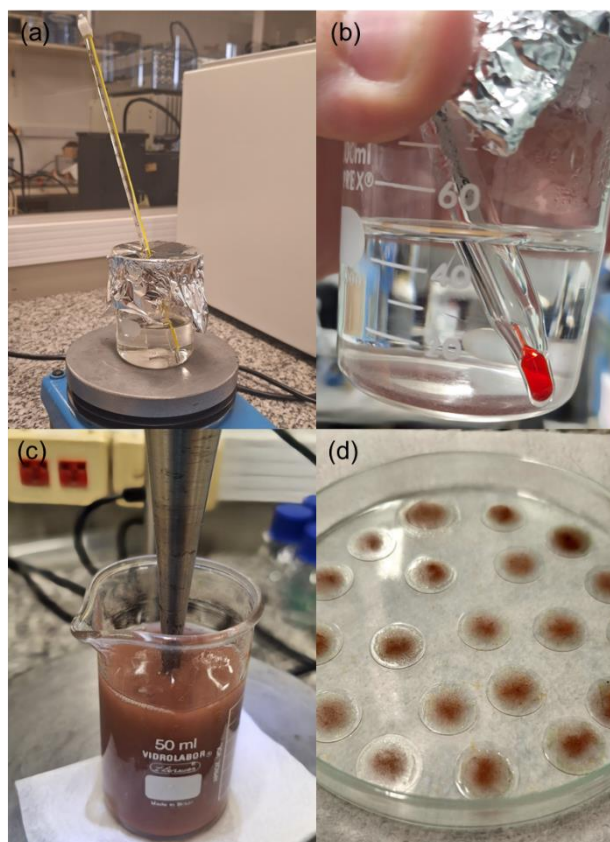
No entanto, após o processo de resfriamento, foi averiguado que a solução apresentava efeito tixotrópico/gelificação decorrente de uma baixa estabilidade dos polímeros em solução conjunta, com isso, foi proposto a alteração da proporção de concentração dos polímeros, sendo avaliado conforme o disponível em literatura para termos de comparação. Em Kadhim, Al-Bermany (2021), o estudo obteve um filme semelhante, solubilizado em DMF, e que para driblar o efeito de gelificação além de outros aspectos, se utilizou de concentrações maiores de PMMA em detrimento do PVA, com isso em base, o presente estudo buscou testar a proporção de 4% (m/v) PMMA e 1% (m/v) PVA em DMF à 100°C por 4 horas.

A solução obtida foi considerada satisfatória e propícia para o desenvolvimento do filme compósito, com matriz polimérica passível de ser aplicada pela técnica de *drop casting*.

Para a adição do cobre, foi usado como base os estudos realizados por Schio (2023), os quais apresentaram resultados para ação antimicrobiana com concentração de 2% (m/v), diante disso, para este estudo também foi definida a concentração de 2% (m/v) de cobre. Os parâmetros para a ultrassonificação da solução com as micropartículas de cobre também foram adaptados de Schio et al. (2024), mas com ajustes para a solução do presente trabalho, uma vez que ela apresentou aspecto reológico viscoso. Após todas as avaliações da solução e conclusão da etapa, as soluções foram aplicadas nos respectivos substratos definidos para cada caracterização e posteriormente postos para secar em estufa controlada.

Foi desenvolvido da mesma forma um filme branco, na ausência de partículas metálicas. A Figura 10 a seguir, apresenta as etapas descritas acima na preparação da matriz polimérica, sua completa homogeneização, dispersão por ultrassom das partículas de cobre e aplicação dos filmes.

Figura 10 - Etapas envolvidas na preparação de amostras do filme composto, sendo, (a) homogeneização dos polímeros em DMF, (b) a solução de matriz polimérica após completa solubilização, (c) dispersão do cobre por ultrassom e (d) aplicação dos filmes compostos



Fonte: O autor (2024).

Para caracterização dos filmes compostos, foram definidas as nomenclaturas das amostras conforme Tabela 1, na sequência, realizaram-se ensaios de espectroscopia UV-Vis por meio da técnica gráfica de Tauc, espectroscopia por difração de Raio-X, espectroscopia de infravermelho (FTIR), espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GDOES), além da caracterização morfológica e da estrutura transversal por MEV seguido por espectroscopia por energia dispersiva (EDS).

Tabela 1 - Nomenclatura de amostras conforme sua composição

Amostra	Definição	Composição (em DMF)
A0	Amostra branco	4% (m/v) PMMA + 1% (m/v) PVA
A1	Amostra com cobre	4% (m/v) PMMA + 1% (m/v) PVA + 2% (m/v) mpCu

Fonte: O autor (2024).

3.1.2 Análise morfológica e elementar do filme compósito por microscopia eletrônica de varredura (MEV) seguido de espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

A transversalidade do filme compósito e a caracterização por espécie química do material foram avaliadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em um microscópio MIRA3 LMH marca TESCAN, localizado no Laboratório Central de Microscopia (LCMIC) Professor Israel Baumvol da Universidade de Caxias do Sul. Para esse ensaio, as amostras de filme compósito foram aplicadas sobre substrato de silício, seguido do posterior corte e embutimento para análise do perfil transversal do material. O equipamento dispõe de software operacional MiraTC e detectores de energia dispersiva marca Oxford modelo Ultim MAX 65, utilizados pelo laboratório LCMIC para geração de imagens da seção longitudinal e transversal com diferentes ampliações e as análises de EDS da distribuição da partícula sobre o filme e os sinais elementares mais proeminentes, respectivamente (SCHIO, 2023).

3.1.3 Determinação da cristalinidade e da estrutura química do cobre no filme compósito por espectroscopia de DRX

As análises de DRX foram realizadas em um equipamento Shimadzu, modelo LabX XRD-6000, localizado no Laboratório Central de Microscopia (LCMIC) da Universidade de Caxias do Sul. Para a análise das partículas empregou-se uma radiação Cu K α , $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ com passo angular de $0,05^\circ$ e tempo de contagem de 4 segundos por passo. Os difratogramas foram então coletados na faixa de 20 a 80° e a voltagem e a corrente do tubo ajustada para 40 kV e 30 mA , respectivamente.

3.1.4 Energia da banda proibida da partícula de cobre no filme compósito por espectroscopia UV-Vis

As análises de UV-Vis serão realizadas em um equipamento Shimadzu modelo UV-2600i, localizado no Laboratório de Caracterização de Materiais II da Universidade de Caxias do Sul. Os espectros esperam-se ser obtidos na faixa de comprimento de onda de 200 a 700 nm com resolução de 1 nm. As partículas serão compactadas no próprio porta amostra do equipamento sem qualquer preparo prévio. Uma amostra A0 foi utilizada como referência padrão. O valor da banda proibida foi obtido aplicando o método gráfico de Tauc. Por esse método, é extrapolada uma linha na parte linear da curva $(F(R)h\nu)^2$ (função Kubelka-Munk) em função da energia espectral ($h\nu$) e a intercepção da linha no eixo das abscissas indica o valor da banda proibida (MYRICK *et al.*, 2011; RTIMI; KIWI, 2020).

3.1.5 Análises por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) dos filmes

As análises de FTIR foram realizadas em um espectrômetro de infravermelho Spectrum 400 da Perkin Elmer, como acessório de refletância total atenuada um cristal de diamante. Para a obtenção dos espectros, foram submetidas faixas de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 1 cm^{-1} e 32 varreduras previamente calibrados com cubetas vazias seguido da leitura para o branco como padrão de fundo e para a amostra como absorção. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Caracterização de Materiais II da Universidade de Caxias do Sul.

3.1.6 Análises de espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente (GDOES)

As análises semi-quantitativa por GDOES para a composição do filme, foram realizadas por um equipamento modelo GD-Profilier 2 da Horiba, foi utilizado como substrato aço carbono previamente preparado com técnicas metalográficas. Dos parâmetros, a amostra A0 utilizou pressão de 630 Pa e 50 W de potência para abertura do plasma de *sputtering*, enquanto para a amostra A1 foi utilizada uma pressão de 700 Pa e 40 W de potência.

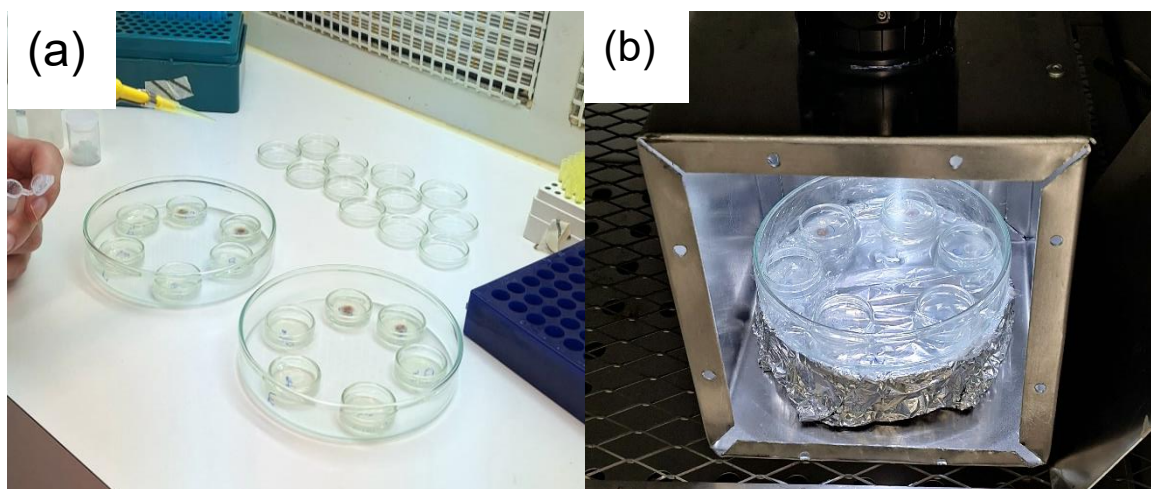
3.2 CONDIÇÃO DE ILUMINAÇÃO, ENSAIO FUNGICIDA E SUA CARACTERIZAÇÃO

O procedimento de ensaio fungicida realizado no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA) na Universidade de Caxias do Sul, com na norma técnica JIS Z 2801 adaptada pelo laboratório para ensaios com fungos.

Inicialmente, foram preparados inóculos em caldo YEPD (Extrato Levedura Peptona Dextrosado) com o fungo a ser testado, os frascos foram mantidos a 28°C e agitação de 250 rpm durante 18 horas. Após, foram separadas 18 placas de Petri de 35 X 10 mm, onde sobre cada placa foram adicionados 2 mL de ágar-água, como meio de cultivo do fungo, em paralelo, uma amostra de 1mL do inóculo foi usada para definir a densidade ótica para contagem populacional por meio de espectômetro de absorção, operado com comprimento de onda a 600 nm, a densidade populacional encontrada foi de 1,11 u.a.

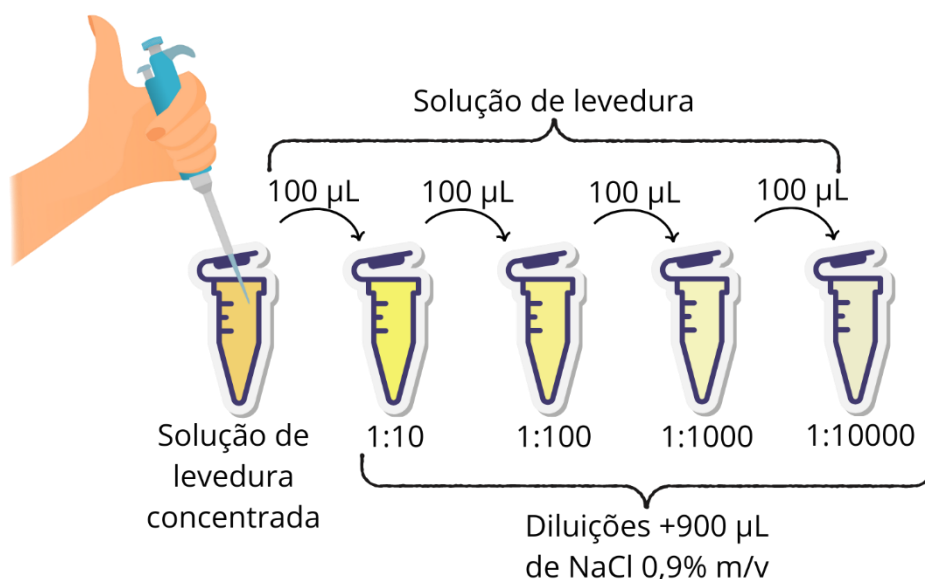
Após os cálculos de concentração, foi necessário preparar uma solução da levedura com volume final de 1 mL para uso em etapas posteriores e melhor controle da densidade populacional completa a ser aplicada sobre o filme, assim sendo, foram preparados em um *eppendorf* (2 mL) 90 µL do inóculo e 910 µL de solução salina (NaCl 0,9% m/v). Sobre cada lamínula, colocados sobre o meio semissólido preparado, foram aplicados 100 µL da suspensão de fungos preparada, as quais, foram incubadas em uma câmara úmida com uma umidade relativa de aproximadamente 100%, a uma temperatura de 28 °C, por um período de 24 horas sob condição especial de iluminação, na presença e ausência de luz. A Figura 11 abaixo apresenta as aplicações da solução de levedura sobre as lamínulas.

Figura 11 - (a) Preparação e (b) incubação das amostras



Fonte: O autor (2024).

Decorridas as 24 horas, as lamínulas contendo os fungos foram lavadas com 2 mL de solução salina, o líquido resultante da lavagem das lamínulas foi utilizado para a realização de diluições seriadas. Foram definidos 4 *ependorf's* para cada condição de diluição, para amostras de A0, A1 e controle (lamínula sem qualquer filme), claro e escuro em triplicata, totalizando 72 amostras. As diluições acontecem de forma seriada, e buscam possibilitar a avaliação do efeito antimicrobiano do material sob diferentes concentrações, a Figura 12 ilustra as diluições seriadas.

Figura 12 - Diluição seriada da solução de *C. albicans*

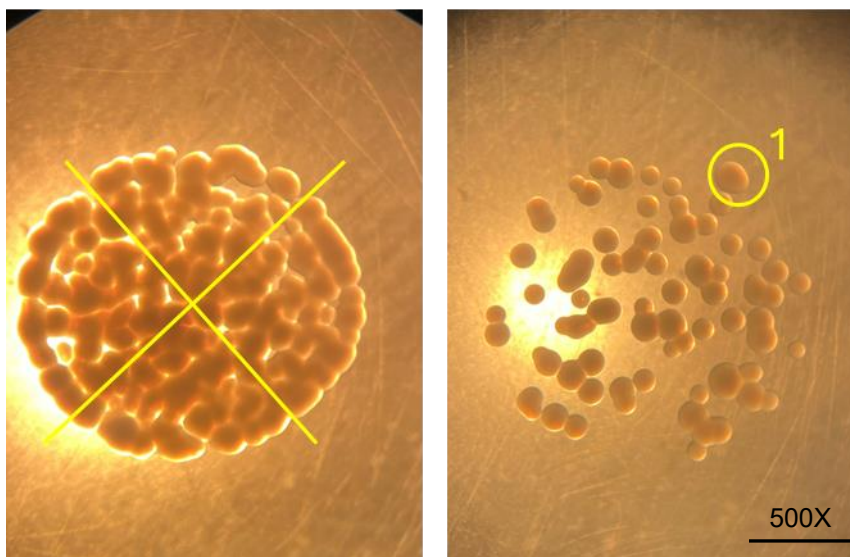
Fonte: O autor (2024).

As diluições foram seguidas de plaqueamento por gota, 5,0 μL /gota de cada fator de diluição em dois seguimentos A e B, por placa contendo meio YEPD. As placas foram incubadas em câmara comum sem quaisquer condições especiais, sendo o tempo e temperatura de incubação respectivamente 24 horas a 28 °C.

Para realizar a contagem do número de colônias existentes, a fim de avaliar a porcentagem de controle dos tratamentos aplicados, em um seguimento de repetição A ou B é necessário primeiro que ao olhar em um microscópio óptico de bancada, a distinção entre uma colônia e outra seja evidente, possibilitando a contagem do agrupamento e por conseguinte a identificação do grau de diluição atribuído para aquela colônia, a Figura 13 ilustra esse efeito e como deve ser feita a contagem de colônias utilizando a amostra de controle que esteve sob iluminação na repetição 1 com o seguimento A.

Figura 13 - Imagem de microscópio óptico sobre como deve ser realizada a contagem de colônias

Lamínula Luz – A_{controle} – 1A



Diluição 1:100

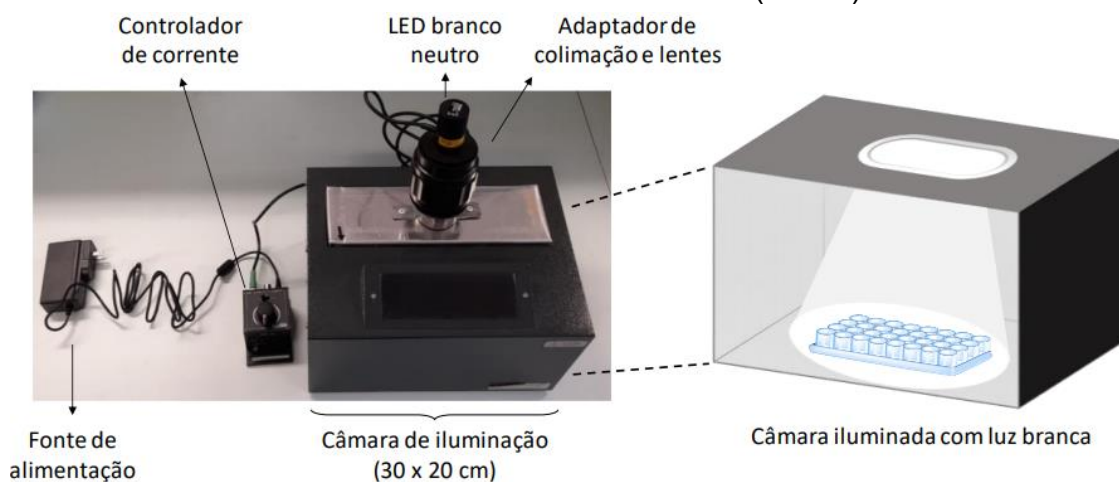
Diluição 1:10000

Fonte: O autor (2024).

As condições de iluminação aplicadas conforme procedimento estabelecido por Schio (2023), onde a fonte de luz utilizada nos ensaios para estudo da fotoatividade da partícula e do filme compósito desenvolvido nesta pesquisa, tratar-se-á de um LED

branco neutro fornecido pela ThorLabs Vendas de Fotônicos Ltda. Desse modo, o material compósito com partículas metálicas foi avaliado em duas condições, na ausência de luz (escuro) e sob iluminação do LED com comprimento de onda correspondente à faixa visível e intensidade de $3,85 \mu\text{W}\cdot\text{mm}^{-2}$, referente à 50% da intensidade máxima, quando à 20 cm de distância de acordo com o fornecedor. Para a execução desses ensaios, foi adotada uma câmara de esterilização previamente adaptada. Acoplando-se à câmara um adaptador óptico de colimação junto a uma lente esférica condensadora. Com o encaixe do LED, este é acionado por uma fonte de alimentação conectada a um controlador de corrente para LED, fornecendo uma iluminação com luz branca. Uma foto do equipamento e uma ilustração da iluminação no interior da câmara adaptada são apresentados na Figura 14.

Figura 14 - Câmara de iluminação adaptada (esquerda) e a representação do feixe de luz incidindo dentro da câmara (direita)



Fonte: Schio (2023).

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO FILME COMPÓSITO

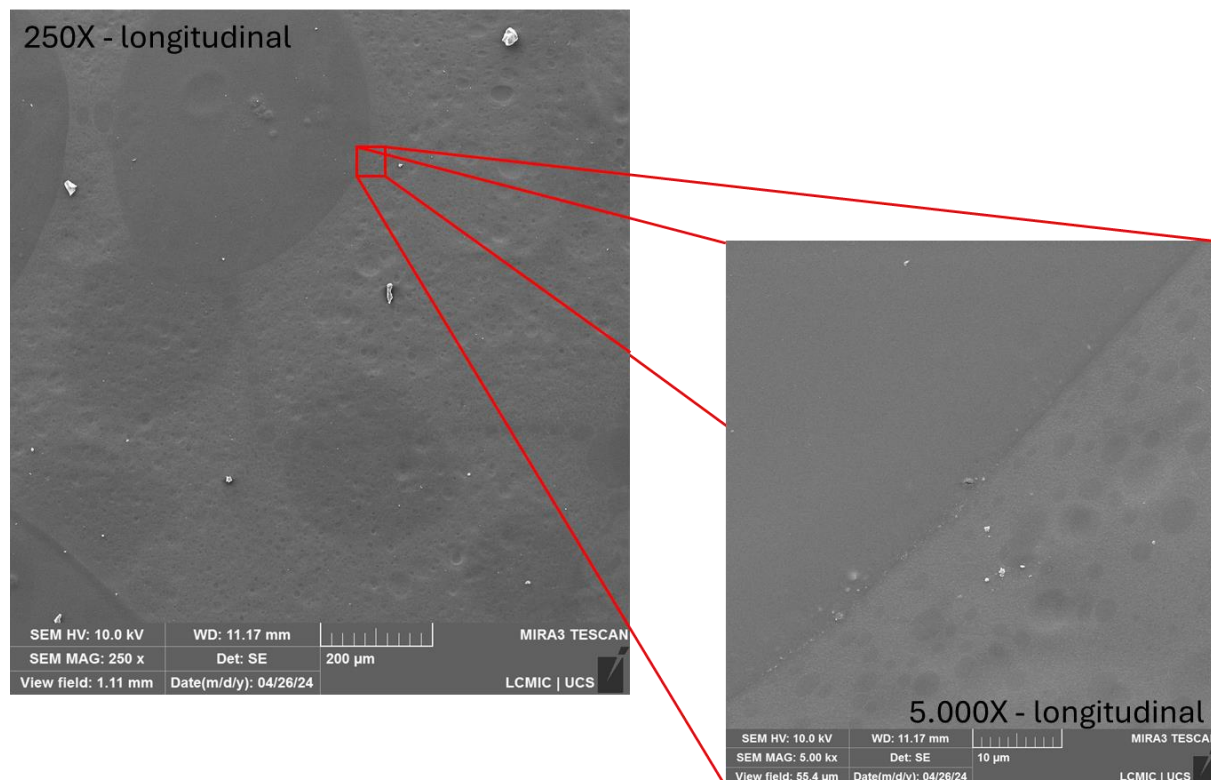
Após o processo de secagem completa dos filmes, as amostras foram encaminhadas para suas respectivas caracterizações, e os resultados serão apresentados a seguir.

4.1.1 Análise de morfologia, composição e espessura de filme por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

As micrografias realizadas por MEV para a amostra A0 são apresentadas na Figura 15 a seguir. A amostra definida como “branco”, composto apenas pela matriz polimérica sem adição de cobre, com concentração de 5% m/v apresentou uniformidade superficial parcial, com regiões que ao longo do filme demonstram homogeneidade e outras uma superfície amorfa.

Foram obtidas micrografias da mesma região do filme com magnificações distintas, buscando caracterizar melhor os aspectos da superfície, na sua seção longitudinal foram utilizadas magnificações de 250 e 5 mil vezes.

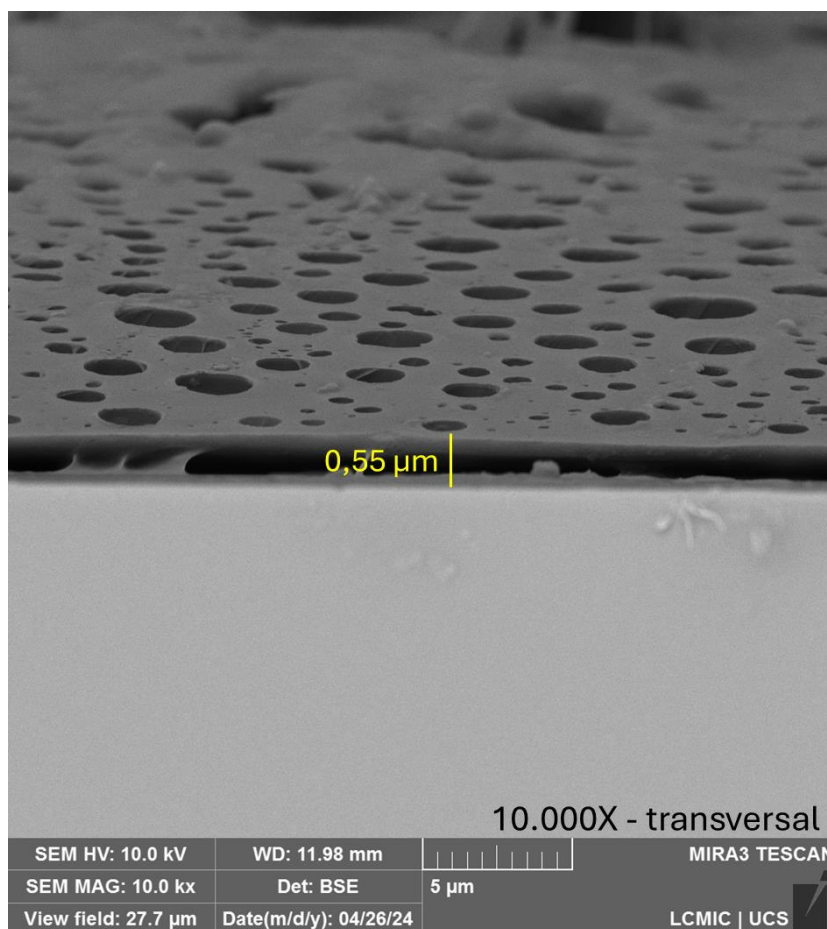
Figura 15 - Micrografias obtidas por MEV da superfície da amostra A0 em diferentes magnificações



Fonte: O autor (2024).

Para a seção transversal foi utilizado a magnificação maior, com o objetivo de avaliar a espessura do filme branco. A seção transversal é mostrada na Figura 16 a seguir, é possível observar uma estrutura morfológica repleta de crateras, que foram decorrentes da presença de bolhas no momento da aplicação do filme e do processo de secagem em estufa, o filme caracterizou-se pela variação de espessura indo de 0,5 µm a 18 µm, o que indica uma homogeneidade não-completa.

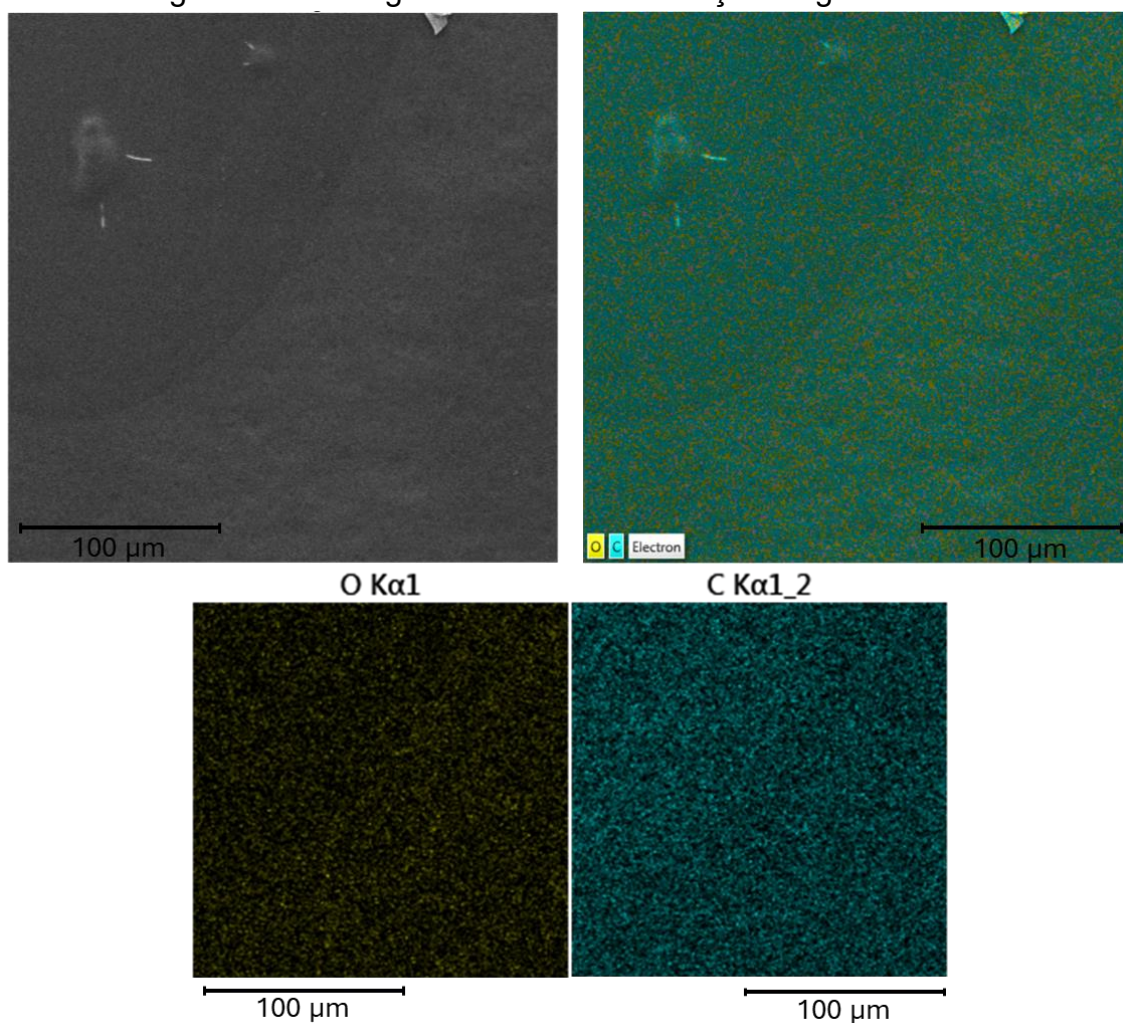
Figura 16 - Microscopia da seção transversal do filme polimérico A0



Fonte: O autor (2024).

A Figura 17 apresenta os correspondentes EDS da seção longitudinal do filme, com aproximação de 100 μm da superfície da amostra, onde a análise química deixa explícita que os elementos em maior quantidade são o carbono e oxigênio.

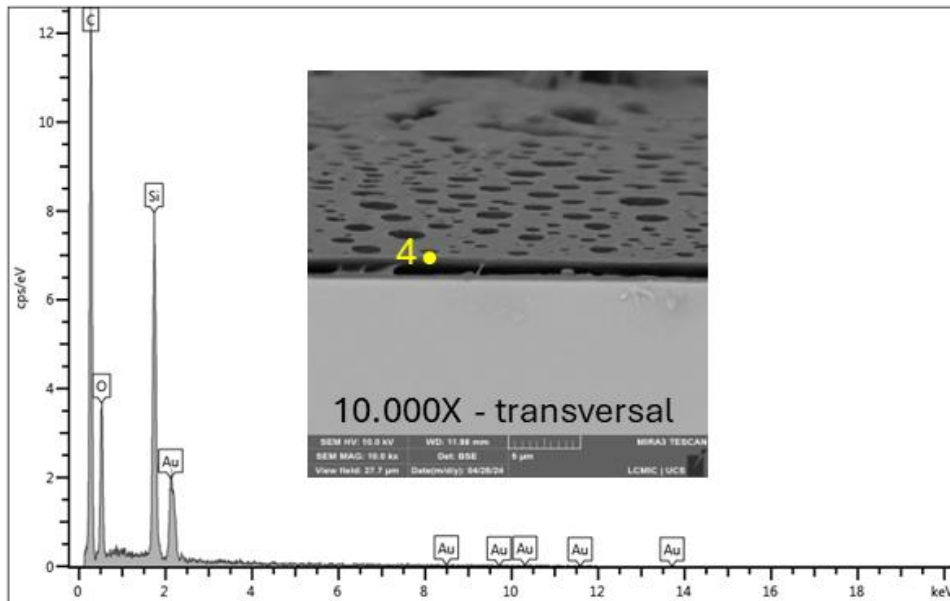
Figura 17 - Micrografias com EDS da seção longitudinal



Fonte: O autor (2024).

Da mesma forma, foram realizados EDS da seção transversal da amostra A0, a fim de caracterizar os elementos presentes no filme polimérico, na Figura 18 os picos de maior intensidade representam os elementos com possível maior índice de concentração na composição do filme.

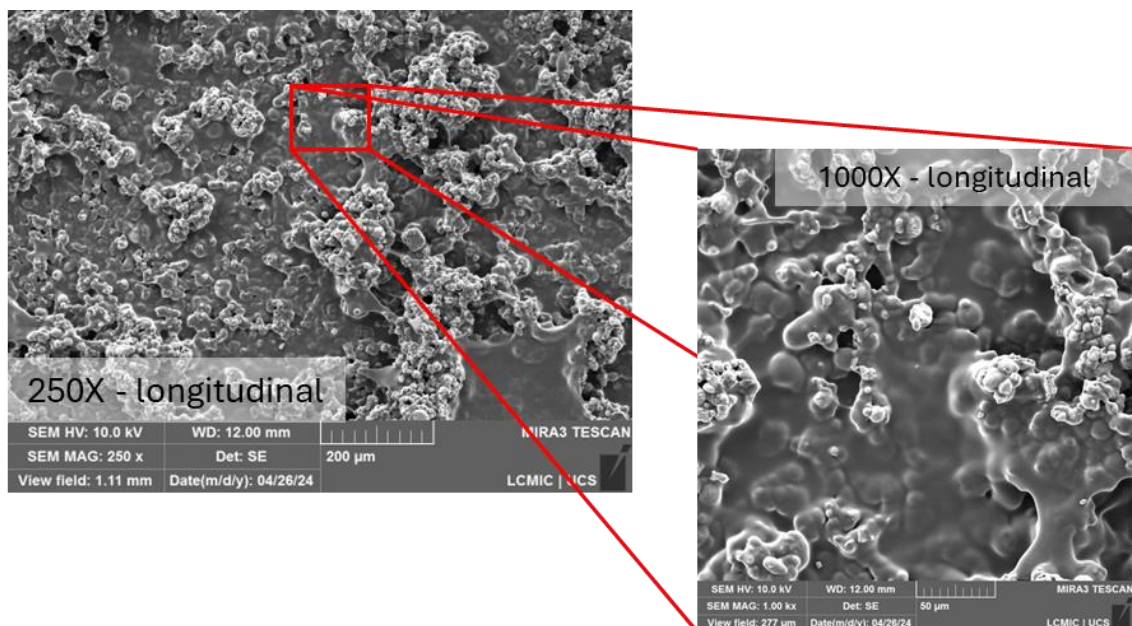
Figura 18 - EDS da seção transversal da amostra A0 e seu índice de intensidade elemental de sinal detectado



Fonte: O autor (2024).

Para a amostra A1, as micrografias mostradas na Figura 19 apresentaram uma superfície com seções amorfas e seções planas, porém, em todas é possível evidenciar a presença de partículas metálicas do cobre adicionado e o seu nível de aglomeração com a matriz polimérica, indicando que houve dispersão das partículas através da solução base do material.

Figura 19 - Micrografias obtidas por MEV em diferentes resoluções da amostra A1

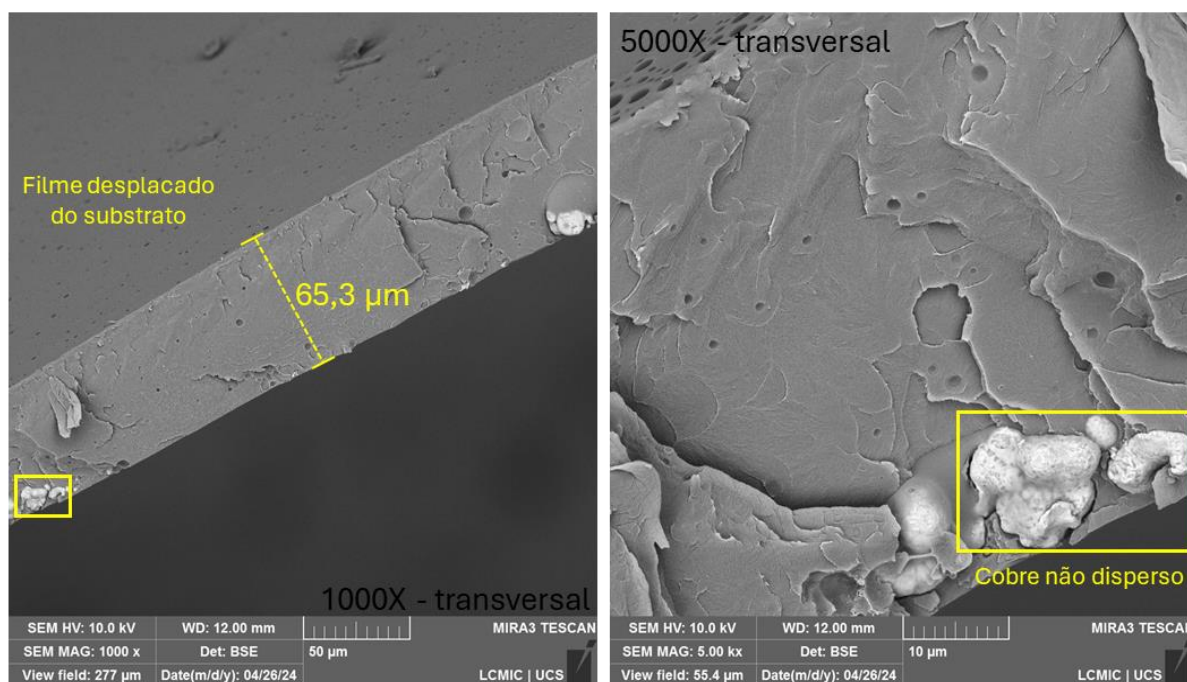


Fonte: O autor (2024).

Com base nas micrografias, pode-se avaliar que a adição das mpCu auxiliou na estabilidade da matriz polimérica, formando filmes mais robustos e com melhor estabilidade estrutural, evidenciados pela espessura obtida no filme e pela condição não tixotrópica, as quais a solução de polímeros com cobre apresentou após a dispersão apresentou, a espessura média do filme foi de $65,3 \pm 0,6 \mu\text{m}$.

Além disso, é possível observar que ocorre de forma parcial dispersão das partículas de cobre, com regiões apresentando elevada aglomeração da mesma, a imagem com magnificação de 5 mil vezes demonstra uma dessas regiões. Na Figura 20, duas micrografias de seção transversal do filme, indicam que em alguns pontos da superfície do filme pode haver variação da concentração de cobre.

Figura 20 - Microscopia da seção transversal do filme deslocado do substrato destacando a partícula de cobre não dispersa.



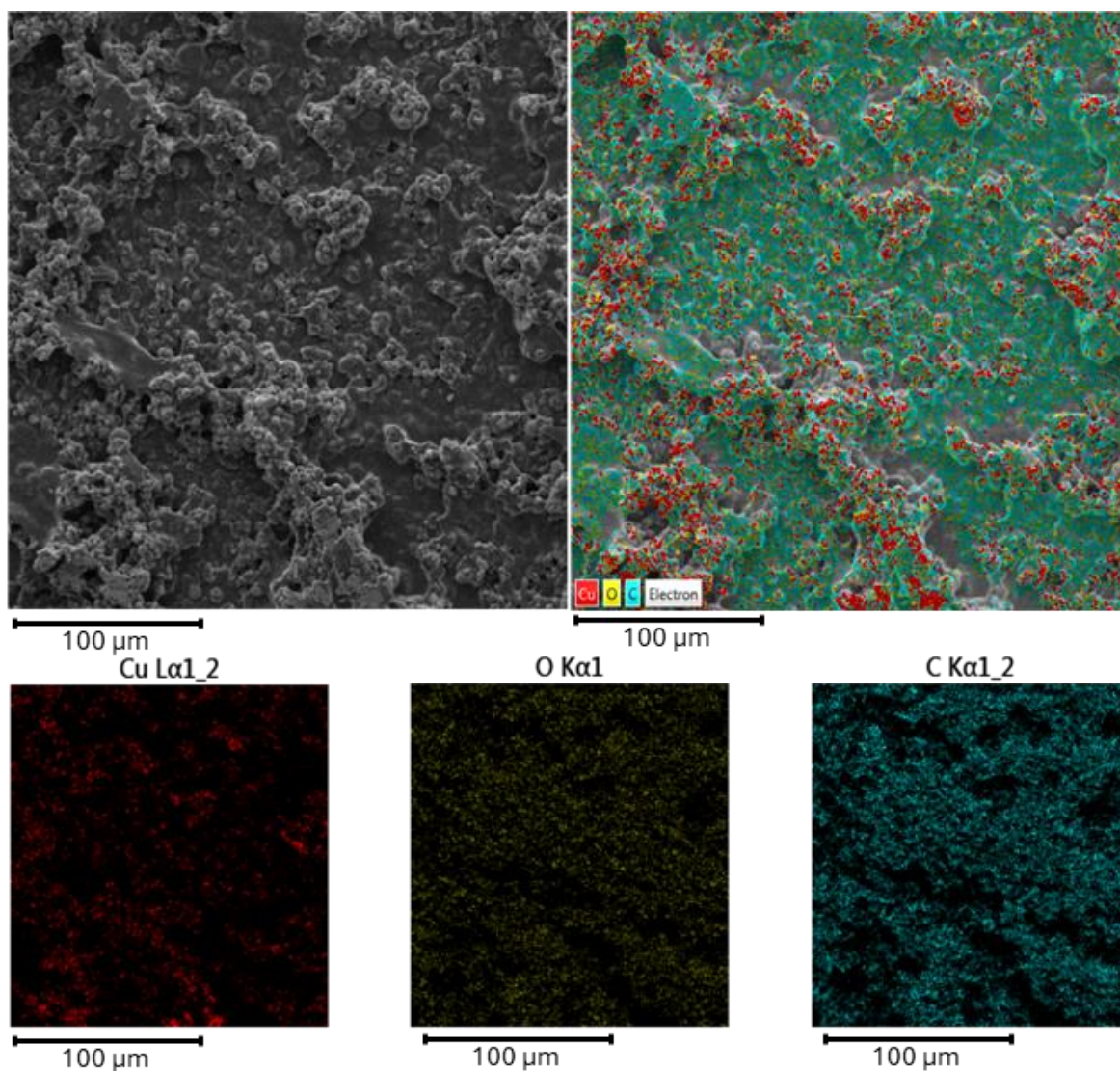
Fonte: O autor (2024).

A presença de cobre não disperso é mais evidenciada em camadas inferiores do filme, quando a aglomeração dessas partículas gera densidades superiores à do filme e em regiões específicas da aplicação.

A Figura 21, apresenta um mapa químico do filme A1 com base nas micrografias com EDS em seção longitudinal, o filme está composto majoritariamente por cobre, carbono e oxigênio. Observa-se na figura que há regiões de acúmulo de

cobre, no entanto, o cobre se encontra distribuído em todo o material na sua seção longitudinal, mesmo que em menor quantidade em alguns pontos.

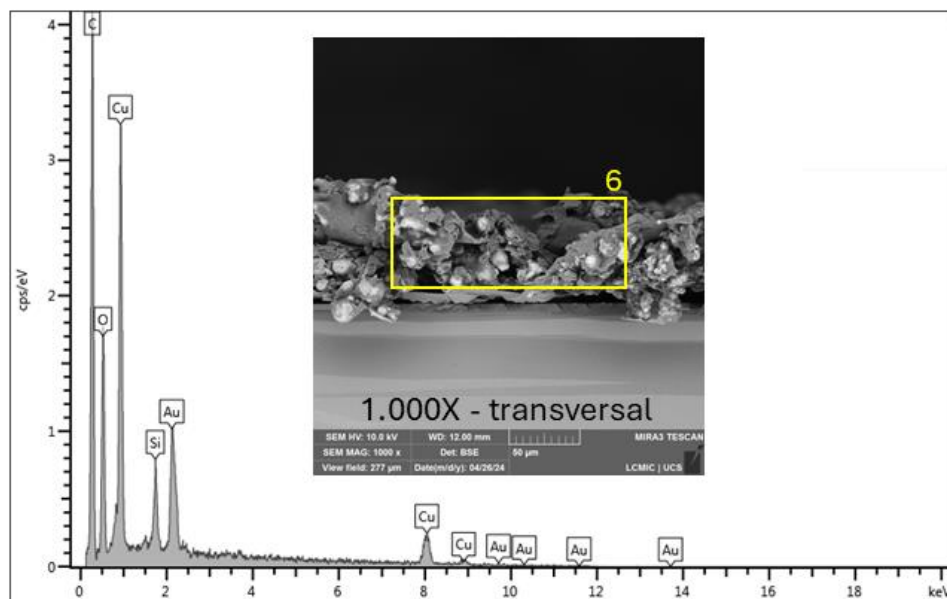
Figura 21 - Micrografias com EDS da amostra A1 apontando as regiões.



Fonte: O autor (2024).

A seguir, na Figura 22, é apresentado o EDS da seção transversal que mostra a presença de cobre em camadas mais internas.

Figura 22 - EDS da seção transversal da amostra A1 e seu índice de intensidade elemental de sinal detectado

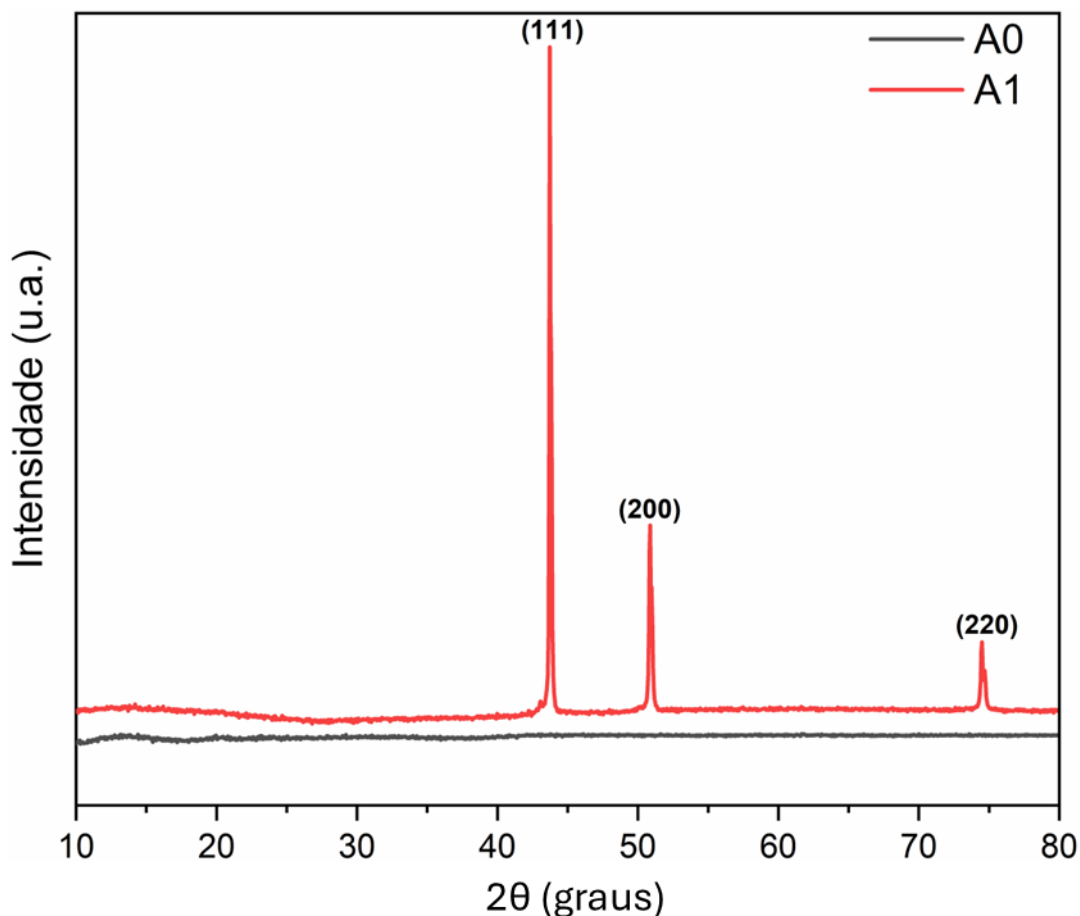


Fonte: O Autor (2024).

4.1.2 Análise da estrutura cristalina por DRX

Os difratogramas de DRX dos filmes compósitos A0 e A1, apresentados na Figura 23, demonstram os picos observados em 2θ igual a 43.72° , 50.88° e $74,49^\circ$ correspondendo aos planos metálicos de cobre (111), (200) e (220). Estes 3 picos estão consistentes com o padrão JCPDS – *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* - (Carta nº 04-0836) para padrões de espectros puros de estrutura cúbicas de face centrada de cobre metálico e as micropartículas de cobre em literatura (UMER *et al*, 2014; KHAN *et al*, 2016). Nenhuma outra fase e/ou contaminação foi observada mediante esta técnica.

Figura 23 - Difratomogramas obtidos por DRX dos filmes A0 e A1.



Fonte: O autor (2024).

4.1.3 Análises da estrutura química por espectroscopia de infravermelho do filme compósito

Conforme o espectro obtido por ATR-FTIR, apresentado na Figura 24, nenhuma variação é observada após a incorporação de partículas de cobre, uma vez que, de acordo com a literatura, estas são observadas na região entre $400\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (JOHN WILEY AND SONS INC., 2024), para esta análise foram feitas duas amostras de cada condição, representadas como A0-1, A0-2, A1-1 e A1-2.

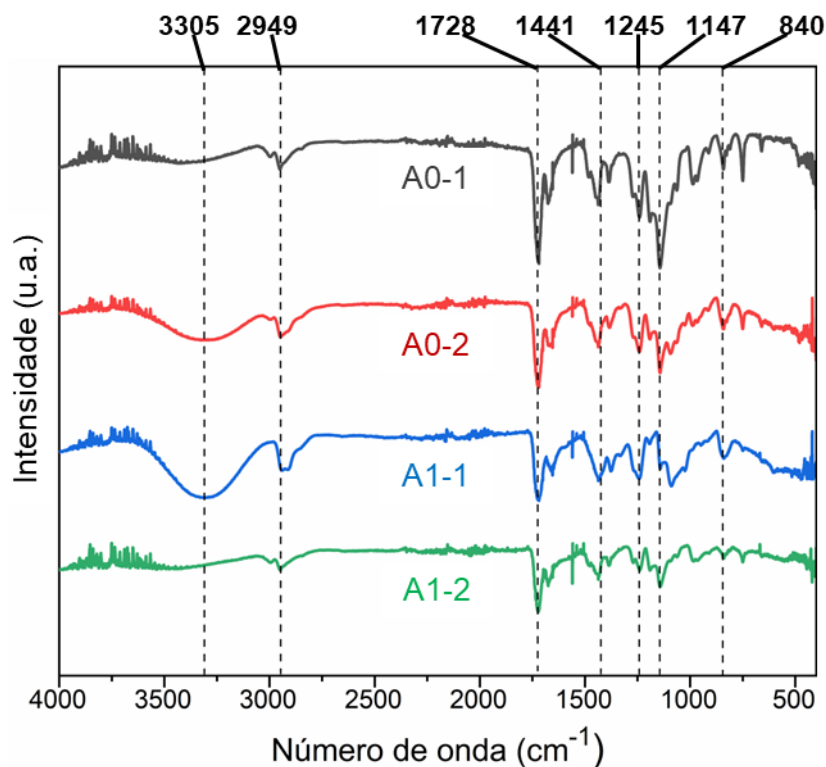
Ressalta-se que a estrutura polimérica para ambas as amostras não se alterou, ou seja, o cobre não desempenhou papel significativo para que fosse possível modificar tal característica e tão pouco foi possível detectá-lo durante as análises.

Diante disso, as bandas mais proeminentes referem-se majoritariamente ao PVA e PMMA. A banda de absorção observada em 3305 cm^{-1} , são características de bandas de estiramento axial de grupo OH em associação polimérica, a banda dupla

encontrada em 2949 cm^{-1} é caracterizada por vibrações axiais de grupamentos CH_2 e CH_3 associadas a carbonos primários ou secundários, a banda em 1728 cm^{-1} pode ser definida como, vibrações axiais de $\text{C}=\text{O}$ de ésteres, ligação que é encontrada na molécula de PMMA puro e no monômero metacrilato de metila que dá origem ao polímero, sendo atribuídas a estruturas de cadeia saturada alifática e acíclica, podem ocorrer vibrações angulares em ligações O-H da mesma estrutura, com estiramento axial em C-O, geralmente associados ao carbono terciário (BUTI et al, 2013) .

Em 1441 cm^{-1} ocorrem deformações angulares do tipo *scissoring* em ligações $-(\text{CH}_2)_n-$, sendo $n>3$, esta ligação pode ser vista novamente com um pico de deformação *rocking* em 720 cm^{-1} . As bandas observadas em 1245 e 1147 cm^{-1} estão associadas a vibrações axiais de ligações do grupo metil em associação com outro carbono, sejam elas, $(\text{H}_3\text{C})_2\text{-CH-}$ ou $(\text{H}_3\text{C})_3\text{-C-}$, podendo ocorrer deformações assimétricas comuns em ésteres superiores, por fim, pode ser visualizada uma banda absorvida em 840 cm^{-1} associada a vibrações axiais para fora do plano estrutural. Os valores reportados após análise crítica foram observados nos estudos realizados por Rajendran, Sivakumar e Subadevi de 2003, onde foram avaliados os efeitos de plastificantes em *blendas* poliméricas de PMMA-PVA sólido puro, e no trabalho de Alsaad *et al*, de 2020, artigo cuja pesquisa já foi relatada no presente trabalho, onde foram avaliadas as propriedades óticas e térmicas de filmes finos compósitos de PMMA-PVA-SiO₂.

Figura 24 - Espectros obtidos de ATR-FTIR dos filmes A0 e A1.

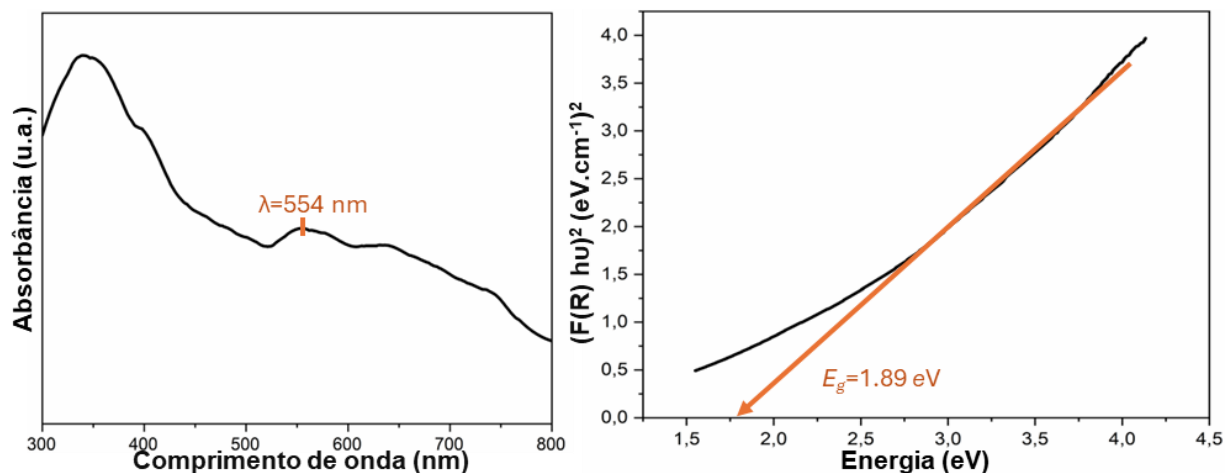


Fonte: O autor (2024).

4.1.4 Análises de absorção por espectroscopia UV-Vis e método de Tauc

Com base na técnica gráfica de Tauc (SHARMA et al., 2019), aplicada ao gráfico de absorção obtido por UV-Vis, foi possível obter a banda proibida do filme compósito. Sendo utilizado o filme A0 como branco, a banda proibida do filme A1 foi definida em 1,89 eV, apresentado na Figura 25 a seguir, além disso, o gráfico de absorção apresentou um pico de absorção para o comprimento de onda na faixa de 554 nm. O valor da banda proibida está próximo do valor encontrado para partícula na literatura, no trabalho de Sharma *et al.*, 2019 cobre metálico e óxido de cobre foram utilizados para modificar superfícies de materiais fotocatalíticos a base de TiO_2 , como parte de sua caracterização, foram encontradas bandas de 2,0 e 2,1 eV para as partículas de cobre e óxido de cobre respectivamente. Em Lucchesi Schio et al., 2021, na melhoria de fabricação mecanoquímica de nanopartículas de óxido de cobre II, foram encontrados valores próximos a 2,28 eV e comprimentos de onda absorvidos na faixa de 325 nm, o comprimento de onda teórico esperado para absorção em partículas de cobre metálico estaria na faixa de 500 nm.

Figura 25 - (a) Comprimento de onda absorvidos pelo filme de cobre e (b) método gráfico de Tauc



Fonte: O autor (2024).

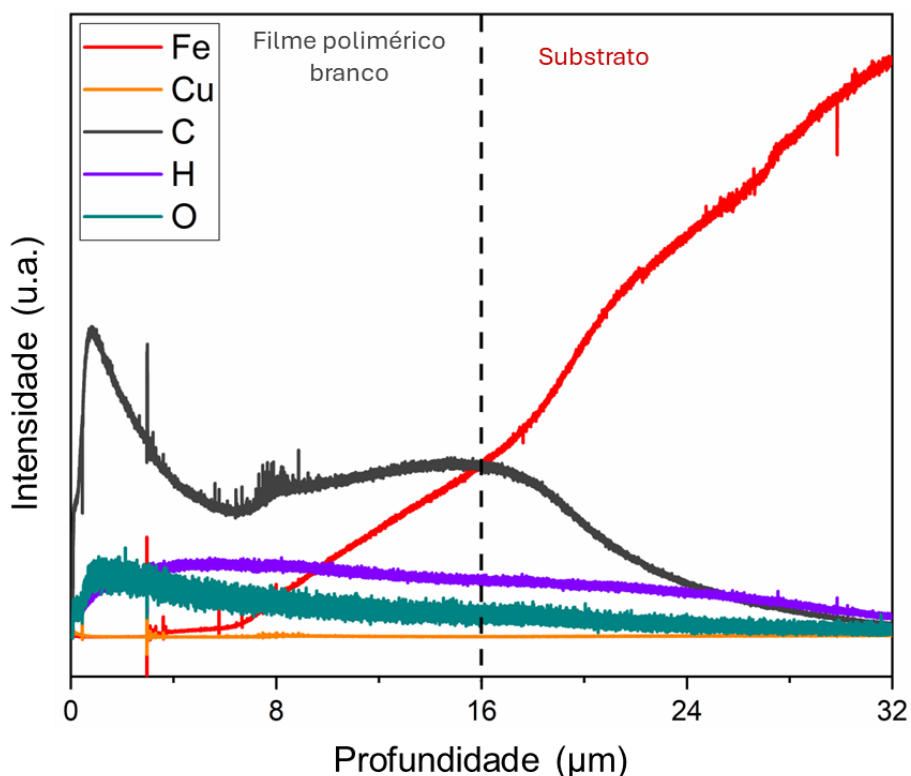
Com isso, pode-se concluir que as partículas de cobre metálico empregadas na fabricação do filme compósito possuem propriedades promissoras para a ocorrência de fotoatividade antifúngica.

4.1.5 Análises química por espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente

A caracterização com a técnica de espectroscopia de emissão ótica por descarga luminescente (GDOES) traz um perfil químico qualitativo e semi-quantitativo dos filmes compósitos. A análise em questão foi realizada para os elementos cobre, carbono, hidrogênio, oxigênio e ferro, o substrato utilizado trata-se uma liga de aço e a intensidade de cada elemento é relacionada à sua presença. Na técnica é realizado um *sputtering* na superfície depositada da amostra, a fim de remover e analisar o material que compõe os filmes. Em sua forma original, a análise de GDOES demonstra a intensidade dos elementos em função do tempo de *sputtering*. Para obter um resultado mais claro, substitui-se o tempo de *etching* pela espessura dos filmes obtidos na análise de perfilometria, sendo 16 μm para amostra A0 e 15 μm para a amostra A1, seguido da sua comparação com as imagens obtidas por MEV e EDS.

Para a amostra A0, a composição de acordo com a espessura é apresentada na Figura 26, a linha pontilhada delimita o filme e o substrato.

Figura 26 - Perfil químico da amostra formada somente pela matriz polimérica PMMA-PVA



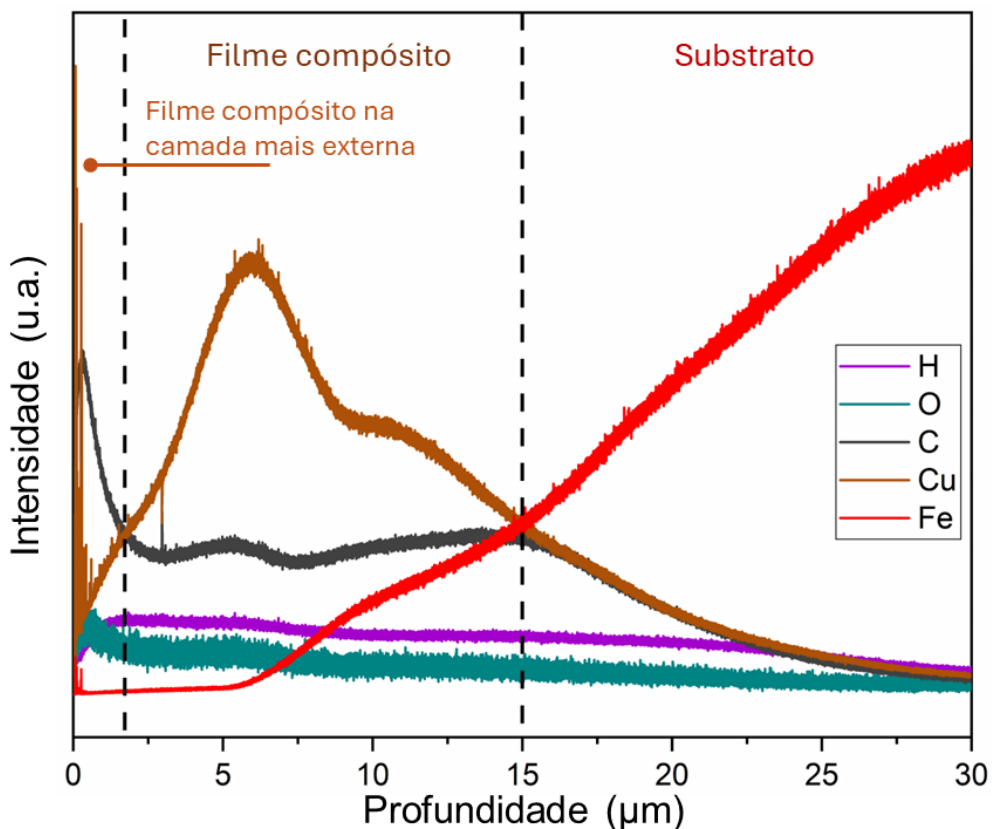
Fonte: O autor (2024).

A análise de GDOES está de acordo com os resultados obtidos por MEV e EDS, em relação a estrutura PMMA-PVA-Aço, embora a análise de perfilometria realizada na amostra aplicada em substrato metálico divergir da espessura encontrada no substrato de vidro (lâmina), os elementos detectados em ambas são semelhantes, como apresentado anteriormente no EDS da seção transversal da amostra A0.

Este tipo de análise é geralmente empregada em filmes cerâmicos ou metálicos, no entanto, em literatura há reportes de análise de filmes poliméricos que fundamentam a intensidade de sinal majoritária de carbono, trabalhos como os de Moutarlier et al., 2014 e Surmeian et al., 2015 e mais recentemente Kovač et al., 2022, onde foram avaliadas superfícies de filmes poliméricos não-condutores.

Para a amostra A1, a intensidade de sinal elementar de acordo com a espessura é apresentada na Figura 27, as linhas pontilhadas delimitam as regiões de interesse da análise, mostrando o perfil mais superficial do filme, indo até 1,74 μm, onde o cobre representa o elemento com maior intensidade de sinal identificado, após isso, de 1,74 μm a 15 μm, o filme representa uma mistura de carbono e cobre.

Figura 27 - Perfil químico da amostra A1 em função da profundidade de amostra



Fonte: O autor (2024).

A intensidade de sinal encontrada para cobre e carbono entre 1,74 e 15 μm, indica que parte das partículas de cobre empregadas se encontram na camada mais interna do filme, podendo ser representadas por uma dispersão do cobre com a matriz polimérica e uma solubilização parcial das partículas. A análise de GDOES vai de encontro mais uma vez do EDS da seção transversal realizado do filme A1, no entanto, a perfilometria diverge da espessura encontrada para o filme na seção transversal obtido por MEV, sendo 15 μm para perfilometria e 65 μm para o observado na microscopia.

Esta variação de intensidade de sinal elementar do cobre ao longo da seção transversal do filme indica uma matriz polimérica com muitas variações de estrutura, com regiões com boa dispersão da partícula e outras com acúmulo de cobre não disperso. O que impacta diretamente a fotoatividade antimicrobiana do filme, em contrapartida, comparando a apresentação do filme no presente trabalho com o encontrado em literatura, Schio, 2023, onde as análises de EDS de um filme polimérico à base de PVA com micro e nano partículas de cobre revela o acúmulo

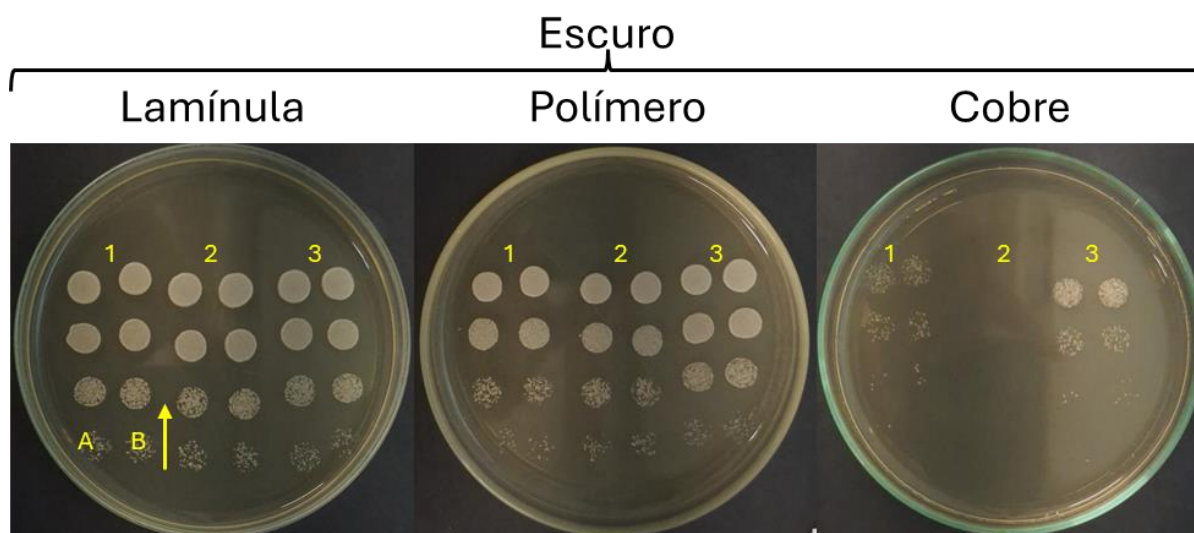
quase que total do cobre na região entre o polímero e o substrato. As análises de GDOES, MEV e EDS demonstraram que há cobre na superfície do filme, em contato com o ambiente, e como será apresentado posteriormente, propiciando a ocorrência de uma potencial atividade antimicrobiana.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ENSAIO FÚNGICO E FOTOATIVIDADE FUNGICIDA DOS FILMES COMPÓSITOS

Para avaliar a fotoatividade dos filmes compósitos foi realizada a contagem de colônias fúngicas de levedura da *C. albicans* em meio sólido, cultivadas da mesma forma em triplicata, com diferenciação de condição de iluminação. Os ensaios foram realizados utilizando como base comparativa uma amostra de controle, lamínula de vidro esterilizado sem quaisquer aplicações de filme.

Após 24 horas de incubação, decorrida posteriormente a incubação das lamínulas em estufa sobre efeito de luz e escuro, as avaliações de crescimento para as amostras mantidas sob ausência de luz foram feitas e apresentadas de forma comparativa na Figura 28, a seguir.

Figura 28 - Comparação do crescimento de colônias de fungos sobre diferentes tratamentos na ausência de luz



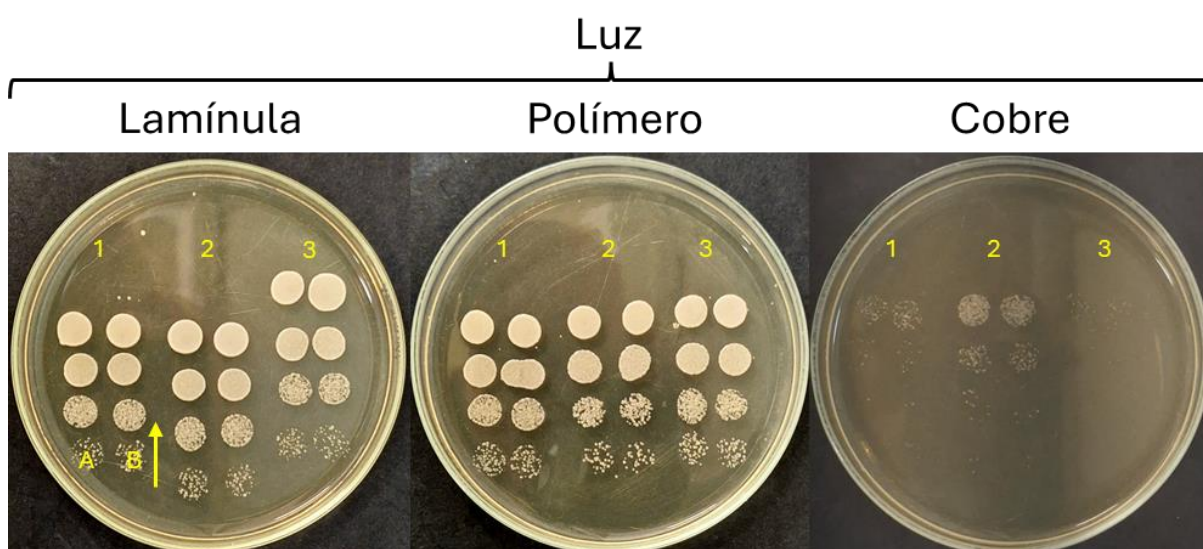
Fonte: O Autor (2024).

Nota-se, conforme o desenvolvimento da levedura nas placas, um efeito fungicida evidente para o filme de cobre em comparação às placas oriundas dos

tratamentos de controle e com filme polimérico. Essa ação fungicida do cobre já foi reportada em literatura, como em Ditta et al. (2008), Quaranta et al. (2011) e mais recentemente Sultana et al. (2023). É importante notar que para a placa de cobre, amostra A1-2, não houve o crescimento ou princípio de crescimento de quaisquer colônias de leveduras, indicando que o fungo morreu antes mesmo da sua aplicação, podendo ter ocorrido em razão da manipulação ou ao longo do procedimento de teste, sendo um fenômeno não-raro para este tipo de ensaio.

As avaliações do crescimento de colônias do fungo oriundas do cultivo em lâminulas expostas à iluminação controlada são apresentadas na Figura 29.

Figura 29 - Comparação do crescimento de colônias de fungos expostas a luz sobre diferentes tratamentos na ausência de luz

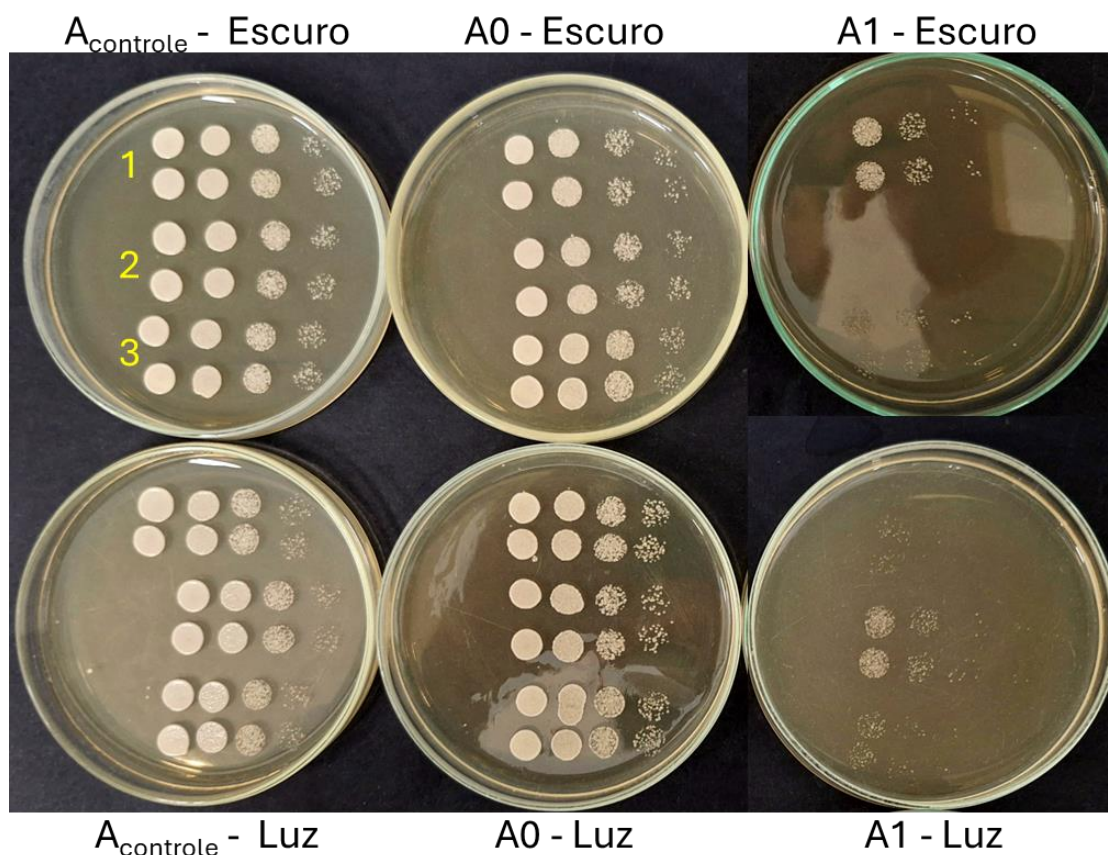


Fonte: O autor (2024).

Dentre os diferentes tratamentos de amostras, é possível observar visualmente o efeito fungicida do filme composto de cobre entre as placas onde o filme das amostras A1-1, A1-2 e A1-3 apresentam um efeito prático e eficaz contra a proliferação da *C. albicans*.

Para efeitos comparativos de mesmo tratamento sob diferentes condições de iluminação, as placas foram dispostas lado a lado, e apresentadas conforme a Figura 30.

Figura 30 - Comparação do crescimento de *C. albicans* em diferentes condições de iluminação



Fonte: O autor (2024).

A imagem demonstra visualmente que os efeitos fungicidas do cobre sobre o crescimento do fungo são muito semelhantes em ambas as condições de iluminação, não podendo ser distinguidas desta forma, sendo necessário realizar a análise estatística do controle de porcentagem de crescimento com base nas amostras de cultivo em lamínula pura, sem a presença do filme. Para o presente trabalho foram realizadas as contagens de colônias no fator de diluição de 10^{-4} , e em alguns casos foi necessário a contagem em fatores menores e posteriormente sua conversão para o fator estipulado.

Devido a amostra A1-2 que estava sob a ausência de luz não ter desenvolvido ou apresentado crescimento de colônia de *C. albicans*, os dados referentes ao A1-2 para a condição de luz foram descartados, por razões de controle estatístico e evitando assim erros agregados ao cálculo.

A concentração que melhor expressava a diferença entre uma colônia e outra foi definida como o fator 1:10.000. Os resultados serão expressos em percentual

de unidades formadoras de colônias comparadas ao controle negativo, lâmina sem qualquer filme. As porcentagens de controle são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Porcentagem de controle sobre o crescimento de *C. albicans* nas amostras A0 e A1

CONTROLE (%)						
ESCURO						
TRATAMENTO	1		2		3	
	A	B	A	B	A	B
A _{CONTROLE}	90,48	103,17	96,83	106,35	117,46	85,71
A0	90,48	103,18	73,02	69,84	31,75	36,51
A1	0,71	0,64	-	-	1,27	1,25
LUZ						
TRATAMENTO	1		2		3	
	A	B	A	B	A	B
A _{CONTROLE}	92,20	110,09	94,95	104,59	96,33	101,83
A0	99,08	97,71	52,29	59,17	116,97	119,72
A1	0,04	0,03	-	-	0,14	0,10

Fonte: O Autor (2024).

Com base nos valores encontrados para controle, foi obtida a média respectiva a cada um dos tratamentos em relação a triplica e o seguimento de colônias, sendo submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e subsequentemente as médias foram confrontadas pelo Teste de Tukey com uma probabilidade de erro de 5,0 %. A Tabela 3 a seguir apresenta esta análise estatística.

Tabela 3 - Análise de variância por sequenciamento de letras

CONTROLE (%) ¹		
TRATAMENTO	ESCURO	LUZ
A _{CONTROLE}	100ax	100ax
A0	67,46bx	90,83ax
A1	0,97cx	0,08by

Fonte: O Autor (2024).

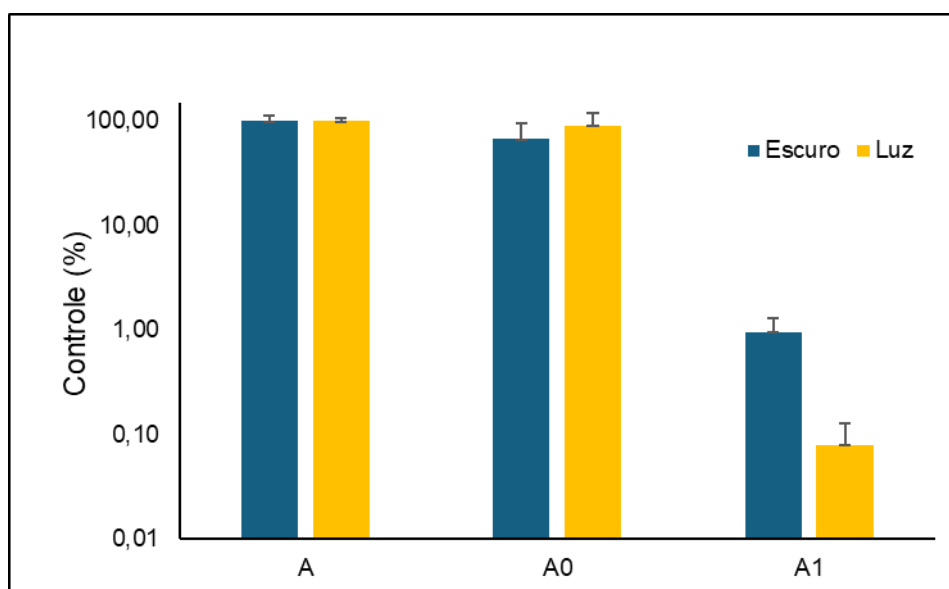
Nota: Médias seguidas em coluna pela mesma letra seja a/b/c, não apresentaram diferença estatística significativa pelo Teste de Tukey a 5,0 % de probabilidade (valor-p > 0,05), médias seguidas em linha pela mesma letra seja x/y, não apresentaram diferença estatística significativa pelo Teste de Tukey a 5,0 % de probabilidade (valor-p > 0,05). ¹Média dos controles em triplicata e seguimentos.

Foi possível verificar que os diferentes tratamentos empregados apresentaram diferenças significativas entre si para as amostras que foram mantidas sobre a

ausência de luz, para as amostras mantidas sob iluminação controlada, é plausível dizer que a amostra de controle e A0 não apresentaram diferença significativa, no entanto, comparativamente a A1, houve diferença significativa.

Entre as condições de ensaio, sejam eles realizados no escuro ou na luz, foram encontradas diferenças significativas apenas entre as amostras A1, indicando a presença de um efeito fotoativo fungicida, com claro controle inibitório de crescimento de colônias da *C. albicans*. Este efeito pode ser mais bem visualizado na Figura 31 a seguir, indicando as diferenças entre os controles e os desvios padrão encontrado para as amostras.

Figura 31 - Representação do controle de crescimento de *C. albicans* em diferentes tratamentos sobre ausência e presença de luz



Fonte: O Autor (2024).

Com este efeito evidenciado, pode-se dizer que as micropartículas de cobre utilizadas apresentavam propriedades fotoreativas, com isso, o filme compósito com as micropartículas apresentou fotoatividade fungicida com concentração de 2% m/v de cobre, sendo suficiente para inibir o crescimento das leveduras de *C. albicans* em até 99,9%, avaliando com base na taxa de crescimento de 0,08% sobre a amostras de cobre na luz.

5 CONCLUSÃO

As amostras de filme polimérico e compósito obtidas, quanto a morfologia, apresentaram estruturas esperadas de filmes compósitos condizentes com o encontrado na literatura sendo preparados com sucesso, tendo maiores distinções na espessura e distribuição de carga de cobre sobre a superfície do filme. Quanto às análises de MEV-EDS, os elementos detectados vão de encontro a trabalhos já documentados na área, sendo os principais sinais reportados como sendo de carbono e oxigênio para o filme polimérico e carbono, cobre e oxigênio para o filme compósito.

Os difratogramas obtidos por DRX, assim como os espectros de FTIR, demonstraram compatibilidade com a literatura, demonstrando não ter ocorrido contaminação de qualquer outro material e que os polímeros empregados, PMMA e PVA, são de fato os materiais propostos para o desenvolvimento do filme. A banda proibida da micropartícula de cobre, avaliada por UV-Vis, foi de 1,89 eV, estando de acordo com o reportado na literatura. As análises de GDOES, apresentaram como estavam dispostas as partículas de cobre ao longo da seção transversal do filme compósito, ajudando a elucidar em qual camada havia maior concentração das partículas corroborando com a fotoatividade fungicida, devido a intensidade de partículas de cobre na camada mais externa.

As partículas de cobre e o filme compósito elaborado com elas, provaram sua atividade fungicida, com clara redução do crescimento de colônias de leveduras de *C. albicans*, proporcionando uma eficácia de até 99,9 % na eliminação do patógeno. E fica evidenciado que o filme desenvolvido no presente trabalho apresentou fotoatividade fungicida, tendo suas propriedades antimicrobianas amplificadas sobre a presença de luz. Diante disso, o filme desenvolvido alcança o objetivo final e todos os objetivos propostos no presente trabalho, e se torna um potencial aliado como material antimicrobiano para aplicações em diversos seguimentos do mercado, sendo necessária apenas algumas adequações a sua aplicação final.

6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Estes estudos iniciais evidenciaram a potencial atividade fungicida do filme compósito à base de cobre e PMMA-PVA no crescimento e proliferação do patógeno *Candida albicans*, apresentando uma possível aplicação antimicrobiana contra outros patógenos. Outras análises se fazem necessárias, buscando o aperfeiçoamento dos resultados obtidos, sugere-se:

- a) realizar a melhoria na forma de obtenção da matriz polimérica com o objetivo de auxiliar na dispersão das micropartículas de cobre e no estudo das propriedades químicas e mecânica do filme compósito.;
- b) aumentar ou diminuir a concentração de cobre nas amostras, buscando uma concentração que apresente maiores efeitos reativos a luz, ou que apresenta uma concentração de cobre mínima inibitória;
- c) avaliar a possível atividade fungicida realizando ensaios com filmes contendo diferentes concentrações de cobre, em fitopatógenos, acompanhando o retardamento no crescimento micelial dia a dia;

REFERÊNCIAS

ALSAAD, A. M. et al. Spectroscopic characterization of optical and thermal properties of (PMMA-PVA) hybrid thin films doped with SiO₂ nanoparticles. **Results in Physics**, v. 19, p. 103463, 2020.

ALSAAD, Ahmad et al. Synthesis and characterization of polymeric (PMMA-PVA) hybrid thin films doped with TiO₂ nanoparticles using dip-coating technique. **Crystals**, v. 11, n. 2, p. 99, 2021.

AMETA, R. et al. Photocatalysis. In: *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment*. [s.l.] **Elsevier**, 2018. p. 135–175.

AMROLLAHI, S. et al. Synthesis of polyaniline-modified graphene oxide for obtaining a high-performance epoxy nanocomposite film with excellent UV blocking/anti-oxidant/anti-corrosion capabilities. **Composites Part B: Engineering**, v. 173, p. 106804, 2019.

ARENDROP, M. C. Update on antifungal resistance in *Aspergillus* and *Candida*. **Clinical microbiology and infection**, v. 20, p. 42-48, 2014.

BAKER, Anne-Marie M.; MEAD, Joey. **Handbook of Plastics, Elastomers, and Composites: Composites Materials and Process**. 4. ed. Estados Unidos: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2002. Cap. 1, p. 230-321. ISBN 9780071384766.

BALASUBRAMANIAM, B. et al. Antibacterial and Antiviral Functional Materials: Chemistry and Biological Activity toward Tackling COVID-19-like Pandemics. **ACS Pharmacology and Translational Science**, v. 4, n. 1, p. 8–54, 2021.

BATRA, A. K. et al. Present status of polymer: ceramic composites for pyroelectric infrared detectors. **Ferroelectrics**, v. 366, n. 1, p. 84-121, 2008.

BEHZADINASAB, S. et al. A Surface Coating that Rapidly Inactivates SARS-CoV-2. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 12, n. 31, p. 34723–34727, 2020.

BUTI, David et al. In-situ identification of copper-based green pigments on paintings and manuscripts by reflection FTIR. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 405, p. 2699-2711, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Fungal diseases and COVID-19**. 2 de mar de 2022. Acesso em: 03 de nov de 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/fungal/covid-fungal.html>.

CHATTERJEE, A. K.; CHAKRABORTY, R.; BASU, T. Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 25, n. 13, 2014.

CHATTERJEE, S.; SAHA, S. K.; PAL, A. J. Formation of all-oxide solar cells in atmospheric condition based on Cu₂O thin-films grown through SILAR technique. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v. 147, p. 17–26, 2016.

COLMENARES, J. C.; XU, Y.-J. **Heterogeneous Photocatalysis: From Fundamentals to Green Applications**. 1. ed. [s.l.] Springer, 2016.

DA ROCHA, Wilma Raianny Vieira et al. Gênero Candida-Fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, 2021.

DAVIS, Joseph R. **ASM Specialty Handbook: Copper and Copper Alloys**. 1 ed. Estados Unidos: ASM International, 2001. 869p. ISBN 0-87170-726-8.

DEBNATH, Kishore; SINGH, Inderdeep (Ed.). **Primary and secondary manufacturing of polymer matrix composites**. 1 ed. Estados Unidos: CRC Press, 2017, cap. 1, p. 12-27. ISBN 978-1-4987-9930-0.

DEMERLIS, C. C.; SCHONEKER, D. R. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and chemical Toxicology**, v. 41, n. 3, p. 319-326, 2003.

DE OLIVEIRA, A. Dantas; BEATRICE, C. Augusto Gonçalves. Polymer nanocomposites with different types of nanofiller. **Nanocomposites-recent evolutions**. 1 ed. Inglaterra: IntechOpen, 2018, cap. 6, p. 103-104. ISBN 978-1-78995-012-03.

DEPNER, Ronise Faria Rohde et al. O cobre como superfície de contato antimicrobiana e sua potencial aplicação na medicina veterinária. **Veterinária e Zootecnia**, Santa Maria - RS, v. 22, n. 4, p. 532-543, 2015.

DITTA, Iram B. et al. Photocatalytic antimicrobial activity of thin surface films of TiO₂, CuO and TiO₂/CuO dual layers on Escherichia coli and bacteriophage T4. **Applied Microbiology Biotechnology: Applied Microbial and Cell Physiology**, Estados Unidos, v. 79, p. 127-133, 4 mar. 2008.

EL-AOUNI, Naoual et al. Synthesis rheological and thermal studies of epoxy polymer and its composite. **Chemical Data Collections**, v. 30, p. 100584, 2020.

ETEFAGH, R. et al. Synthesis and antimicrobial properties of ZnO/PVA, CuO/PVA, and TiO₂/PVA nanocomposites. **Scientia Iranica**, v. 24, n. 3, p. 1717-1723, 2017.

FISHER, Matthew C. et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nature reviews microbiology**, v. 20, n. 9, p. 557-571, 2022.

FREUDENBERGER, Jens; WARLIMONT, Hans. Copper and Copper Alloys. Em: WARLIMONT, Hans. **Handbook of Materials Data**. 2 ed. Suíça: Springer Nature, 2018. cap. 12, p. 293-301. ISBN 978-0-87170-726-0.

GHANIPOUR, Mahshad; DORRANIAN, Davoud. Effect of Ag-nanoparticles doped in polyvinyl alcohol on the structural and optical properties of PVA films. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, p. 2-2, 2013.

GHOSH, S. **Visible-Light-Active Photocatalysis: Nanostructured Catalyst Design, Mechanisms, and Applications**. 1. ed. [s.l.] Wiley-VCH, 2018.

- GNAT, S. et al. A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidiosis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 5, p. 2095-2113, 2021.
- GRASS, G.; RENSING, C.; SOLIOZ, M. Metallic copper as an antimicrobial surface. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 5, p. 1541–1547, 2011.
- GUARRO, Josep. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 30, n. 1, p. 33-39, 2012.
- HAIPOUR, P. et al. Surface modification of TiO₂ nanoparticles with CuO for visible-light antibacterial applications and photocatalytic degradation of antibiotics. **Ceramics International**, v. 47, n. 23, p. 33875–33885, 2021.
- HOENIGL, Martin et al. COVID-19-associated fungal infections. **Nature microbiology**, v. 7, n. 8, p. 1127-1140, 2022.
- HSISSOU, Rachid et al. Rheological properties of composite polymers and hybrid nanocomposites. **Heliyon**, v. 6, n. 6, 2020.
- HSISSOU, Rachid et al. Polymer composite materials: A comprehensive review. **Composite structures**, v. 262, p. 113640, 2021.
- HUANG, H. et al. COVID-19: A Call for Physical Scientists and Engineers. **ACS Nano**, 2020.
- INDÚSTRIA do cobre. [Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social], 1997. 33 p. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/15688>.
- JOHN WILEY & SONS, INC (EUA). SPECTRA BASE. Compound with spectra: 3 FTIR. In: MALLINCKRODT CHEMICAL WORKS (EUA). Forensic Spectral Research. **Copper (II) Oxide**: ATR-IR Spectrum. Estados Unidos, 2024. Disponível em: <https://spectrabase.com/compound/82QFaqHoRsz>. Acesso em: 9 jun. 2024.
- KADHIM, Mohammed Abdul; AL-BERMANY, Ehssan. New fabricated PMMA-PVA/graphene oxide nanocomposites: Structure, optical properties and application. **Journal of Composite Materials**, v. 55, n. 20, p. 2793-2806, 2021.
- KHAN, Ayesha et al. A chemical reduction approach to the synthesis of copper nanoparticles. **International Nano Letters**, v. 6, p. 21-26, 2016.
- KISCH, Horst. **Semiconductor photocatalysis: principles and applications**. John Wiley & Sons, 2 ed., p. 264, 2015.
- KOVAČ, Janez et al. Depth profiling of thin plasma-polymerized amine films using GDOES in an Ar-O₂ plasma. **Applied Surface Science**, v. 581, p. 152292, 2022.
- LAMOTH, Frederic et al. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n.1, p. 4-13, 2018.

LEE, Yunjin et al. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical reviews**, v. 121, n. 6, p. 339-341, 2020.

LE GUEN, Marie Joo et al. The damping–modulus relationship in flax–carbon fibre hybrid composites. **Composites Part B: Engineering**, v. 89, p. 27-33, 2016.

LUCCHESI SCHIO, Aline et al. Improved mechanochemical fabrication of copper (II) oxide nanoparticles with low E-factor. Efficient catalytic activity for nitroarene reduction in aqueous medium. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 9, n. 29, p. 9661-9670, 2021.

MAEDA, Satoshi et al. Preparation of transparent bulk TiO₂/PMMA hybrids with improved refractive indices via an *in situ* polymerization process using TiO₂ nanoparticles bearing PMMA chains grown by surface-initiated atom transfer radical polymerization. **ACS applied materials & interfaces**, v. 8, n. 50, p. 34762-34769, 2016.

MINOSHIMA, M. et al. Comparison of the antiviral effect of solid-state copper and silver compounds. **Journal of Hazardous Materials**, v. 312, p. 1–7, 2016.

MINISTÉRIO DE MINAS DE ENERGIA. Agência Nacional de Mineração. Anuário Mineral Brasileiro: Cobre. In: **Evolução da Produção Bruta**. Brasil: ANM, 2023. Disponível em:

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiaZTRkNjI3MWEtMGI3My00ZTgzLWlY2YtMzNjNDhjNTViM2Q2liwidCI6ImEzMDgzZTIxLTc0OWltNDUzNC05YWZhLTU0Y2MzMTg4OTdiOCJ9&pageName=ReportSection99c5eaca1c0e9e21725a>. Acesso em: 3 nov. 2023.

MOUTARLIER, V. et al. Glow discharge optical emission spectroscopy: a complementary technique to analyze thin electrodeposited polyaniline films. **Thin Solid Films**, v. 550, p. 27-35, 2014.

MYRICK, M. L. et al. The Kubelka-Munk Diffuse Reflectance Formula Revisited. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 46, p. 140–165, 2011.

NEWBOUND, Mark; MCCARTHY, Michael A.; LEBEL, Teresa. Fungi and the urban environment: A review. **Landscape and urban planning**, v. 96, n. 3, p. 138-145, 2010.

NOSAKA, Yoshio; NOSAKA, Atsuko Y. Generation and detection of reactive oxygen species in photocatalysis. **Chemical reviews**, v. 117, n. 17, p. 11302-11336, 2017.

PAL, MAHENDRA et al. Growing role of non-*Candida albicans* *Candida* species in clinical disorders of humans and animals. **Journal of Mycopathological Research**, v. 53, p. 41-48, 2015.

PALZA, Humberto; QUIJADA, Raúl; DELGADO, Katherine. Antimicrobial polymer composites with copper micro-and nanoparticles: Effect of particle size and polymer matrix. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 30, n. 4, p. 366-380, 2015. acesso em: <https://doi.org/10.1177/0883911515578870>.

PETERS, S. T. **Handbook of Plastics, Elastomers, and Composites: Composites Materials and Process**. 4. ed. Estados Unidos: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2002. c. 4, p. 230-321. ISBN 9780071384766.

QUARANTA, D. K. et al. Mechanisms of contact-mediated killing of yeast cells on dry metallic copper surfaces. **Applied Environmental Microbiology**. 2011; v. 77; n. 2, p. 416-426.

RAJENDRAN, S.; SIVAKUMAR, M.; SUBADEVI, R. Investigations on the effect of various plasticizers in PVA–PMMA solid polymer blend electrolytes. **Materials letters**, v. 58, n. 5, p. 641-649, 2004.

RAJENDRAN, S. et al. **NANOTOXICITY: PREVENTION AND ANTIBACTERIAL APPLICATIONS OF NANOMATERIALS**. 1. ed. [s.l.], v. 7, Elsevier Inc., 2020.

RTIMI, S.; KIWI, J. Recent advances on sputtered films with Cu in ppm concentrations leading to an acceleration of the bacterial inactivation. **Catalysis Today**, v. 340, p. 347–362, 2020.

RODRIGUES, Mônica Aparecida; SILVA, Pricila Pereira; GUERRA, Wendell. Elemento Químico: Cobre. **Química Nova Escola**, [s. l.], v. 34, ed. 3, p. 161-162, 15 abr. 2015.

SARDE, Bhagyashri; PATIL, Y. D. Recent research status on polymer composite used in concrete-an overview. **Materials Today: Proceedings**, v. 18, p. 3780-3790, 2019.

SCHIO, Aline Lucchesi. **Efeito da iluminação sobre a atividade bactericida e virucida de partículas de cobre e de óxido de cobre (I) e de seus respectivos filmes compósitos**. 2023. 85 p. Defesa de Qualificação de Doutorado (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais no Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais) - Universidade de Caxias do Sul - UCS, Caxias do Sul - RS, 2023.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671–675, 2012.

SHARMA, Preetam K. et al. Surface modification of TiO₂ with copper clusters for band gap narrowing. **Catalysis Today**, v. 321, p. 9-17, 2019.

SINHA, Shelly et al. Nanoparticles fabrication using ambient biological resources. **Journal of Applied Biosciences**, v. 19, p. 1113-1130, 2009.

STAVROU, Aimilia A. et al. The changing spectrum of Saccharomycotina yeasts causing candidemia: phylogeny mirrors antifungal susceptibility patterns for azole drugs and amphotericin B. **FEMS yeast research**, v. 19, n. 4, p. foz037, 2019.

SULLIVAN, Derek; MORAN, Gary; COLEMAN, David. Fungal diseases of humans. **Fungi: biology and applications**. 3 ed., Wiley, Chichester, UK, c. 10, p. 171-190, 2017.

SULTANA, Sabiha et al. Copper Nanoparticles Doped on Polyvinyl Alcohol/Polymethyl Methacrylate/Montmorillonite (PVA-PMMA/MMT) as Ecofriendly Polymeric Hybrid Clay Composites: Study of their Bactericidal and Physical Properties. **Arabian Journal for Science and Engineering**, p. 1-9, 2023.

SURMEIAN, Agavni et al. **GDOES and GDMS analytical systems, effective tools for characterization of conductive and nonconductive material surfaces**. UNIVERSITY POLITEHNICA OF BUCHAREST SCIENTIFIC BULLETIN-SERIES A-APPLIED MATHEMATICS AND PHYSICS, v. 77, n. 4, p. 273-280, 2015.

VALINO, Arnaldo D. et al. Advances in 3D printing of thermoplastic polymer composites and nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 98, p. 101162, 2019.

VINCENT, M. et al. Contact killing and antimicrobial properties of copper. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 5, p. 1032–1046, 2018.

UMER, Asim et al. **A green method for the synthesis of copper nanoparticles using L-ascorbic acid**. Matéria (Rio de Janeiro), v. 19, p. 197-203, 2014.

WAISKOPF, Nir; BEN-SHAHAR, Yuval; BANIN, Uri. Photocatalytic hybrid semiconductor–metal nanoparticles; from synergistic properties to emerging applications. **Advanced Materials**, v. 30, n. 41, p. 1706697, 2018.

WALKER, Graeme M.; WHITE, Nia A. Introduction to fungal physiology. **Fungi: biology and applications**, 3 ed., Irlanda: Wiley Blackwell, cap.1, p. 1-35, 2017.

WARNES, Sarah L.; LITTLE, Zoë R.; KEEVIL, C. William. Human coronavirus 229E remains infectious on common touch surface materials. **MBio**, v. 6, n. 6, p. 10.1128/mbio.01697-15, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Organización Mundial de la Salud (OMS), 2022. Acesso em: 03 de nov. de 2023. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>.