



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

NATÁLIA DE ARAUJO DIONISIO

**FILMES FINOS À BASE DE POLIANILINA, NANOTUBOS DE TITANATO E
CTAB PARA REVESTIMENTOS ANTIFÚNGICOS**

**PARNAÍBA - PI
2018**

NATÁLIA DE ARAUJO DIONISIO

**FILMES FINOS À BASE DE POLIANILINA, NANOTUBOS DE TITANATO E
CTAB PARA REVESTIMENTOS ANTIFÚNGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Nanotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Carla Eiras

Coorientador: Prof. Dr. Patrick V. Quelemes

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

D592f Dionisio, Natália de Araujo.
 Filmes finos à base de polianilina, nanotubos de titanato e ctab para revestimentos antifúngicos [manuscrito] / Natália de Araujo Dionisio. – 2018.
 75 f. : il. color.

 Impresso por computador (printout).
 Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2018.
 Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Carla Eiras.

 1. Biotecnologia. 2. Revestimento Antifúngico. 3. Nanotecnologia. 4. Filmes Finos. 5. Nanocompósitos. I. Título.

CDD: 660.6

NATÁLIA DE ARAUJO DIONISIO

**FILMES FINOS À BASE DE POLIANILINA, NANOTUBOS DE TITANATO E
CTAB PARA REVESTIMENTOS ANTIFÚNGICOS**

Aprovada em: 27/04/2018

BANCA EXAMINADORA

Carla Eiras

Profa. Dra. Carla Eiras
(Orientadora)

Patrick Veras Quelemes

Prof. Dr. Patrick Veras Quelemes
(Coorientador)

Prof. Dr. Joilson Ramos de Jesus
(Membro Interno ao Programa)

Prof(a). Dr(a). Márcia Valéria Silva Lima
(Membro Externo ao Programa)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dá a oportunidade de concluir mais essa etapa da minha vida e principalmente por colocar tantas pessoas especiais em meu caminho, sem as quais certamente não teria dado conta de finalizar meu mestrado.

A minha orientadora, Profa Dr^a. Carla Eiras, que sempre acreditou no meu potencial, até mais que eu mesma. Obrigada pelos ensinamentos, oportunidades, paciência, incentivo, preocupação, compreensão, conselhos, orações, amizade e carinho. Obrigada por fazer parte da minha história.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Patrick V. Queleães, que sempre esteve presente na minha caminhada, desde a iniciação científica, como colega de laboratório e colaborador do nosso trabalho e agora dando continuidade no mestrado como meu coorientador. Obrigada pelo apoio e amizade e por toda colaboração que deixaram esse trabalho ainda mais completo e bonito.

A todos do BIOTEC e LIMAV, pelo suporte técnico e aos colegas que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho.

Ao meu querido e grande amigo Emanuel, pela força, paciência, ensinamentos, apoio e ajuda na conclusão deste trabalho. Você foi peça fundamental pra que esse trabalho se concretizasse. Agradeço pelo seu carinho, conselhos, confiança e amizade que levarei para toda vida.

A minha família, em especial a minha mãe Clemilda e meu irmão Alexandre, que são meu maior exemplo e estão constantemente presentes na minha vida. Obrigada por sempre me apoiarem e incentivarem a não desistir. Por serem meus melhores amigos e compartilharem comigo tristezas e alegrias, perdas e conquistas. Amo vocês!

Aos meus amigos, Nayara, Anderson, Emanuel, Monialine, Bruna, Flaviana, Kleyton pela compreensão, força, incentivo, conselhos, orações, apoio e risadas. Por estarem presentes em momentos importantes da minha vida e por tornar essa caminhada mais leve.

Ninguém vence sozinho! Obrigada a todos!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da produção de um filme *Layer-by-Layer* contendo uma bicamada.

Figura 2: Estrutura cristalina do Rutilo e Anatase.

Figura 3: Morfologias típicas de nanoestruturas de titanato: a) nanofolhas, b) nanopartículas, c) nanofibras, d) nanotubos e e) nanobastões.

Figura 4: Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com suas partes apolar e polar.

Figura 5: Representação esquemática da levedura de *Cryptococcus neoformans*.

ARTIGO

Figura 1. Esquema de preparação do filme *LBL* PANI(TiNTs)/CTAB.

Figura 2. A) Difratoograma de raios-X e B) Espectro Raman obtido para os TiNTs sintetizados pelo método hidrotérmico alcalino.

Figura 3. MET de TiNT sintetizado a 180° C por 24 h.

Figura 4. Voltamogramas cíclicos registrados para (A) ITO não modificado e modificados com filmes de CTAB ou CTAB (TiNTs) e (B) filmes monocamada de PANI ou PANI(TiNTs).

Figura 5. Voltamogramas cíclicos de filmes bicamadas de A) PANI/CTAB (sequência 01) e B) CTAB/PANI (sequência 02).

Figura 6. Curva de crescimento dos filmes *LbL* estudados. A absorvância obtida a 640 nm para cada duas bicamadas adsorvidas (n) foi traçada em relação ao número de ciclos de adsorção bicamadas (n).

Figura 7. Imagens obtidas pela SEM para observar a morfologia do filme PANI (TiNTs)/CTAB com 20 bicamadas. As escalas na extremidade inferior esquerdo de cada imagem correspondem respectivamente a A) 500 µm B) 100 µm C) 2 µm e d) 1 µm.

Figura 8. Imagens obtidas por MFA de um filme contendo 20 bicamadas de PANI (TiNTs)/CTAB. A) mostra a imagem de amplitude e B) de altura (3D) de uma área escaneada em 15×15 µm. C) Mostra mais detalhes da morfologia do filme a partir de uma imagem de altura digitalizada (3D) em uma área de 4×4 µm.

Figura 9. Atividade antifúngica do filme PANI(TiNTs)/CTAB. A e C- Lâmina de vidro limpo usado como controle do teste antifúngico contra *C. neoformans* ATCC 28957 e *C. neoformans* ATCC 28958, respectivamente. B e D- PANI(TiNTs)/CTAB em contato com a placa inoculada com *C. neoformans* ATCC 28957 e *C. neoformans* ATCC 28958, respectivamente, após 72 horas.

APÊNDICE

Figura A01. Os espectros obtidos para cada 2 bicamadas adsorvidos (com n variando de 2 a 20 bicamadas) para os filmes: A) PANI/CTAB, B) de CTAB/PANI, C) PANI(TiNTs)/CTAB, D) PANI/CTAB(TiNTs), E) CTAB(TiNTs)/PANI e F) CTAB/PANI(TiNTs).

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Estruturas dos principais polímeros intrinsecamente condutores.

Tabela 2: Estrutura química da anilina e esquema da fórmula geral da polianilina.

Tabela 3: Diferentes estados de oxidação da polianilina

Tabela 4: Principais moléculas que representam seus respectivos surfactantes.

Tabela 5: Combinações de palavras-chave utilizadas para busca nos bancos de dados de artigos e patente.

Tabela 6: Número de artigos encontrados com combinações de palavras-chave nos bancos de dados da *Scielo*, *Scopus* e *Web of Science*, no período de 2009 a 2018.

Tabela 7: Referências e título dos artigos publicados.

Tabela 8: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Dvoracek e colaboradores (2009).

Tabela 9: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Farias e colaboradores (2014).

Tabela 10: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura dos filmes, concentração e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Badran, Hussain e Ajeel (2016).

Tabela 11: Número de patentes depositadas por Base.

Tabela 12: Principais informações das 3 patentes encontradas na EPO.

RESUMO

Neste trabalho, descrevemos o desenvolvimento de filmes *LbL* formados por polianilina (PANI), Nanotubos de Titanato (TiNTs - $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) para aplicações em revestimentos antifúngicos. Inicialmente, a fim de averiguar a originalidade do trabalho, um estudo de prospecção científica e tecnológica foi realizada (capítulo 01) nas bases científicas *Web of Science*, *Scopus* e *Scielo*, e nos bancos de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI, Escritório Europeu de Patentes - *Espacenet* e Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos - *USPTO*, demonstrando que filme fino para aplicação em revestimentos antimicrobianos é uma área que está em desenvolvimento e é algo inovador no que diz respeito a revestimentos antifúngicos, visto que não foi encontrado nada na literatura com abordagem semelhante. Posteriormente a essa etapa, realizou-se o estudo desses filmes *LbL* desenvolvidos (capítulo 02), no qual foram caracterizados por Voltametria Cíclica (VC), Espectroscopia na região UV-Visível (UV-Vis) e Microscopia de Força Atômica (MFA). Os espectros de UV-Vis mostraram que a cinética de formação dos filmes *LbL* é influenciada tanto pela presença dos TiNTs quanto ao meio em que estes foram dispersos. Especificamente, o filme com a arquitetura PANI(TiNTs)/CTAB apresentou valores de absorvância consideravelmente maiores do que as demais arquiteturas avaliadas, enquanto as imagens de MFA, para este mesmo filme contendo 20 bicamadas depositadas, mostraram uma morfologia com padrão de distribuição uniforme de TiNTs, provavelmente devido ao efeito anfifílico do CTAB. Em seguida, o filme PANI(TiNTs)/CTAB foi avaliado em ensaios antifúngicos mostrando excelente atividade contra o fungo oportunista *Cryptococcus neoformans* responsável por causar infecções severas em pacientes imunossuprimidos e, até mesmo, meningite criptocócica. O material desenvolvido neste trabalho poderia vir a ser uma opção inovadora e um excelente candidato para o revestimento de tubos de ar condicionado, pois, além da atividade antifúngica, também agrega as propriedades anticorrosivas e purificadoras de ar presentes em PANI e TiNTs, respectivamente.

palavras-chave: revestimento antifúngico; nanotecnologia; filmes finos, nanocompósitos.

ABSTRACT

This work, describing the development of films LbL formed for polyaniline (PANI), titanate nanotubes (TiNTs - $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) are applications in antifungal coatings. First, in order to ascertain the originality of the work, a study of scientific and technological prospection was carried out (chapter 01) in the scientific bases Web of Science, Scopus and Scielo, and in the patent offices of the National Institute of Industrial Property - INPI, Office European Patent Office - US Patent and Trademark Office (USPTO), showing that thin film for application in antimicrobial coatings is an area that is under development and is something innovative with regard to antifungal coatings, since it was not found nothing in the literature with similar approach. After this step, the study of these LbL films developed (chapter 02) was performed, in which they were characterized by Cyclic Voltammetry (VC), Spectroscopy in UV-Vis (UV-Vis) and Atomic Force Microscopy (MFA). UV-Vis spectra have shown that the formation kinetics of LbL films is influenced both by the presence of TiNTs and the medium in which they were dispersed. Specifically, the film with the PANI (TiNTs) / CTAB architecture presented considerably higher absorbance values than the other architectures evaluated, whereas the MFA images, for this same film containing 20 deposited bilayers, showed a morphology with a uniform distribution pattern of TiNTs, probably due to the amphiphilic effect of CTAB. Next, the PANI (TiNTs) / CTAB film was evaluated in antifungal trials showing excellent activity against the opportunistic fungus *Cryptococcus neoformans* responsible for causing severe infections in immunosuppressed patients and even cryptococcal meningitis. The material developed in this work could be an innovative option and an excellent candidate for the coating of air conditioning pipes, as well as the antifungal activity, it also adds the anticorrosive and air purifying properties present in PANI and TiNTs, respectively.

keywords: antifungal coating; nanotechnology; thin films, nanocomposites.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 NANOTECNOLOGIA - FILMES FINOS	14
3.2 POLIMEROS CONDUTORES - POLIANILINA	16
3.3 CERÂMICAS AVANÇADAS - NANOTUBOS DE TITANATO	20
3.4 SURFACTANTE - BROMETO DE CETILTRIMETIL AMÔNIO	23
3.5 IMPORTÂNCIA MÉDICA DO FUNGO <i>CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS</i>	25
4. PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA	27
4.1 METODOLOGIA	27
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.3 CONCLUSÃO	36
5. ARTIGO SUBMETIDO (TRADUÇÃO PARA LÍNGUA PORTUGUESA).....	38
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
7. REFERÊNCIAS	67

1. INTRODUÇÃO

No decorrer dos últimos anos, a incidência de doenças e infecções importantes causadas por fungos oportunistas tem crescido. Essas infecções têm maiores ocorrências em pacientes com o sistema imunológico comprometido (ALMEIDA; MACHADO, 2014).

O fungo *Cryptococcus neoformans* é um dos principais agentes etiológicos que contribuem para o aumento dessas infecções e é o patógeno mais comumente encontrado em pacientes HIV positivos, podendo ocasionar a morte dos mesmos por consequência de meningite criptocócica, uma das doenças causada por esse patógeno (SCORZONI, 2008).

O *C. neoformans* é considerado um agente cosmopolita e oportunista, sendo que, no ambiente natural urbano pode ser encontrado em excretas de pombos. Assim, após a deposição das fezes pelas aves infectadas, o fungo é capaz de colonizar superfícies, tais como, tubulações de ar condicionado, ocasionando a contaminação do ar em ambientes fechados como hospitais, por exemplo (ALMEIDA; MACHADO, 2014). Este fungo também pode ser encontrado no homem frequentemente na urina e no sangue (TRIPATHI *et al.*, 2012, KHAN, BAIG e MEHBOOB, 2017)

Neste contexto, com a crescente busca por tratamentos mais eficazes, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas com intuito de se obter novos produtos que possuam ação antifúngica. A pesquisa voltada para os filmes nanoestruturados desponta como uma das principais alternativas na busca por materiais que possam ser modificados em nível molecular, aumentando assim a sua aplicabilidade, incluindo aplicações em revestimentos antibacterianos, antifúngicos e anticorrosivos (PATERNO, *et al.*, 2001, FARIAS *et al.*, 2014; CLOUTIER, *et al.*, 2015; KRUK, *et al.*, 2016).

O desenvolvimento de filmes finos permite que materiais com diferentes naturezas e propriedades sejam conjugados em uma estrutura do tipo sanduiche, camada a camada, de forma a manter uma alta organização molecular potencializando as propriedades já existentes, ou ainda, gerando novas propriedades no material final (PATERNO, *et al.*, 2001).

Deste modo, as propriedades anticorrosivas da PANI (KALAIIVASAN, SHAFI, 2017) somadas as propriedades autolimpantes do TiNTs (PICHAT, 2014) e antimicrobianas do CTAB (COLOMER, *et al.*, 2015), associadas no filme desenvolvido,

resultam em um material alternativo para revestimentos antifúngicos de superfícies susceptíveis a contaminação, caracterizando-se como uma boa estratégia na prevenção de infecções microbianas.

Esse trabalho objetivou, portanto, desenvolver filmes finos utilizando a técnica *Layer-by-Layer* contendo PANI, TiNTs e CTAB, além de avaliar sua ação antifúngica contra cepas do fungo *C. neoformans*. Constam nesta dissertação, um referencial teórico e um estudo de prospecção com base em artigos publicados e pedidos de patentes depositadas relacionados ao tema deste trabalho, além do artigo científico submetido à *Journal of Coatings Technology and Research*, o qual são apresentados o desenvolvimento e caracterização dos filmes, bem como o teste antifúngico.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar filmes *Layer-by-Layer (LbL)* de forma a conjugar as propriedades da polianilina (PANI), com o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), e nanotubos de titanato (TiNTs - $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), além de avaliar a atividade antifúngica dos filmes formados contra cepas de *C. neoformans*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Elaborar uma prospecção tecnológica sobre filmes finos para aplicações em revestimentos antimicrobianos.
- ✓ Preparar filmes finos (*LbL*) utilizando PANI, CTAB e TiNTs em estruturas de mono e bicamadas;
- ✓ Analisar a influência da sequência de adsorção dos filmes preparados, PANI/CTAB e CTAB/PANI na presença ou ausência do TiNTs através de caracterização eletroquímica, espectroscópica e morfológica.
- ✓ Investigar a atividade antifúngica do filme *LbL* proposto em teste *in vitro* contra cepas do fungo *C. neoformans*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 NANOTECNOLOGIA - FILMES FINOS

A Nanociência estuda os materiais em escala nanométrica o que significa, em um contexto geral, a habilidade de manipular a matéria na escala compreendida entre 0,1 e 100 nanômetros (nm), com objetivo de que possuam certa organização molecular de forma a gerar novas propriedades e, conseqüentemente, permita novas aplicações em diversos campos do conhecimento (SILVA FILHO, 2012; DAL' ACQUA, 2013).

A Nanociência destaca-se, ainda, por sua interdisciplinaridade, uma vez que necessita de conhecimentos de fenômenos nas áreas de Física, Química, Biologia, Engenharia de Materiais, Computação, entre outras (TORRES, 2007), de forma que tem se tornado uma das áreas mais importantes da pesquisa em nível mundial (DURÁN; MATTOSO; MORAES, 2006; DAL' ACQUA, 2013)

Chama-se material nanoestruturado aquele que possua, pelo menos, uma de suas dimensões na escala nanométrica como, por exemplo, um material bidimensional como um filme. Os filmes finos chamam atenção devido à possibilidade de se obter estruturas com maior grau de organização molecular, controle de espessura e modulação de suas propriedades, além da possibilidade de caracterização *in situ* (PATERNO *et al.*, 2001).

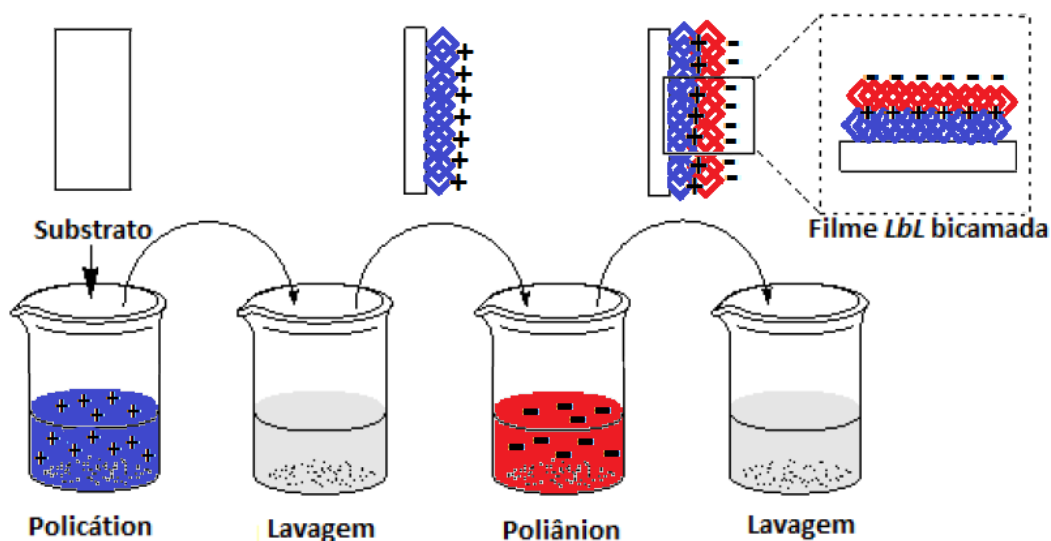
À medida que crescia os estudos na área dos filmes finos, por consequência, aumentava também número de publicações em revistas nacionais e internacionais, com o emprego de diferentes terminologias para a denominação dos filmes finos. Desta forma, a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) normatizou a linguagem científica nesta área, abordando desde o preparo e a caracterização de filmes, nanofilmes, microfilmes e filmes de fase sólida – líquida (MINASSIAN-SARAGA, 1994)

Dentre as diversas formas de preparação de filmes, a técnica *Layer-by-Layer* (*LbL*) destaca-se por permitir o controle de parâmetros como a espessura e o empacotamento molecular, uma vez que possibilita a “organização” de moléculas individuais em arquiteturas altamente ordenadas (RÓZ, *et al.*, 2015). Historicamente, o método de preparação de filmes *LbL* foi primeiramente proposto por Iler em 1966, e consiste em interações eletrostáticas com adsorção alternada de partículas coloidais com

cargas opostas. Passadas duas décadas, Sagiv e colaboradores (1980) propuseram um sistema de multicamadas baseado em interações químicas, como ligações covalentes, entre as camadas depositadas, denominando esta técnica de “*self-assembly*”. Na década de 1990, Decher e colaboradores basearam-se na técnica de Iler, porém, empregando moléculas contendo grupos iônicos como compostos anfifílicos e polieletrólitos, e a nomearam pelo termo *LbL* (do inglês “*Layer-by-Layer*” que significa “camada por camada”) (STORTI, 2008). O modo de produção *LbL* é a mais recente técnica de formação de filme e consiste na interação eletrostática de moléculas de cargas opostas compondo filmes com camadas moleculares catiônicas e aniônicas adsorvidas alternadamente sobre substratos sólidos, com a vantagem de permitir controlar a espessura do filme e de simples execução (PATERNO, *et al.*, 2001; RÓZ, *et al.*, 2015).

Outras formas de interação pelas quais o material de interesse pode ser adsorvido são descritas através de forças de Van Der Waals, ligações de hidrogênio, forças dispersivas ou de London, cujas intensidades tornam as monocamadas compactas e fortemente adsorvidas (PATERNO, *et al.*, 2001). A deposição do filme *LbL* ocorre através da imersão de um substrato sólido, por um determinado período de tempo, numa solução aquosa contendo o material a ser depositado (Figura 1).

Figura 1: Representação esquemática da produção de um filme Layer-by-Layer contendo uma bicamada.



Fonte: Autoria própria, 2017.

Após a adsorção da primeira monocamada, neste caso um polycation, conforme Figura 1, posteriormente, o conjunto substrato/monocamada é lavado a fim de eliminar o excesso de material não adsorvido, sendo seco com leve fluxo de ar comprimido ou nitrogênio. Em seguida, este sistema é então imerso numa solução contendo outro material, agora com carga oposta à do material inicialmente depositado, em nosso exemplo, um poliânion, formando, deste modo, uma bicamada. Assim são formados os filmes compostos por bicamadas moleculares catiônicas e aniônicas, alternadamente adsorvidas (PATERNO *et al.*, 2001).

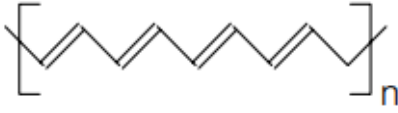
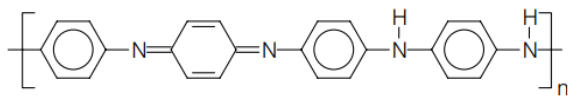
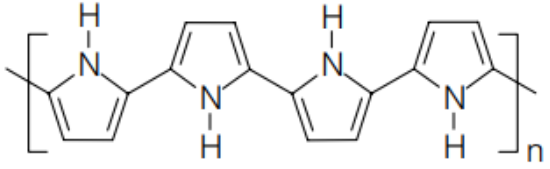
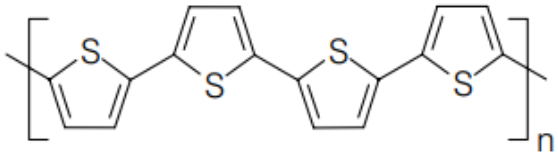
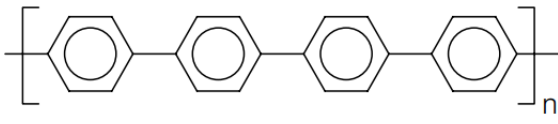

3.2 POLIMEROS CONDUTORES - POLIANILINA

Os polímeros condutores são materiais que têm sido extensamente empregados na formação de filmes *LbL*. A descoberta da condutividade nos polímeros ocorreu de maneira acidental na década de 70, onde um aluno do Instituto de Tecnologia de Tóquio do Laboratório do Prof. Hideki Shirakawa, na tentativa de sintetizar o poliacetileno (PA), um pó preto, obteve um filme prateado, brilhante, semelhante a uma folha de alumínio (ABREU, 2010). Logo depois, Shirakawa em colaboração com MacDiarmid e Heeger, na Universidade da Pensilvânia, verificou que após a dopagem do PA com iodo, aquele filme, anteriormente prateado, tornou-se uma folha metálica dourada, cuja condutividade elétrica era sensivelmente aumentada (AUGUSTO, 2009; ABREU, 2010; PADILHA, 2011). Em 2000, os pesquisadores Alan J. Heeger, Alan G. MacDiarmid e Hideki Shirakawa, dividiram o prêmio Nobel de Química pela descoberta e o desenvolvimento de polímeros condutores (AUGUSTO, 2009).

Os polímeros condutores pertencem à classe de polímeros conjugados e advêm de cadeias longas, constituídas pela repetição de unidades mais simples denominadas de monômeros, geralmente contendo átomos de carbono e hidrogênio em sua cadeia (PADILHA, 2011). Muitas vezes, os polímeros condutores são denominados de polímeros conjugados, por exibirem em sua cadeia sequência de ligações simples e duplas alternadas, resultando assim em elétrons desemparelhados e deslocalizados. Essas ligações conjugadas são formadas por ligações sigma (δ) que é uma ligação forte, e uma ligação “pi” (π) que não está fortemente localizada, portanto é mais fraca e, desse modo, os elétrons de caráter π são facilmente removidos e adicionados sem que ocorra o

rompimento das ligações que são necessárias para a estabilidade da molécula, possibilitando que estes polímeros possam ser oxidados ou reduzidos com facilidade (MATTOSO, 1996; OLIVEIRA, 2015). Para que a condução elétrica aconteça é necessário que o polímero tenha uma cadeia linear, pois a condução só ocorre ao longo da cadeia polimérica, e não entre cadeias, ou seja, em cadeias ramificadas (ABREU, 2010). A Tabela 1 mostra alguns tipos de polímeros conjugados:

Tabela 1: Estruturas dos principais polímeros intrinsecamente condutores.

Polímero condutor	Estrutura	Condutividade (S cm ⁻¹)
Poliacetileno		10 ³ a 10 ⁶
Polianilina		10 a 10 ³
Polipirrol		600
Politiofeno		200
Poli(<i>p</i> -fenileno)		500
Poli(<i>p</i> -fenileno vinileno)		1

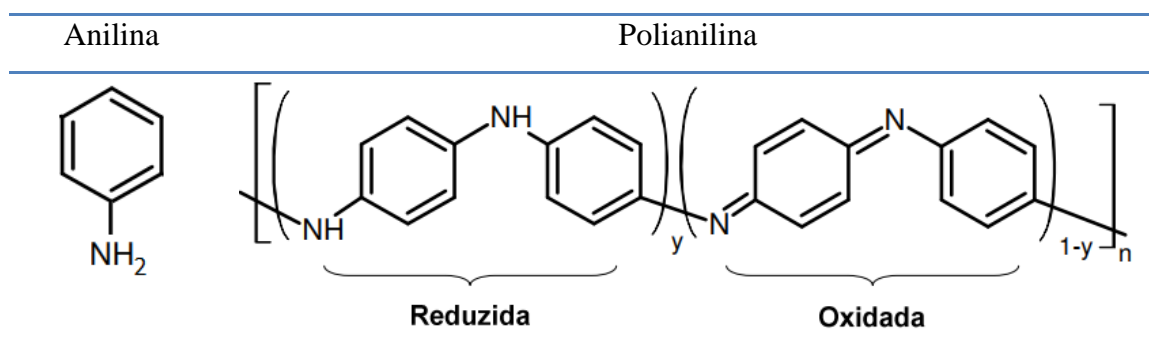
Fonte: Adaptado de Faez, *et al* 2000.

Na Tabela 1, observamos a presença das duplas ligações conjugadas responsáveis por elétrons π deslocalizados ao longo de toda cadeia, os quais permitem a mobilidade eletrônica e, portanto a existência da propriedade de condução nestes polímeros (FORNAZIER FILHO, 2009).

Entre os polímeros condutores, a Polianilina (PANI) vem despertando bastante interesse no meio científico devido à facilidade de polimerização e processo de dopagem, estabilidade química em temperatura ambiente, processabilidade e baixo custo (EBRAHIMI, G.; NESHATI, J.; REZAEI, F. 2017). A PANI possui várias aplicações sendo usada como um inibidora de corrosão (KRALJIC, MANDIC, DUIC, 2003; OZYILMAZ, *et al.* 2013; KOHL E KALEDOVÁ, 2015; KALAIVASAN, N.; SHAFI, S. S. 2017), em baterias recarregáveis DUAN, *et al.*, 2012, sensores moleculares (FARIAS, *et al.*, 2015; ANDRÉ, *et al.* 2017), e até mesmo, filmes antibacterianos (FARIAS, *et al.*, 2014), entre outros (MATTOSO, 1996).

A PANI é originada do monômero anilina e sua condutividade ocorre devido ao processo conhecido como dopagem ácida, o qual permite que o mesmo transite de seu estado condutor para isolante sem que ocorra uma variação no estado de oxidação da PANI (FAEZ *et al.*, 2000; AUGUSTO, 2009). A Tabela 2 exige a estrutura química da anilina e da polianilina.

Tabela 2: Estrutura química da anilina e esquema da fórmula geral da polianilina.



Fonte: Adaptado de IZUMI, 2006.

Na Tabela 2, a formula da polianilina é composta por y e $(1-y)$, que são unidades repetidas ao longo da cadeia e se referem as espécies reduzidas (benzenóides) e oxidadas (quinóides), respectivamente (ALMADA, 2007). A PANI pode ocorrer em diferentes estados de oxidação, onde a forma base esmeraldina é a mais estável (isolante, 50% oxidada) e é a única forma redox que se torna condutora no estado dopado, ou seja, pode reagir com ácido (HCl), resultando na forma de sal de esmeraldina (condutora) (FAEZ *et al.*, 2000; PADILHA, 2011). Com isso, além de elevar a condutividade elétrica, que chega à ordem de 10^3 S cm^{-1} , outra característica interessante da PANI é exibir diferentes colorações quando se variam as condições de

pH ou o potencial elétrico (ABREU, 2010). A Tabela 3 traz os diferentes estados de oxidação.

Tabela 3: Diferentes estados de oxidação da Polianilina.

Nome	Cor	Valor de y	Condutividade (S cm ⁻¹)	Características
Leucoesmeraldina	Amarelo	1	<10 ⁻⁵	Isolante (Completamente reduzida)
Protoesmeraldina	-	0,75	<10 ⁻⁵	-
Base esmeraldina	Azul	0,5	<10 ⁻⁵	Isolante (Parcialmente oxidada)
Sal esmeraldina	Verde	0,5	~15	Condutora (Parcialmente oxidada)
Nigranilina	-	0,25	<10 ⁻⁵	-
Pernigranilina	Púrpura	0	<10 ⁻⁵	Isolante (Completamente oxidada)

Fonte: Adaptado de MORETO, 2006.

Na Tabela 3, observamos também que o valor de y pode variar continuamente entre 0 e 1, onde quando o valor de y é igual a 0 o polímero estará completamente oxidado (pernigranilina) e, quando y adquire o valor 1, teremos o polímero completamente reduzido (leucoesmeraldina). Os estados de oxidação protoesmeraldina (y = 0,75) e nigranilina (y = 0,25), segundo Moreto (2006), são estados intermediários que ocorrem entre os principais estados de oxidação da PANI (leucoesmeraldina, esmeraldina e pernigranilina), entretanto, até o momento não foram sintetizados isoladamente.

A Polianilina pode ser sintetizada por três rotas distintas: a química, a eletroquímica e a fotoeletroquímica. A síntese química destaca-se pela facilidade de execução, além da produção de uma quantidade razoável de material, na forma de pó com alto peso molecular e elevada pureza (MATTOSO, 1996; FORNAZIER FILHO, 2009).

3.3 CERÂMICAS AVANÇADAS - NANOTUBOS DE TITANATO

Outro material bastante interessante que pode ser utilizado na fabricação de filmes *LbL* são os materiais cerâmicos, os quais possuem boa resistência mecânica, alta dureza e estabilidade a altas temperaturas, e tem sido amplamente utilizado em aeronaves, ferramentas de corte, reatores nucleares (SOUZA, 2011). Este grupo de materiais se caracteriza como materiais inorgânicos, não metálicos e originam-se da palavra grega “keramikos” que se refere ao termo cerâmica e significa “substância queimada”, sugerindo que estes materiais são obtidos mediante a tratamentos térmicos em temperaturas elevadas (PRESOTTO, 2012).

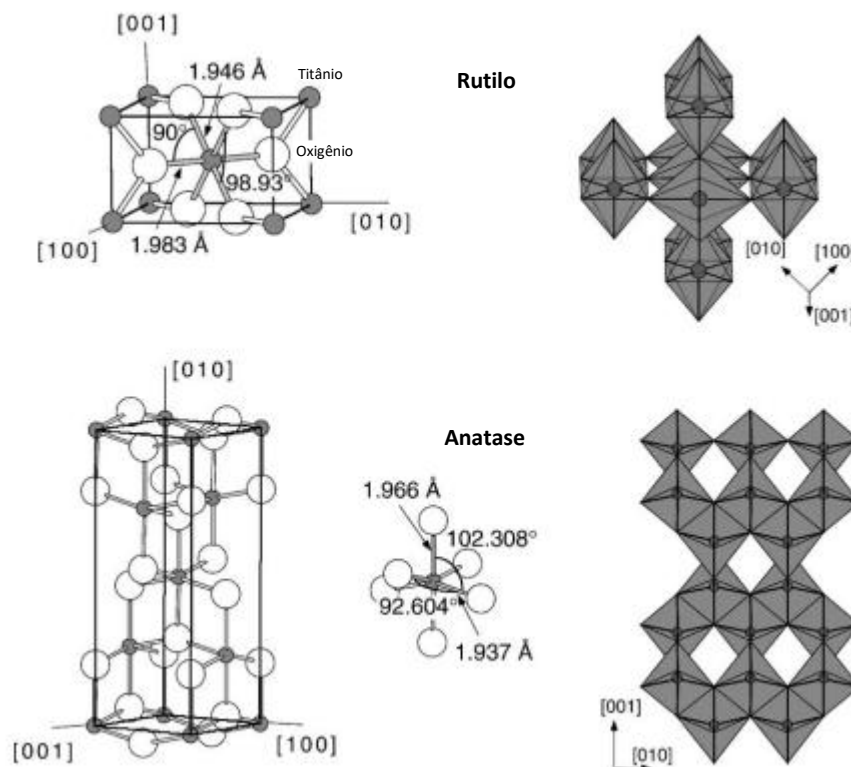
Dentro da classe de materiais cerâmicos, encontramos as chamadas cerâmicas avançadas, que segundo Nóbrega e colaboradores (2004) são aquelas de maior conteúdo tecnológico agregado e em desenvolvimento em nível mundial. A cerâmica avançada oferece vários progressos de desempenho como: durabilidade, confiabilidade, dureza, alta resistência mecânica a uma temperatura elevada, baixa densidade, condutividade óptica, isolamento elétrico e térmico, resistência à radiação, dentre outros, e são utilizadas em aeronaves e aplicações aeroespaciais, com resistência ao desgaste de peças, biocerâmicas, ferramentas de corte, óptica avançada, em tecnologia de supercondutividade e reatores nucleares (LIANG & DUTTA, 2001).

Em meio as cerâmicas avançadas, destaca-se o dióxido de titânio (TiO_2) que tem atraído muita atenção nos últimos tempos devido às suas interessantes propriedades ópticas, elétricas, eletroquímicas e de catálise (ALVES, 2009). O TiO_2 é o composto mais comum de titânio que é o nono elemento mais abundante na crosta terrestre, ele é usado em muitas aplicações, tais como: revestimentos anticorrosivo e autolimpantes, e tintas para células solares e fotocatalisantes (BAVYKIN; FRIENDRICH; WALSH, 2006).

As fases polimórficas de TiO_2 que podem ser encontradas na natureza são o rutilo, o anatase e a brookita, onde as duas primeiras formas são usualmente tetragonal e a última possui forma ortorrômbica, sendo que elas diferem no modo como as unidades octaédricas se arranjam (OKAZUMI, *et al.*, 2011). O rutilo possui uma fase estável, apresenta cor vermelha e castanha avermelhada a preta e tem brilho adamantino a submetálico, dureza 6,00 a 6,50, massa específica 4,18 a 4,25 g/cm^3 , sendo um mineral subtranslucido, podendo ser transparente, composto quase que essencialmente de TiO_2

contendo 10% de impurezas (SILVA, 2012). A anatase apresenta coloração castanho no estado natural, dureza varia de 5,5 a 6,0 e massa $3,9 \text{ g/cm}^3$ e contém de 98,4 a 99,8% de TiO_2 . Na Figura 2, observamos a estrutura do Rutilo e Anatase, (ALVES, 2009; SILVA, 2012). Anatase e Brookita são metaestáveis, sendo este último difícil de ser sintetizado e, assim, raramente estudada (HANAOR; SORRELL, 2011).

Figura 2: Estrutura cristalina do Rutilo e Anatase.



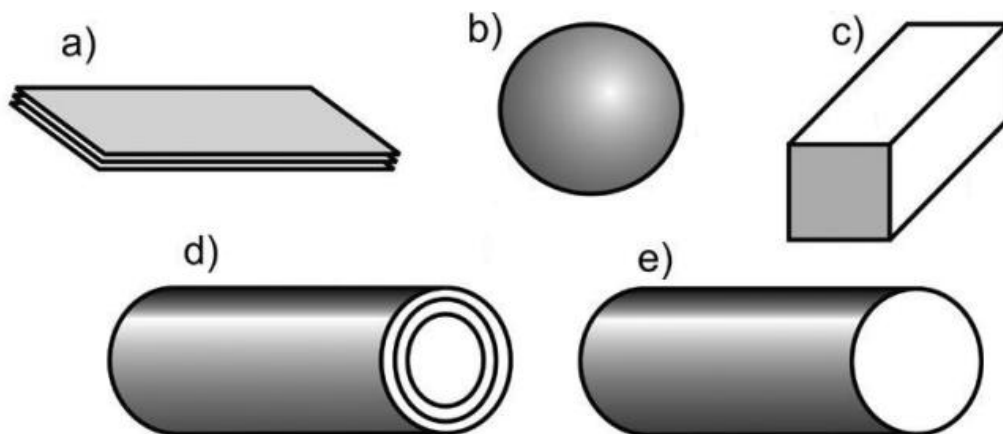
Fonte: DIEBOLD, 2003.

O dióxido de titânio do tipo anatase foi utilizado como precursor na preparação dos nanotubos de titanatos ($\text{TiNTs} - \text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) utilizados neste trabalho. Os titanatos podem ser derivados do TiO_2 , quando se adiciona à sua estrutura átomos de outros elementos, geralmente metais alcalinos (ALVES, 2009), como o sódio, por exemplo. O TiO_2 é um dos mais versáteis óxidos metálicos existentes nos últimos anos, sendo que o número de compostos inorgânicos sintetizados a partir desses precursores está crescendo cada vez mais (SILVA, 2012).

Os titanatos podem apresentar diferentes nanoestruturas, tais como nanofolhas, nanobastões, nanopartículas, nanofibras e nanotubos, como podemos observar na Figura

3, e os parâmetros que influenciam na morfologia dos titanatos são: o tipo de precursor, tempo, temperatura, tipo de base e a molaridade de sua solução (ALVES, 2009)

Figura 3: Morfologias típicas de nanoestruturas de titanato: a) nanofolhas, b) nanopartículas, c) nanofibras, d) nanotubos e e) nanobastões.



Fonte: Adaptada de SILVA, 2012.

Em meio a essas morfologias observadas na Figura 3, os nanotubos Figura 3(D) chamam atenção devido à sua morfologia nanométrica tridimensional, alongada e também constituída de lamelas internas que apresentam melhores propriedades catalíticas consequentes justamente dessa morfologia, além de possuir resistência mecânica, grande área superficial e volume poroso, alta atividade fotocatalítica, atoxicidade e baixo custo de produção (SOUZA, 2011; SANTOS, 2012).

A síntese dos nanotubos de titanato pode ser realizada de três formas: síntese hidrotérmica em meio alcalino, processo de anodização eletroquímica do titânio e método *template* (SOUZA, 2011). O método hidrotérmico destaca-se das demais porque é uma técnica simples e com bom rendimento, eficiente para obtenção de amostras com boa distribuição morfológica da nanoestrutura desejada e de baixo custo (VIANA, *et al.*, 2011) e, devido a essas características, tem sido o método mais empregado na síntese de nanoestruturas, sendo o mesmo denominado de alcalino pelo fato da reação ocorrer via interação do TiO_2 com uma solução concentrada de hidróxido de sódio (NaOH). Assim, são submetidos a um aquecimento sob pressão por um determinado período de tempo (ALVES, 2009; SANTOS, 2012). Essa síntese é um método feito em etapa simples e

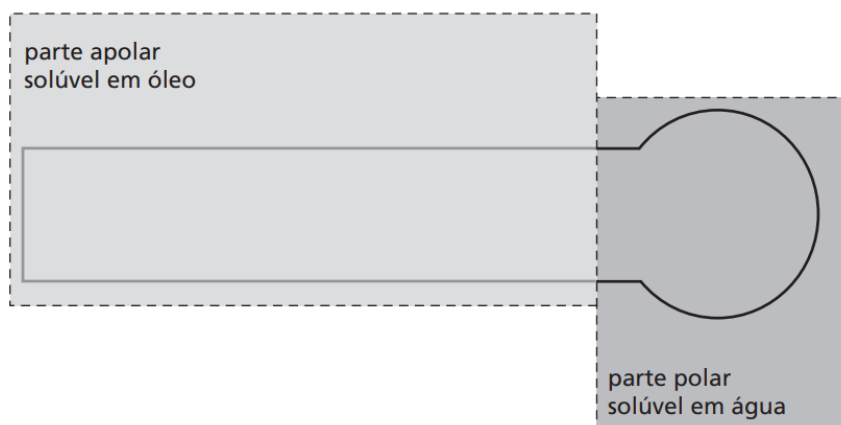
não requer equipamentos especiais, apresentando custo relativamente baixo (LINO, 2007; COSTA, 2009). De acordo com Andrade (2009) e Silva (2012), o método hidrotérmico é o mais economicamente viável para a produção em escala industrial. Apesar disso, segundo Ma e colaboradores (2011), na última década o método de anodização tem atraído interesse pela sua alta relação superfície-volume, dimensões controláveis e por ser um método de procedimento simples.

O interesse nos nanotubos de titanato, provavelmente, ocorre devido o grande leque de aplicações que esses materiais possuem, como em células solares, eletrodos para baterias, sensores, atividade fotocatalítica, além de possuir um efeito antimicrobiano, sendo também, um material biocompatível *in vivo* e muito utilizado em implantes ortopédicos (CARMO, 2009, ALVES, 2009; SANTOS, 2012).

3.4 SURFACTANTE - BROMETO DE CETILTRIMETIL AMÔNIO

Outra possibilidade de formação de nanoestruturas em sistemas *LbL* engloba o emprego de surfactantes, que são compostos que possuem atividade na interface compreendida entre duas fases, por exemplo: ar-água e óleo-água. Tais compostos que também podem ser chamados de tensoativos, caracterizam-se por possuir duas regiões distintas na mesma molécula: uma região polar (hidrofílica) e outra região não-polar (hidrofóbica), como mostrado na Figura 4 (MINATTI, 1999; BALAN, 2006).

Figura 4: Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com suas partes apolar e polar.



Fonte: DALTIM, 2011.

Um tensoativo típico possui a estrutura R-X, onde R (parte apolar) é uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8-18 átomos, na qual, normalmente, é uma cadeia carbônica (linear, ramificada ou com partes cíclicas) que, apesar de serem mais eletronegativos, os átomos de hidrogênio não formam polos de concentração de carga eletrostática. O X é a parte polar, possui carga e apresentam atração eletrostática pelas moléculas de água ao seu redor, já que estas apresentam cargas negativa e positiva na mesma molécula e é responsável pela solubilidade da molécula em água (DALTIM, 2011). Com base na carga do grupo polar, os tensoativos podem ser classificados como: não-iônicos, aniônicos, catiônicos e anfóteros (Tabela 4) (SANTOS, *et al.*, 2007; FREITAS, 2014).

Tabela 4: Principais moléculas que representam seus respectivos surfactantes.

Tipo	Principais grupos	Tensoativo
Tensoativos catiônicos	Os sais quaternários de amônio. (podem ser também: N, P, S, As, Te, Sb, Bi e os halogênios).	<ul style="list-style-type: none"> • Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB) • Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB) • Cloreto de cetilpiridino (CICP)
Tensoativos aniônico	Sais de ácidos carboxílicos (graxos) monopróticos ou polipróticos com metais alcalinos ou alcalinos terrosos, ácidos como sulfúrico, sulfônico e fosfórico contendo um substituinte de hidrocarboneto saturado ou insaturado.	<ul style="list-style-type: none"> • Dodecil sulfato sódico (SDS) • Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato sódico (Aerosol OT) • Dihexadecil fosfato (DHF)
Tensoativos anfóteros	Incluem N-alkil e C-alkilbetaína e sultaína	<ul style="list-style-type: none"> • 3-(dodecildimetil amônio) propano 1-

	como também álcool amino fosfatidil e ácidos.	sulfato (SB-12) • 4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)
Tensoativos não-iônicos	Grupos éteres e hidroxilas (éter poli(oxietileno) p-octilfenil).	• Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100) • Polioxietileno (23) dodecanol (brij 35)

Fonte: Adaptado de BALAN, 2006 e CRUZ, 2013.

Entre os surfactantes encontram-se o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), que está incluso na classe dos tensoativos catiônicos. Este polieletrólito tem muitas aplicações devido ao fato de possuir ação antimicrobiana, sendo usado em tratamentos de água, bem como na formulação de desinfetantes, cosméticos, amaciantes, dentre outros (GOMES, 2009; CRUZ, 2013).

3.5 IMPORTÂNCIA MÉDICA DO FUNGO *Cryptococcus neoformans*

Os fungos pertencem ao Reino Fungi e são organismos eucariontes e heterotróficos que apresentam uma parede celular constituída por glicoproteínas e polissacarídeos, além de uma membrana celular, cujo principal componente é o ergosterol (DEACON, 2006). Eles podem ser encontrados no meio ambiente, no solo, água, animais e alimentos, conferindo assim a estes organismos uma ampla distribuição na natureza (MENEZES, 2012).

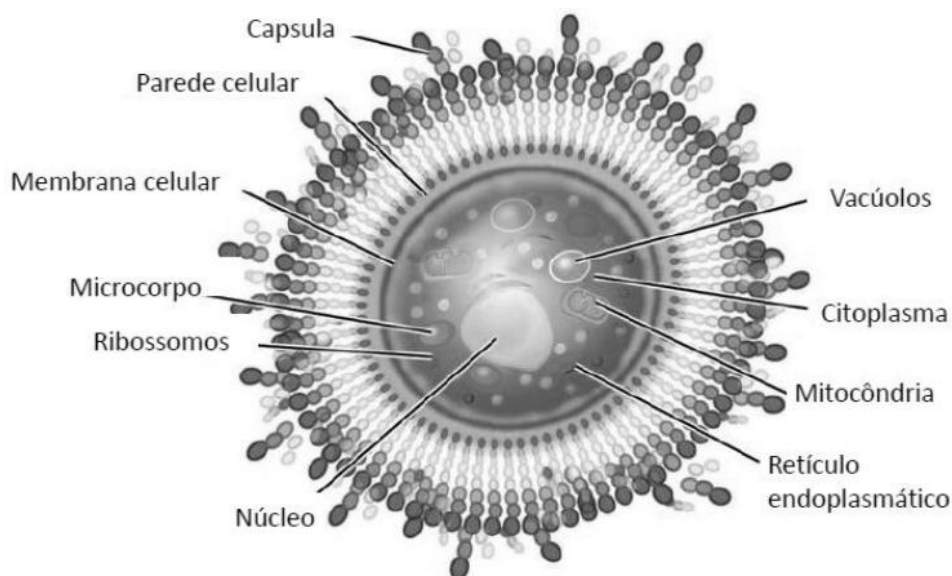
Estes organismos eucariotos podem desempenhar vários papéis que estão, de certa forma, ligados à espécie humana, desde decompor e reciclar matéria orgânica a causar doenças que podem levar a morte, como em caso de pacientes com o vírus HIV (DEACON, 2006).

A incidência de infecções causadas por fungos oportunistas esta cada vez maior com o passar dos anos, e um dos principais agentes etiológicos que contribui para o aumento das infecções são as espécies do gênero *Cryptococcus* (SCORZONI, 2008;

MARTINI, 2011; ALMEIDA; MACHADO, 2014; TRIPATHI, *et al.*, 2012, KHAN, BAIG, MEHBOOB, 2017).

O *Cryptococcus* sp. é um gênero que possui cerca de 40 espécies, e apenas duas são patógenos importante aos humanos: *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* (ABRÃO, 2015). Esses micro-organismos, morfológicamente, apresentam estruturas ovaladas unicelulares, chamadas leveduras, circundadas por uma cápsula polissacarídica (LIN; HEITMAN, 2006; SCORZONI, 2008; LIN, 2009). Na Figura 5, é apresentado um esquema da levedura de *C. neoformans* com todos os seus componentes celulares.

Figura 5: Representação esquemática da levedura de *C. neoformans*



Fonte: ABRÃO, 2015.

C. neoformans apresenta cinco sorotipos: A, B, C, D e AD. O sorotipo A é o responsável por 95% das infecções. O sorotipo D é mundialmente encontrado, sendo prevalente em climas temperados. Os sorotipos A e D são semelhantes, porém, quanto à virulência, ocorrem diferenças em modelos animais. O sorotipo AD é uma mistura das variedades A e D, com tipo de infecção comum. Os sorotipos B e C são isolados do *C. neoformans* var. *gattii* e, ambas apresentam capacidade de produzir melanina com a formação de colônias marrons no meio Agar Níger (SANTOS, 2011; QUEIROZ, 2012).

No meio ambiente, a espécie *C. neoformans* pode ser encontrado em todos os lugares e, em maior quantidade, nas excretas de aves, principalmente de pombos, depositadas nas paredes e tetos de casas e prédios, também estando presente no solo. A

partir das excretas, as leveduras ficam suspensas no ar e podem entrar em contato com os humanos por inalação causando doenças como, por exemplo, meningite criptocócica, que causam infecção do sistema nervoso central (SNC), sendo que, portadoras do vírus HIV que desenvolvem AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Humana) estão mais propensos, devido o comprometimento de sua resposta imune (LIN; HEITMAN 2006, LI; MODY 2010).

4. PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

4.1 METODOLOGIA

Este estudo prospectivo foi realizado por meio de uma busca de artigos nas bases dos periódicos SCIELO, SCOPUS e WEB OF SCIENCE, e de patentes nas bases Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), Escritório Europeu de Patentes (EPO) e na base Escritório Norte-americano de Marcas e Patentes (USPTO). A busca foi realizada em Fevereiro de 2018 para artigos publicados no período de 2009 a 2018 e para os pedidos de patentes não foi delimitada restrição de tempo.

O levantamento iniciou-se com a busca de artigos utilizando as palavras-chave “*Film AND TiO₂*” e “*Thin Film and TiO₂*” delimitadas ao campo “título, resumo e palavras-chave”, em seguida, foram adicionadas a pesquisa as palavras-chave *PANI*, *CTAB*, *Antimicrobial* e *Antifungal* resultando nas seguintes combinações de palavras mostradas na Tabela 5.

Tabela 5: Combinações de palavras-chave utilizadas para busca nos bancos de dados de artigos e patente.

PALAVRAS-CHAVE
Film AND TiO₂¹
Thin Film AND TiO₂
Thin Film AND TiO₂ AND PANI²
Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND Antimicrobial
Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND Antifungal
Thin Film AND TiO₂ AND CTAB³

Thin Film AND TiO₂ AND CTAB AND Antimicrobial

Thin Film AND TiO₂ AND CTAB AND Antifungal

Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND CTAB

Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND CTAB AND Antimicrobial

Thin Film AND TiO₂ and PANI AND CTAB AND Antifungal

1- Titanium dioxide 2- Polyaniline 3- Cetyltrimethylammonium Bromide

Fonte: Aatoria própria (2018)

Durante a busca as palavras-chave TiO₂ (*Titanium dioxide*), PANI (*Polyaniline*) e CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*) foram pesquisadas em forma de sigla e também em sua nomenclatura completa. Os resultados foram analisados e excluídos os artigos que se repetiam, o restante foi somado a fim de se obterem o número de artigos resultantes da pesquisa.

O banco de dados da SCIELO é um banco latino-americano e a pesquisa foi realizada colocando as palavras-chave em inglês, português e espanhol. Os resultados foram somados e excluídos os repetidos.

O levantamento realizado para as patentes na INPI e USPTO foram delimitadas no campo “resumo” e, para EPO, no campo “Título ou Resumo” utilizando as palavras da Tabela 11. O INPI é uma base Nacional, portanto, as palavras usadas na busca foram em português. Nas demais pesquisas de patente, utilizaram-se as palavras na língua inglesa.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 ANÁLISE DOS ARTIGOS PUBLICADOS

Os números de artigos encontrados com as palavras-chave escolhidas estão discriminados na Tabela 6. Foram pesquisados os termos combinados originando combinações de duas ou mais palavras-chaves e as buscas forem delimitada aos campos de “título, resumo e palavras-chave”.

Tabela 6: Número de artigos encontrados com combinações de palavras-chave nos bancos de dados da *Scielo*, *Scopus* e *Web of Science*, no período de 2009 a 2018.

PALAVRAS-CHAVE	SCIELO	SCOPUS	WEB OF SCIENCE
Film and TiO₂	51	15893	45758
Thin Film AND TiO₂	13	6468	14714
Thin Film AND TiO₂ and PANI	0	59	129
Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND Antimicrobial	0	0	0
Thin Film AND TiO₂ AND PANI AND Antifungal	0	0	0
Thin Film AND TiO₂ AND CTAB	0	7	21
Thin Film AND TiO₂ AND CTAB AND Antimicrobial	0	1	1
Thin Film AND TiO₂ AND CTAB AND Antifungal	0	0	0
Thin Film AND TiO₂ and PANI AND CTAB	0	0	0
Thin Film AND TiO₂ and PANI AND CTAB AND Antimicrobial	0	0	0
Thin Film AND TiO₂ and PANI AND CTAB AND Antifungal	0	0	0

1- Polyaniline 2- Titanium dioxide 3- Cetyltrimethylammonium Bromide

Fonte: Autoria própria (2018)

Os artigos encontrados na busca de três ou mais palavras-chave foram somados e totalizaram 218 artigos divididos entre as três bases, onde 151 foram encontrados na WEB OF SCIENCE, 67 na SCOPUS e 0 na SCIELO. Do total de 218, repetiam-se 44 artigos entre as bases. Os resumos dos 174 artigos restantes foram analisados e, com isso, 168 artigos que não estavam relacionados com atividade antimicrobiana e 3 artigos de revisão foram excluídos. Na base SCIELO foram encontradas um total de 64 artigos para as palavras-chave “*Film and TiO₂*” e “*Thin Film and TiO₂*”. O resumo dos 64 artigos foram analisados e somente 1 artigo estava relacionado a atividade antimicrobiana, o restante foi excluído.

Ao final desse processo restaram 4 artigos que estão relacionados com aplicação antimicrobiana. Esses artigos foram submetidos a um processo de triagem e foi verificada a técnica de formação do filme, materiais utilizados na formação dos filmes, técnicas de caracterização utilizadas, método adotados para o desenvolvimento dos

testes antimicrobianos e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos. Ao final do processo, restaram 3 artigos (Tabela 7) que tratam de filmes finos para aplicações antimicrobianas e que serão mais detalhadamente analisados e descritos no decorrer desta prospecção.

Tabela 7: Referências e título dos artigos publicados.

Referência	Título do artigo publicado
Dvoracek et al., 2009.	<i>Antimicrobial behavior of polyelectrolyte – surfactant thin film assemblies.</i>
Farias et al., 2014.	<i>Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications.</i>
Badran, Hussain, Ajeel, 2016.	<i>Nonlinear characterization of conducting polymer and electrical study for application as solar cells and its antibacterial activity.</i>

Fonte: Autoria própria (2018)

No ano de 2009, o artigo “*Antimicrobial behavior of polyelectrolyte – surfactant thin film assemblies*” foi publicado por Dvoracek e colaboradores. Neste estudo, os autores utilizaram um surfactante (CTAB) e um polímero sintético (PAA) na formação do filme fino e foi averiguado crescimento do filme, a microestrutura e a eficácia antimicrobiana. Os fatores que foram analisados para avaliar a eficácia antimicrobiana foram: número de bicamadas, concentração antimicrobiana, temperatura de incubação, química e tempo de espera após a deposição. A eficácia dos filmes é mais forte com mais bicamadas, temperaturas de teste mais baixas e quando se utiliza poli (cloreto de dialildimetilamônio) (PDDA) em combinação com CTAB nas camadas catiônicas.

Em seu trabalho, Dvoracek e colaboradores utilizaram a técnica de formação do filme *Layer-by-Layer*, que é uma técnica de automontagem que consiste na interação eletrostática de moléculas de cargas opostas compondo filmes com camadas catiônicas e aniônicas adsorvidas alternadamente sobre substratos sólidos. Eles usaram o CTAB na camada catiônica e PAA na camada aniônica. Para formação do filme o substrato de polímero não carregado (discos de PET) foi carregado negativamente por tratamento corona que oxida a superfície polimérica proporcionando uma melhorar adesão

catiônica. O substrato, após um processo de limpeza, foi mergulhado em cada solução por 5 minutos, com subsequentes imersões de um minuto em cada. Entre cada camada, o filme foi enxaguado com água deionizada, seco com ar e armazenado num exsiccador antes do teste. Os filmes formados foram CTAB/PAA e PDDA + CTAB/PAA.

Os autores realizaram teste contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e avaliaram os filmes quanto a sua composição, número de bicamadas, temperatura de teste e longevidade dos filmes. Em relação à composição do filme, o PDDA foi adicionado com a finalidade de melhorar a uniformidade do filme fazendo com que as moléculas do CTAB estejam mais facilmente espalhadas por todo filme *LbL*, gerando uma taxa maior no crescimento da espessura do filme e eficácia antimicrobiana. Quanto ao número de bicamadas foram testados filmes de 10 e 20 bicamadas e observaram que filmes de 10 bicamadas com PDDA apresentaram maior zona de inibição. Ao averiguar variadas temperaturas nos testes, conclui-se que a ação bacteriana foi mais eficaz a temperaturas baixas e em relação à longevidade, o filme é eficaz por um período de 4 a 6 dias de atividade após exposição continua a bactérias saudáveis. A Tabela 8 apresenta as técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Dvoracek e colaboradores (2009).

Tabela 8: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Dvoracek e colaboradores (2009).

Técnica de formação do filme	Substrato utilizado na formação do filme	Arquitetura dos filmes testados	Número de camadas utilizadas no teste	Espécies utilizadas nos testes antimicrobianos		
				Bactéria Gram-positiva	Bactéria Gram-negativa	Fungos
<i>LbL</i> ¹	Discos de PET ²	CTAB ³ / PAA ⁴ e PDDA ⁵ + CTAB / PAA	10 bicamadas	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	N.E.

1. *Layer-by-Layer*

2. Poli (tereftalato de etileno)

3. Brometo de cetiltrimetilamônio

4. Poli (ácido acrílico)

5. Poli (cloreto de dialildimetilamônio)

N.E.: Nenhum encontrado.

Fonte: Autoria própria (2018)

No segundo artigo, Farias et al. (2014) publicaram o artigo “*Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications*”. Os autores neste estudo utilizaram na formação do filme fino um polímero (PANI) e um material cerâmico (o TiO_2 que é um material semiconductor do tipo óxido metálico), com a finalidade de melhorar a dispersão do material cerâmico e aumentar o potencial antimicrobiano foi utilizado um surfactante (CTAB) na formação do filme. Foi avaliada a influência da deposição dos materiais imobilizados na forma de filme fino e dos meios para dispersão cerâmica.

Neste trabalho os autores também utilizaram a técnica *LbL* para produção dos filmes. Esta técnica, além de formar o filme por interações eletrostática, também possui outras formas de interação, tais como, forças de Van Der Waals, ligações de hidrogênio, forças dispersivas ou de London. Diante da variedade de interações que podem ocorrer entre os materiais pela técnica *LbL*, Farias e colaboradores (2014) usaram na formação dos filmes finos dois compostos catiônicos, a PANI e o CTAB, o TiO_2 foi disperso na solução de PANI ou na solução de CTAB dependendo da arquitetura do filme a ser formado. O substrato de vidro foi imerso nas soluções alternadamente por 5 min e a cada monocamada depositada o substrato foi enxaguado e seco sob fluxo suave de N_2 . A solução contendo o TiO_2 disperso foi submetido a agitação manual antes da imersão do substrato. A arquitetura dos filmes formados foram PANI(TiO_2)/CTAB, PANI/CTAB(TiO_2), CTAB(TiO_2)/PANI e CTAB/PANI(TiO_2).

Farias e colaboradores (2014) ao realizar os testes verificaram variáveis, tais como, número de bicamadas dos filmes *LbL* (10 e 20 bicamadas), e meio de dispersão no TiO_2 (PANI ou CTAB) para o filme onde o CTAB está na camada mais externa (PANI/CTAB). Os testes foram realizados contra bactérias *S. aureus* e foi observado que o filme de 20 bicamada mostrou uma zona de inibição total do crescimento da *S. aureus* para o filme onde o TiO_2 estava disperso na solução de PANI na arquitetura PANI(TiO_2)/CTAB. Os filmes mostraram integridade estrutural mesmo após o contato com a superfície úmida do ágar que pode ser observado quando o filme foi removido de uma placa de ágar após um primeiro teste antimicrobiano e colocado em outra placa inoculada, mantendo o filme visivelmente intacto e sem qualquer variação em sua atividade antibacteriana. A Tabela 9 apresenta as técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Farias e colaboradores (2014).

Tabela 9: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura, números de camada dos filmes e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Farias e colaboradores (2014).

Técnica de formação do filme	Substrato utilizado na formação do filme	Arquitetura dos filmes testados	Número de camadas utilizadas no teste	Espécies utilizadas nos testes antimicrobianos		
				Bactéria Gram-positiva	Bactéria Gram-negativa	Fungos
<i>LbL</i> ¹	Substrato de vidro	PANI ² (TiO ₂) ^{3/} CTAB ⁴	20 bicamadas	N.E.	<i>S. aureus</i>	N.E.

1. *Layer-by-Layer* 2. Polianilina 3. Dióxido de titânio 4. Brometo de cetiltrimetilamônio
N.E.: Nenhum encontrado.

Fonte: Autoria própria (2018)

O último artigo selecionado após a triagem da pesquisa foi publicado por Badran, Hussain e Ajeel (2016) com título de “*Nonlinear characterization of conducting polymer and electrical study for application as solar cells and its antibacterial activity*”. Neste estudo um polímero (POMA) foi utilizado na formação de um filme e suas propriedades ópticas e elétricas foram estudadas com finalidade de aplicação em células solares e foi avaliada a atividade antibacteriana deste filme fino.

Os autores utilizaram a técnica *spin coating* para formação do filme. A palavra *spin* significa rotação e esta técnica consiste em depositar gotas da solução de interesse sobre um substrato que está em movimento de rotação. Os autores depositaram POMA em substratos de vidro pelo método de revestimento por rotação com diferentes velocidades 1000 rpm, 2000 rpm, 3000 rpm, 4000 rpm e 5000 rpm resultando em filmes com espessura 124,5 nm, 87,66 nm, 74 nm, 72 nm e 35 nm, respectivamente.

Foi realizado também a atividade antimicrobiana de POMA por ensaio de difusão em discos de ágar onde poços foram preenchidos com 30 µL na concentração de 50 mg/mL e foram testados contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas como mostrado na Tabela 10. A maior zona de inibição foi observada contra *E. coli* e a zona mínima de inibição foi contra *S. pyogenes*.

Tabela 10: Técnicas de formação, substrato utilizado, arquitetura dos filmes, concentração e espécies utilizadas nos testes antimicrobianos por Badran, Hussain e Ajeel (2016).

Técnica de formação do filme	Substrato utilizado na formação do filme	Arquitetura dos filmes testados	Concentração utilizada no teste	Espécies utilizadas nos testes antimicrobianos		
				Bactéria Gram-positiva	Bactéria Gram-negativa	Fungos
<i>Spin coating</i>	Substrato de vidro	POMA ¹	Poços com 30 µL na concentração de 50 mg/mL	<i>S.aureus</i> e <i>S.pyogenes</i> ²	<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> ³ e <i>P.mirabilis</i> ⁴	-

1. Poli (*o*- metoxianilina) 2. *Streptococcus pyogenes* 3. *Klebsiella pneumoniae*
4. *Proteus mirabilis*

Fonte: Autoria própria (2018)

Diante de todo o contexto apresentado é possível afirmar que polímeros (PAA, PDDA, POMA e PANI), surfactantes (CTAB) e material cerâmico (TiO₂) podem estar associados na forma de filmes finos e ser fabricados para combater microrganismos, tais como bactérias. Vale resaltar que nenhum trabalho foi encontrado na pesquisa sobre filmes finos com aplicação contra fungos, mostrando a inovação do trabalho proposto aqui, tanto no que se refere a sua aplicação quanto aos materiais empregados.

4.2.2 ANÁLISE DAS PATENTES DEPOSITADAS

Atualmente os estudos referentes à prospecção tecnológica têm aumentado com o intuito de verificar as tendências de crescimento e interesse em aplicações de determinados produtos. Segundo Santana *et. al.* (2014), a prospecção consiste em tentar antecipar os avanços e posicionar de modo a influenciar a orientação das trajetórias tecnológicas, ou seja, lançar-se à frente e garantir a competitividade das instituições de pesquisa e as necessidades dos pacientes.

A pesquisa sobre patentes foi efetuada em três bases *Espacenet*, USPTO e INPI. Primeiramente a busca foi realizada pelas palavras-chave descritas na Tabela 11 e em seguida, discutida levando em consideração o número de patentes encontradas em cada base.

Tabela 11: Número de patentes depositadas por Base.

PALAVRAS-CHAVE	INPI	EPO	USPTO
Thin Film AND Antimicrobial coating	0	0	0
Thin Film AND Antibacterial coating	0	3	0
Thin Film AND Antifungal coating	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2018)

Foram encontradas somente três patentes com as palavras-chave “*Thin Film AND Antibacterial coating*” para a base EPO. Na Tabela 12 estão descritas as principais informações e um resumo das duas patentes encontradas com filme finos aplicados como revestimentos antimicrobianos.

Tabela 12: Principais informações das 3 patentes encontradas na EPO.

Inventor / Ano	Número de publicação	Produto	Aplicação	Resultado	Classificação internacional
DUAN JIUFANG, 2015	CN104558663 (A)	Filme fino a base de materiais degradáveis de polímero natural e de materiais degradáveis sintéticos	Revestimento antibacteriano	Boa propriedade antibacteriana e degradabilidade	B65D65/38 C08J5/18 C08J7/04 C08J7/12 C08K5/053 C08L3/02 C08L67/02 C08L67/04
LIU PENG & ZHAO YONGCHUN, 2015	CN104357814 (A)	Liga de titânio contendo um revestimento antibacteriano	Implante de liga de titânio que pode atuar nos campos de reparo e regeneração de tecido ósseo.	Um excelente efeito antibacteriano que pode ser alcançado com uma concentração de efeito relativamente baixa	A61L27/06; A61L27/28; A61L27/54; B22F9/24; B82Y40/00; C23C18/42

ZENG XIAODAN, <i>et al</i> , 2017	CN106832379 (A)	Filme de conservação de ácido poliláctico contendo ingredientes antibacterianos naturais	Conservação de material	-	C08J7/04; C08K3/08; C08L67/04; C09D4/02; C09D4/06; C09D5/14
--------------------------------------	-----------------	--	-------------------------	---	--

Fonte: Autoria própria (2018)

A patente cujo inventor é Duan Jiufang (2015) foi classificada nas seções B e C e nas classes 65 e 08, resultando nos códigos B65 e C08. A seção B diz respeito a Operações de desempenho e transporte e a seção C está relacionada Química e Metalurgia, as classes 65 e 08 dizem respeito ao transporte; embalagem; armazenamento; manuseamento de matéria fina ou filamentar e a Compostos macromoleculares orgânicos; sua preparação ou trabalho químico; composições a base, respectivamente. A patente de Liu Peng & Zhao Yongchun (2015), além de ser incluída nas mesmas seções (B e C) da patente de Duan Jiufang, também foi classificada na seção A que diz respeito Necessidades Humanas. Na seção A foi inserida somente a uma classe, a 61 que se trata de Ciência médica ou veterinária, e higiene. Na seção B foi incluída a duas classes, a Peça de fundição; metalurgia do pó (22) e a Nanotecnologia (82). Na seção C faz parte da classe 23 se trata de Material metálico de revestimento; material de revestimento com material metálico. A patente que foi depositada mais recente de Zeng Xiaodan e colaboradores (2017) está incluída somente na seção C nas classes 08, assim como na patente de Duan Jiufang (2015), e 09 que inclui corantes; pinturas; polidores; resina natural; adesivos; composições válidas; aplicações válidas de materiais.

As patentes encontradas juntamente com o resultado da busca de artigos, de uma forma geral, mostraram que os filmes finos para aplicações em revestimentos antimicrobianos ainda são poucos explorados, apesar de sua relevância.

4.3 CONCLUSÃO

Os dados apresentados nos mostraram um total três artigos que tratam de filmes finos para aplicações antimicrobianas, e nestes estudos os testes foram realizados

somente contra bactérias. Na busca de patentes depositadas foram encontradas três patentes que confirmam o potencial dos filmes finos para aplicações em revestimentos antibacterianos, entretanto não existem trabalhos que envolvam filmes para revestimentos que contra fungos patógenos.

Esta pesquisa nos mostrou que filme fino para aplicação em revestimentos antimicrobianos é uma área em desenvolvimento, ainda pouco explorada, porém com grande potencialidade para vários estudos.

5. ARTIGO SUBMETIDO (Tradução para língua portuguesa)

Revestimentos antifúngicos baseados em compósitos de Polianilina-TiNTs/CTAB: Síntese, Caracterização e Atividade Antifúngica

Natália de Araujo Dionisio¹, Emanuel Airton de Oliveira Farias¹, Thiago Araújo Marques¹, Patrick V. Quelemes¹, Alyne Rodrigues de Araujo¹, Fernanda Machado Fonseca², Ludyane Nascimento Costa³, José Milton E. Matos³, José Roberto S. A. Leite¹, Peter Eaton⁴ e Carla Eiras^{1,5*}

1. Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, CMRV, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil.

2. Departamento de Biomedicina, CMRV, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil

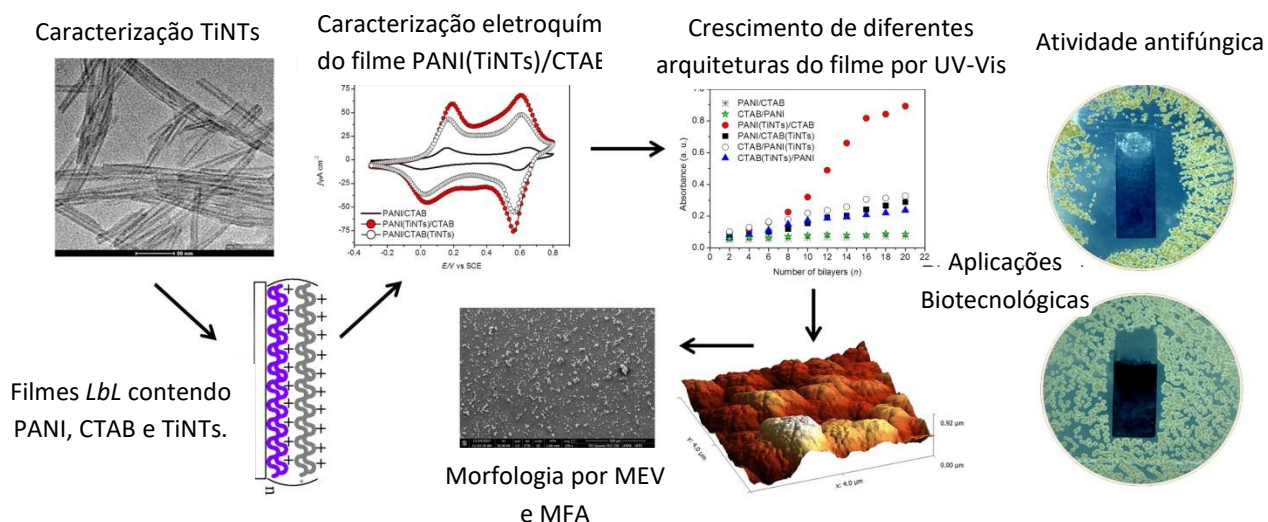
3. Laboratório de Física de Materiais, FISMAT, CCN, UFPI, Teresina, PI, 64049-550, Brasil

4. LAQV-REQUIMTE, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, Porto, 4169-007, Portugal.

5. Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados, LIMAV, CT, UFPI, Teresina, PI, 64049-550 Brasil.,

* Autor correspondente: carla.eiras.ufpi@gmail.com

Resumo gráfico



RESUMO

Os filmes *Layer-by-Layer (LbL)* foram desenvolvidos para múltiplas aplicações, incluindo revestimentos funcionais com atividade antimicrobiana. No entanto, o efeito deste tipo de material contra fungos ainda não é conhecido. Neste trabalho, descrevemos o desenvolvimento de filmes de *LbL* com base em Polianilina (PANI), Titanato Nanotubos (TiNTs - $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) e Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB) para aplicações em revestimentos antifúngicos. Os filmes *LbL* desenvolvidos foram caracterizados por Voltametria Cíclica (VC), Espectroscopia na região UV-Visível (UV-Vis), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Força Atômica (MFA). Por UV-Vis, observou-se um efeito interessante: dependendo do meio de dispersão de TiNT, o crescimento dos filmes diferiu consideravelmente. Especificamente, no caso dos filmes PANI (TiNTs)/CTAB, observou-se uma curva de crescimento muito diferente, levando a uma absorbância consideravelmente maior do que as demais arquiteturas de filmes testadas. A morfologia do filme contendo 20 bicamadas de PANI (TiNTs)/CTAB sugeriu um padrão de distribuição uniforme de TiNTs no filme, provavelmente devido ao efeito anfifílico de CTAB. Este filme também mostrou excelente atividade contra os fungos *Cryptococcus neoformans* (ATCC 28957 e ATCC 28958), mostrando grandes zonas de inibição. O material desenvolvido neste trabalho é um excelente candidato para o revestimento de tubos de ar condicionado, pois, além da atividade antifúngica, também agrega as propriedades anticorrosivas e purificadoras de ar presentes em PANI e TiNTs.

palavras-chave: *Layer-by-Layer*; Polianilina; Titanato Nanotubos; Antifúngico.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são na sua maioria seres discretos e podem ser encontrados habitando ambientes diversos. Poucas espécies de fungos são suficientemente virulentas para serem considerados patógenos primários. Essas espécies são geralmente encontradas no solo ou parasitando plantas. A literatura relatou a presença de fungos patogênicos nas fezes de alguns pássaros, como aves de rapina, aves migratórias e pombos, sugerindo

que esses animais são portadores e potencialmente responsáveis pela propagação de infecções causadas por fungos [1].

Fungos do gênero *Cryptococcus* sp. estão entre os principais agentes etiológicos de infecções invasivas em indivíduos imunocomprometidos [2], no entanto ocasionalmente também podem causar doenças em indivíduos saudáveis. *Cryptococcus neoformans* são capazes de colonizar uma variedade de superfícies, tais como dispositivos médicos (cateteres, próteses, etc.), incluindo ambientes extrínsecos, tais como tubos de ar que podem ser contaminados após a deposição de matéria fecal de aves infectadas [3,4]. Assim, a prevenção de infecções microbianas por revestimento com filmes finos antimicrobianos de superfícies suscetíveis à contaminação por esses microrganismos aparece como uma boa estratégia. Neste contexto, a nanotecnologia destaca-se por proporcionar benefícios potenciais para a saúde humana, incluindo a contribuição no desenvolvimento de novos materiais para aplicações em revestimentos multifuncionais [5, 6]. O estudo deste tipo de material tem vindo a ganhar destaque devido a uma série de possibilidades, incluindo aplicações em revestimentos antimicrobianos, antifúngicos e revestimentos anticorrosivos [6, 7].

O desenvolvimento de filmes finos nanoestruturados é uma alternativa atrativa, pois incorpora além da atividade antimicrobiana, outras propriedades ao material de revestimento. Os filmes finos têm a possibilidade de auto-organização molecular, dependendo da técnica específica e dos materiais utilizados [8]. Além disso, estes filmes podem ser aplicados como revestimentos de superfície [6,9] no desenvolvimento de sensores [10] e em aplicações na indústria médica [11].

A técnica de automontagem *Layer-by-Layer (LbL)* é um método promissor para a produção de filmes finos. Os filmes podem ser constituídos por diversos tipos de materiais, incluindo polímeros condutores, polissacarídeos, cerâmicas, proteínas, corantes, argilas, entre outros [12-14]. A técnica *LbL* se destaca principalmente devido ao baixo custo e simplicidade experimental. Esta técnica também facilita as interações a nível molecular entre diferentes materiais, o que pode melhorar as propriedades existentes ou mesmo gerar novas características nesses materiais compostos [15].

A polianilina (PANI) é um polímero intrinsecamente condutor que tem sido utilizado na produção de filmes de *LbL* e é amplamente investigado por eletroatividade, facilidade de síntese, estabilidade química, compatibilidade ambiental, baixo custo de produção e proteção contra corrosão [16-18]. Várias aplicações foram propostas para

filmes *LbL* contendo PANI intercalados com outros materiais, por exemplo em sensores eletroquímicos [10, 19], capacitores [20], baterias recarregáveis [21] e filmes antibacterianos [22].

Os nanotubos de titanato de sódio (TiNTs- $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) são um material interessante a ser intercalado com PANI, uma vez que apresenta excelente transporte de carga, grande área de superfície, boa resistência mecânica, estrutura altamente ordenada, alta porosidade, alta atividade fotocatalítica e baixo custo de síntese [23,24]. Devido essas propriedades, as TiNTs foram aplicadas em células solares, sensores de gás, agentes fotocatalíticos, purificadores de ar e água e até mesmo em implantes ortopédicos e implantes liberadores de drogas [25-29].

Com o auxílio de suas propriedades anfífilas, o CTAB (um surfactante altamente carregado) pode auxiliar na produção de filmes *LbL* [30]. Assim, é capaz de melhorar a dispersão de materiais não solúveis em meios aquosos. Além disso, possui atividade antibacteriana [31] e antifúngica inerente [32]. Após a interação com a membrana celular de bactérias ou fungos, o CTAB pode causar o dano da mesma, com consequente extravasamento do material intracelular, causando morte celular [30,33].

Usando a técnica *LbL*, é possível combinar esses materiais em um nível molecular, ou seja, combinando as propriedades CTAB com as de PANI e TiNTs. O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de filmes *LbL* contendo a PANI intercalado junto com TiNTs e CTAB. Este último foi utilizado para melhorar a dispersão do material cerâmico no filme e para melhorar a atividade antimicrobiana. Finalmente, avaliamos a atividade antifúngica do filme contra diferentes estirpes do fungo *Cryptococcus neoformans*.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 Materiais

O CTAB foi adquirido comercialmente (Sigma-Aldrich) e usado como recebido. A PANI foi obtido na forma de base de esmeralda através de síntese química [16]. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (NANOpure Ultrapure Water System). O ácido clorídrico (HCl) (Aldrich), hidróxido de sódio (NaOH) (Aldrich) e outros reagentes utilizados foram de pureza analítica e foram utilizados como recebidos.

O processo de síntese de TiNTs baseou-se no método hidrotérmico alcalino, desenvolvido por Kasuga *et al.*, 1998. A síntese foi realizada num reator de teflon de 100 mL, revestido por um recipiente de aço inoxidável. Adicionou-se uma massa de 0,5 g do precursor (TiO₂ Anatase) em 50 mL de NaOH 10 mol/L⁻¹ e submeteu a suspensão a uma temperatura de 180 ° C durante 24 h. Após este tempo, o material foi lavado com água purificada para remover o excesso de íons de Na⁺ e centrifugado a 3600 rpm até atingir um pH de cerca de 10. No final deste processo, o material obtido foi seco em um dessecador à vácuo.

2.2 Soluções utilizadas na preparação de filmes

A solução PANI foi preparada como descrito anteriormente [22]. A solução de CTAB foi preparada em HCl (pH 2,86) a uma concentração de 0,5 g/L. Para a formação dos filmes, os TiNTs foram dispersos na solução PANI ou CTAB na concentração de 10 mg/mL, como mostrado na Figura 1. O potencial zeta das soluções PANI e CTAB foi obtido por mobilidade eletroforética (Zetasizer Nano ZS90 Malven Instruments) usando um laser de 633 nm com um ângulo de 90 °.

2.3. Preparação dos filmes *Layer-by-Layer*

A preparação de filmes *LbL* baseou-se nas interações secundárias resultantes entre as soluções policatiônicas PANI e CTAB. A Figura 1 esquematiza o processo de preparação de um filme de bicamada PANI (TiNTs)/CTAB. Para a adsorção deste filme, o substrato previamente limpo [35] foi inicialmente imerso e mantido durante 5 min na solução PANI contendo TiNTs. Posteriormente, o sistema foi lavado em solução de HCl (pH 2,86) para remover o material não adsorvido no substrato. A película monocamada PANI (TiNTs) formada no substrato foi então imersa na solução de CTAB, também durante 5 minutos, e depois lavada em solução de HCl (pH 2,86). Finalmente, obteve-se um filme bicamada PANI (TiNTs)/CTAB. A repetição deste processo torna possível a obtenção de um filme contendo o número desejado de bicamadas. É importante notar que cada passo de lavagem foi seguido por um passo de secagem com gás N₂ e que a solução contendo os TiNTs foi agitada manualmente antes da imersão do substrato.

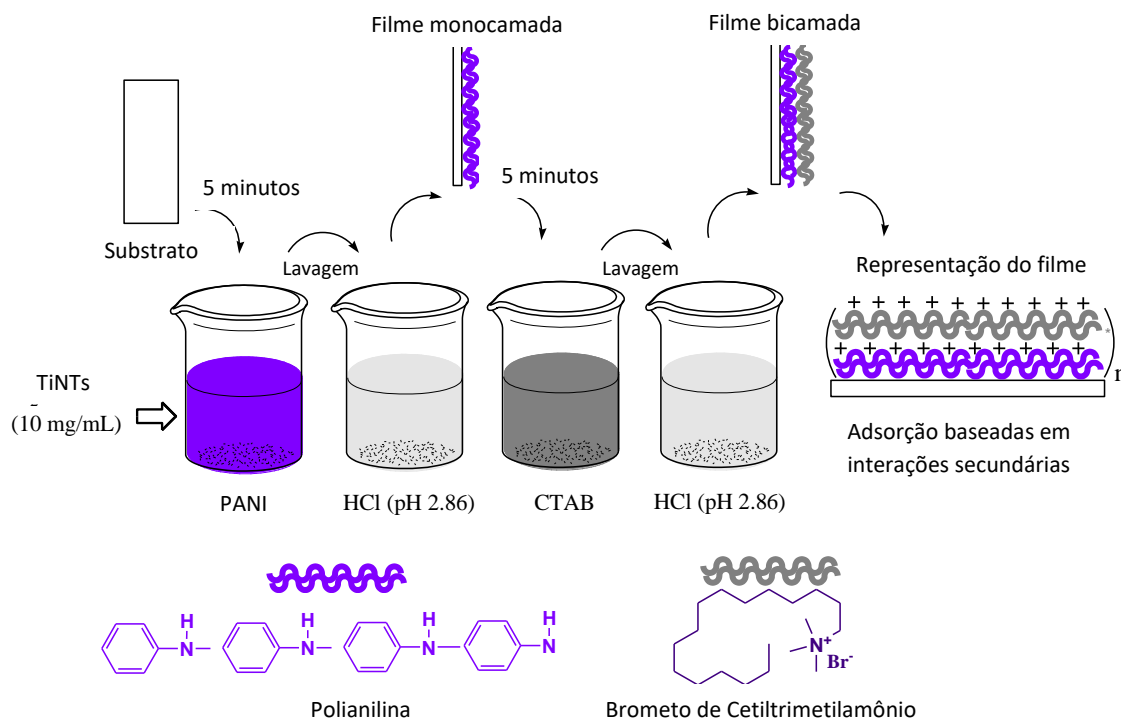


Figura 1. Esquema de preparação do filme *LbL* PANI(TiNTs)/CTAB.

Para melhor investigar o sinergismo entre os materiais de interesse, prepararam-se filmes de monocamada e bicamada, com duas arquiteturas diferentes: PANI/CTAB (sequência 01) e CTAB/PANI (sequência 02). Ambas as sequências foram preparadas na presença dos nanotubos, variando o meio de dispersão (solução PANI ou CTAB), constituindo os seguintes filmes: PANI/CTAB, PANI(TiNTs)/CTAB, PANI/CTAB(TiNTs), CTAB/PANI, CTAB(TiNTs)/PANI e CTAB/PANI(TiNTs).

2.4 Caracterização TiNTs

Os TiNTs foram caracterizados por difração de raios X (XRD), espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). A estrutura dos nanotubos foi analisada por DRX usando Shimadzu, LABX-DRX 6000, Cu-K α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite. Todas as medidas foram realizadas no intervalo de 5° a 80° , com uma taxa de varredura de 2° min^{-1} . A espectroscopia Raman foi utilizada para identificar os modos vibracionais característicos das estruturas sintetizadas usando um espectrômetro Bruker Senterra com um microscópio Olympus BX50 e um

monocromador conectado a um dispositivo acoplado por carga. Foi utilizada uma resolução de 3 cm^{-1} , laser a 532 nm e potência de saída de 5mW. O MET foi utilizado para determinar a morfologia dos nanotubos como sintetizados. As imagens MET foram obtidas por um microscópio FEI TECNAI G2S-Twin, operando a 200 KV, com uma câmera CCD Gatan e um filamento LaB6.

2.5 Caracterização de filmes *LbL*

Todos os filmes produzidos foram caracterizados pela técnica de voltametria cíclica (VC). Os voltamogramas cíclicos foram obtidos com um modelo de potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N (Metrohm Pensalab) e uma célula eletroquímica de 20,0 mL. Como eletrodo de referência, utilizou-se o eletrodo de calomelano saturado (ECS) e, como eletrodo auxiliar, uma placa de platina com área de $2,0 \text{ cm}^2$. O filme automontado em ITO (lamina de vidro revestido com óxido de estanho dopado com índio) com área de $0,35 \text{ cm}^2$ foi usado como eletrodo de trabalho. Como eletrólito de suporte utilizou-se $0,1 \text{ mol/L}^{-1}$ HCl e as medidas foram obtidas a uma temperatura de 24° C .

A espectroscopia UV-Visible foi empregada para investigar a cinética de formação de filmes, variando de 2 a 20 bicamadas. Para tais medidas, utilizou-se um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. Para os estudos espectroscópicos, os filmes foram automontados em vidro comum em vez de ITO.

A análise morfológica dos filmes foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e Microscopia de Força Atômica (MFA). Para a análise SEM, utilizou-se um modelo Quanta FEG 250 FEI, com tensão de aceleração de 1 a 30 kV, equipado com o modelo Ametek - modelo HX-1001 (detector Apollo X-SDD). As amostras foram revestidas com Au no metalizador, Quorum - modelo Q150R, por 30s, a 20 mA, e plasma gerado sob atmosfera de argon.

A caracterização por Microscopia de Força Atômica (MFA) foi realizada usando um microscópio TT-MFA (MFA WORKSHOP, CA, EUA) em modo vibratório no ar. As imagens foram coletadas com resolução de 512 pixels e em áreas de $15,0 \times 15,0 \mu\text{m}$ e $4,0 \times 4,0 \mu\text{m}$. Pelo menos três áreas diferentes foram examinadas e foram processadas pelo software Gwyddion 2.39.

2.6 Efeito antifúngico do filme com 20 bicamadas de PANI (TiNTs)/CTAB

A atividade antifúngica do filme *LbL* foi avaliada contra *C. neoformans* ATCC 28957 e *C. neoformans* ATCC 28958 pré-incubados a 35 ± 2 ° C durante 48 horas em ágar Sabouraud, de acordo com diretrizes de [36]. Para este fim, utilizamos um inóculo de colônias isoladas da cultura anterior. Foram diluídos fragmentos de colônias em NaCl estéril de 0,85% para atingir uma absorvância equivalente a 0,5 na escala McFarland ($1-5 \times 10^6$ UFC/mL) a 530 nm. A suspensão foi diluída e semeada com esfregaços estéreis em placas de Petri contendo ágar Sabouraud e depois as lâminas (previamente esterilizadas por luz ultravioleta por 30 min), contendo ou não filmes *LbL*, foram depositadas na superfície de ágar [22]. Após este procedimento, as placas foram incubadas a 35 ± 2 ° C durante 48-72 horas em condições aeróbicas após incubação das placas foram observadas e fotografadas verificando-se a presença ou não de halos de inibição.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização de TiNTs

As estruturas cristalinas de dióxido de titânio envolvidas na síntese de nanotubos incluem anatase (precursor), que Zhang e Banfield (2000) [53] mostraram ser a mais estável das três fases, com um tamanho de partícula menor que 11 nm. A Figura 2 mostra o difratograma de raios X (Figura 2A) e o espectro Raman (Figura 2B) para os TiNTs sintetizados e empregados neste trabalho. A Figura 2A mostra um padrão de difração característico de uma estrutura nanotubular, com planos cristalográficos (200), (110), (211) e (020) associados, respectivamente, com picos em torno de $9,4$ ° em relação à distância interlamelar; $24,3$ °, referindo-se aos planos diagonais formados por hidrogênio-lamela (TiO_6); $28,4$ °, referindo-se aos planos diagonais formados pela interação sódio-lamela; e $48,4$ °, referindo-se aos planos formados pela rede TiO_6 [37]. Estudos relatados por [38] indicam que esse padrão de difração é característico de uma estrutura monoclinica e está associado ao trititanato de sódio ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$).

O espectro Raman, Figura 2B, mostra bandas em torno de $158,6$ e $193,0$ cm^{-1} , relacionadas aos modos de estiramento e rede de Na-O-Ti, respectivamente. As bandas

em torno de 276,3, 445,5 e 705,3 cm^{-1} correspondem às vibrações Ti-O-Ti da rede cristalina de TiO_2 , enquanto a banda em torno de 901,5 cm^{-1} está relacionada aos alongamentos Ti-O das ligações terminais com TiO_2 com a lamelas da estrutura tubular [38].

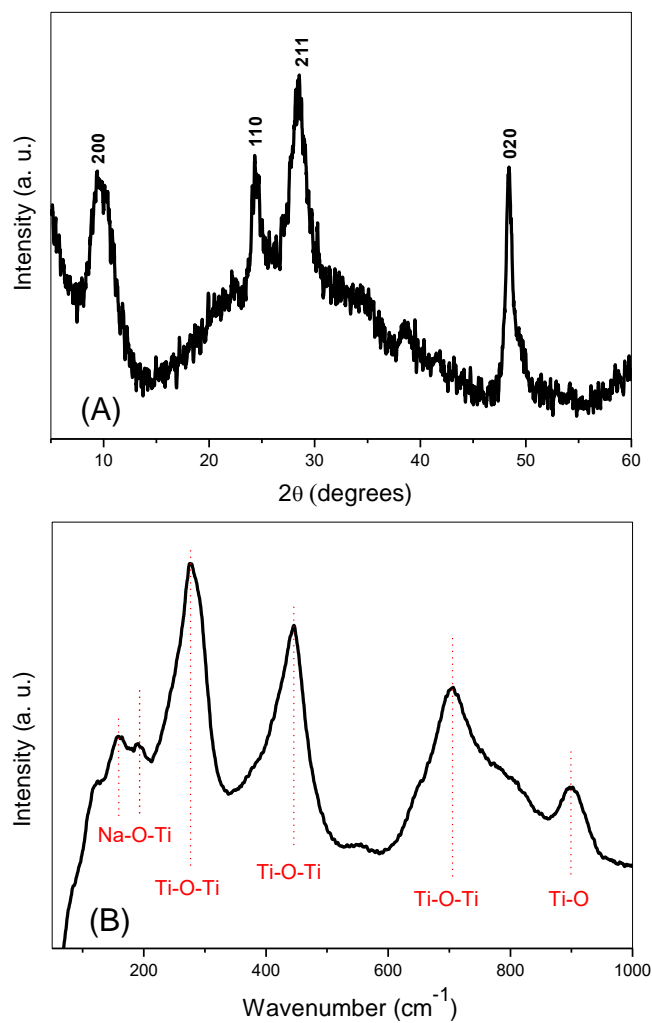


Figura 2. A) Difratoograma de raios-X e B) Espectro Raman obtido para os TiNTs sintetizados pelo método hidrotérmico alcalino.

A morfologia dos nanotubos foi confirmada por MET (Figura 3), que indicou a formação de estruturas lamelares com comprimentos variando de 74 nm a 216 nm, com um diâmetro externo médio de aproximadamente 12 nm e um diâmetro interno de 5 nm, sugerindo que o método de síntese utilizado foi efetivo para a formação das nanoestruturas propostas.

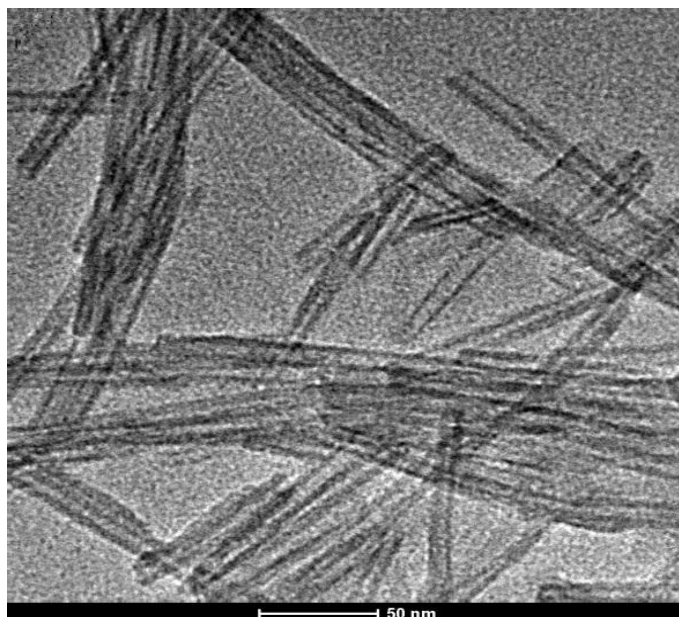


Figura 3. MET de TiNT sintetizado a 180° C por 24 h.

3.2 Caracterização eletroquímica de filmes *LbL* contendo TiNTs

Para uma melhor compreensão do sinergismo entre os materiais conjugados na estrutura do filme *LbL*, procedemos pela caracterização de cada polieletrólito (CTAB e PANI) adsorvido individualmente no eletrodo ITO, tanto na presença como na ausência de TiNTs, Figuras 4A e 4B, respectivamente.

O voltamograma cíclico obtido para o ITO não modificado, curva preta na Figura 4A, é característico deste substrato nas condições aqui utilizadas (0,1 mol L⁻¹ HCl, em $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Um perfil eletroquímico semelhante ao ITO foi observado para o filme de monocamada CTAB, Figura 4A, indicando que este material não é eletroativo nas condições empregadas. Por outro lado, a resposta eletroquímica do filme CTAB(TiNTs) monocamada, Figura 4A, mostrou um aumento na densidade de corrente e 2 pares redox reversíveis ($E_{pa1} = 0,14 \text{ V}$ $E_{pc1} = 0,12 \text{ V}$ e $E_{pa2} = 0,63 \text{ V}$ e $E_{pc2} = 0,57 \text{ V}$), que pode ser atribuído a TiNTs presentes neste filme.

A Figura 4B mostra voltamogramas cíclicos para ITO modificados com uma monocamada PANI ou PANI (TiNTs). Neste caso, a presença de TiNTs não altera o perfil eletroquímico característico da polianilina [16]. Durante a varredura anódica, a transição da forma de sal de leucoesmeraldina (LES) de PANI para o sal de esmeralda

(ES) a +0,15 V (E_{pa1}) e a conversão do estado ES em pernigranilina base (PGB) a +0,62 V (E_{pa2}) totalizando dois picos de oxidação. Na varredura catódica, dois picos de redução foram observados caracterizando a mudança de BPG para ES, a +0,57 V (E_{pc1}) e a transição de ES para LES em + 0,002V (E_{pc2}). Observou-se um efeito interessante quando o TiNTs foi disperso em solução de PANI: a densidade de corrente obtida para o polímero condutor na presença de TiNTs foi quase sete vezes superior à observada para o filme de polímero, Figura 4B. A literatura sugere que as interações entre PANI e TiO₂ (forma cristalina da anatase) podem levar a um aumento na porosidade do polímero e conseqüentemente a uma melhoria no seu transporte de carga [22] Acreditamos que esse mesmo comportamento pode ocorrer no caso de compósitos de PANI(TiNTs), quando também preparados pela técnica *Layer-by-Layer*.

Na Figura 4B pode-se observar um novo processo de redução de +0,64 V, o que pode ser atribuído a um sinergismo entre PANI e TiNTs, semelhante ao descrito em nosso trabalho anterior para o comportamento eletroquímico de compósitos de PANI/TiO₂ anatase [36].

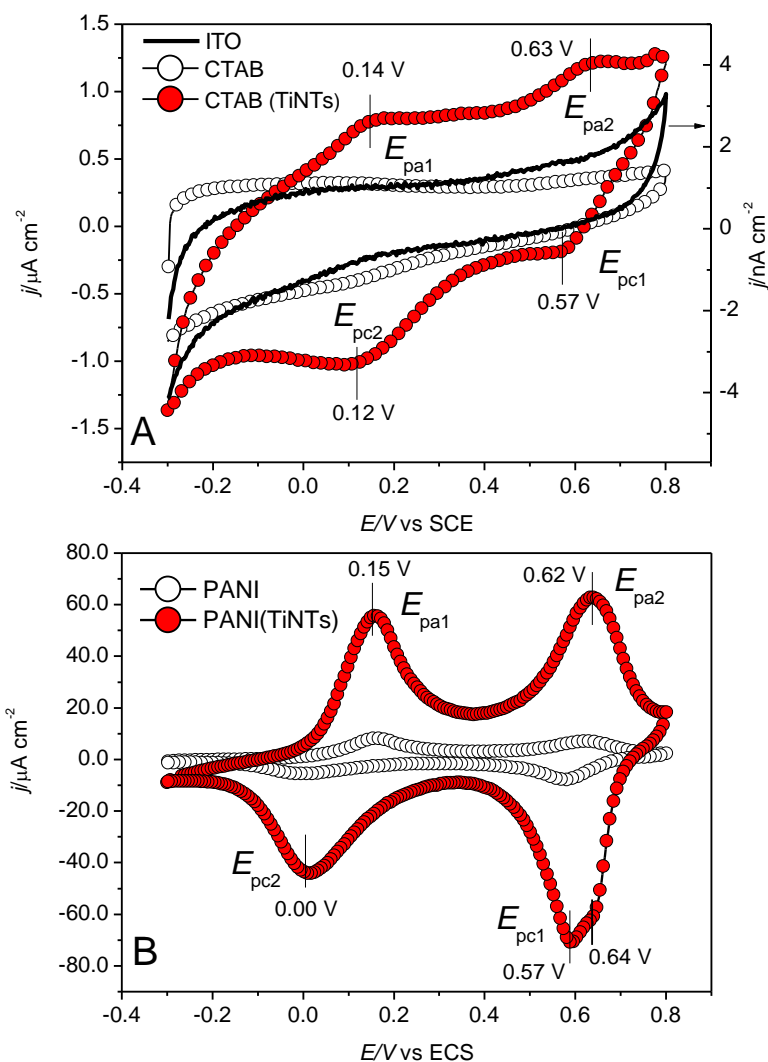


Figura 4. Os voltamogramas cíclicos registrados (A) ITO não modificado e modificados com CTAB ou CTAB(TiNTs) e (B) PANI ou PANI(TiNTs) monocamada.

Em um passo posterior, PANI e CTAB foram adsorvidos em conjunto, dando origem a filmes bicamada. Os filmes PANI/CTAB, PANI(TiNTs)/CTAB, PANI/CTAB(TiNTs), ou seja, aqueles com a PANI na camada mais interna, serão chamadas de sequência 01 e os filmes CTAB/PANI, CTAB(TiNTs)/PANI e CTAB/PANI(TiNTs) serão a sequência 02. Nesta etapa, avaliamos a influência da sequência de adsorção e do meio de dispersão de TiNTs nos valores de densidade de corrente registrada para esses filmes, Figura 5.

A Figura 5A mostra voltamogramas cíclicos obtidos para filmes preparados de acordo com a sequência 01 de adsorção, contendo ou não TiNT em ambos os meios de dispersão (solução PANI ou CTAB). Neste caso, observa-se que a presença de TiNT no

filme promove um aumento nos valores de densidade de corrente, especialmente quando TiNTs foram dispersos na solução PANI, Figura 5A.

A Figura 5B mostra voltamogramas cíclicos obtidos para os filmes preparados na sequência 02, na presença e ausência de TiNTs. Para esta sequência de adsorção, os nanotubos no filme CTAB (TiNTs)/PANI agiram como uma barreira no transporte de cargas do PANI, que estava na camada mais externa, evidenciando uma menor densidade de corrente em comparação com o filme de CTAB/PANI, Figura 5B. No entanto, quando os nanotubos foram dispersos na solução PANI, para esta mesma sequência de adsorção, observou-se novamente um aumento de corrente, um comportamento semelhante ao observado para os filmes adsorvidos pela sequência 01, Figura 5A. Esses resultados corroboram com as hipóteses levantadas de que os nanotubos interagem melhor na cadeia de polímero condutor, facilitando o transporte de cargas na interface eletrodo/eletrólito.

Em geral, observamos que a sequência de adsorção, bem como o meio de dispersão para os nanotubos, foram fatores importantes para o comportamento eletroquímico dos filmes. Deve notar-se que os perfis eletroquímicos com os valores de densidade de corrente mais altos foram obtidos para os casos em que os TiNTs foram dispersos na solução PANI e usando a sequência de adsorção 01.

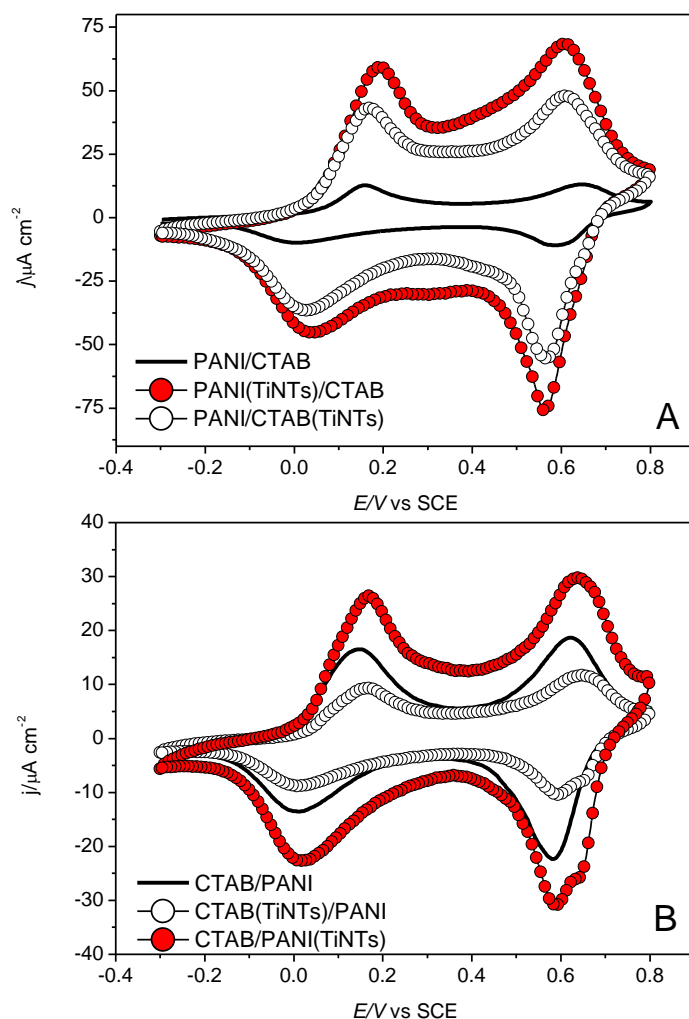


Figura 5. Voltamogramas cíclicos de filmes bicamadas de A) PANI/CTAB (sequência 01) e B) CTAB/PANI (sequência 02).

3.3. Caracterização de filmes bicamada pela espectroscopia UV-Vis

A espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) pode ser usada para relacionar o valor da máxima absorvância de pico (que ocorre no comprimento de onda característico das moléculas presentes no filme) com a massa de material presente no filme [39].

A polianilina é o único material presente no filme que mostra a absorção no UV-Vis. A Figura A01 (Apêndice) mostra as bandas de absorção da transição $\pi-\pi^*$ dos anéis de benzeno, enquanto a banda a 640 nm é atribuída ao $n-\Pi^*$ dos anéis quinoides poliméricos condutores [40,41] Os filmes montados também apresentaram bandas na região de 400 e 900 nm, atribuídas às transições polarizadas no PANI, confirmando suas

características condutoras [42,43]. Como a banda de absorção a 640 nm apareceu em todos os estudos, isso foi usado como base para estudos da cinética de crescimento de filmes.

A Figura 6 mostra a curva de crescimento destes filmes, isto é, a relação entre a absorvância a 640 nm e o número de bicamadas adsorvidas (n). A partir da análise das curvas de crescimento na Figura 6, é possível observar que, para os filmes em que os TiNTs não estavam presentes, ou seja, os filmes PANI/CTAB e CTAB/PANI, quase não houve crescimento desses filmes com passos crescentes de deposição (n), indicando que os TiNTs têm um papel muito importante no crescimento e automontagem desses filmes. Os filmes PANI/CTAB ou CTAB/PANI crescem muito pouco com o aumento de n , provavelmente essas soluções têm uma carga similar. As soluções PANI e CTAB apresentaram potencial zeta de + 34,4 e + 34,8 mV, respectivamente. Por outro lado, a literatura mostrou que quando os surfactantes iônicos, como o CTAB, quando misturados com nanoestruturas de óxido metálico, como os TiNTs, existe a formação de hemimicelas/micelas que facilitam as interações com os mais variados tipos de moléculas, através das interações que variam entre o caráter hidrofílico/hidrofóbico, a ligação aniônica ou mesmo hidrogenada [44 e 45]. É possível que a formação dessas estruturas esteja ocorrendo no material proposto aqui, o que poderia explicar o aumento das interações entre os polieletrólitos PANI e CTAB.

Conforme observado pela voltametria cíclica, os resultados obtidos pela espectroscopia UV-Vis confirmam que o melhor meio de dispersão para TiNTs é a solução PANI. Na Figura 6 pode ver-se que os filmes PANI(TiNTs)/CTAB e CTAB/PANI(TiNTs), ou seja, aqueles em que os nanotubos foram dispersos no PANI, mostraram um aumento de absorvência mais pronunciado em função do número de adsorvidos bicamadas. Acredita-se que os TiNTs quando dispersos na solução PANI e imobilizados na forma de filme fino parecem criar um maior número de locais para adsorção de materiais que serão adsorvidos nas seguintes etapas, promovendo uma melhoria na quantidade de material adsorvido em função de n . Para o filme PANI (TiNTs)/CTAB, houve um crescimento exponencial até a 16^a bicamada, o que nos leva a acreditar que, para esta configuração, as interações entre os materiais presentes no filme são muito mais sinérgicas do que as outras arquiteturas, corroborando os resultados obtidos por voltametria cíclica. Portanto, este filme foi escolhido para ser usado para os ensaios antimicrobianos mostrados na Seção 3.5.

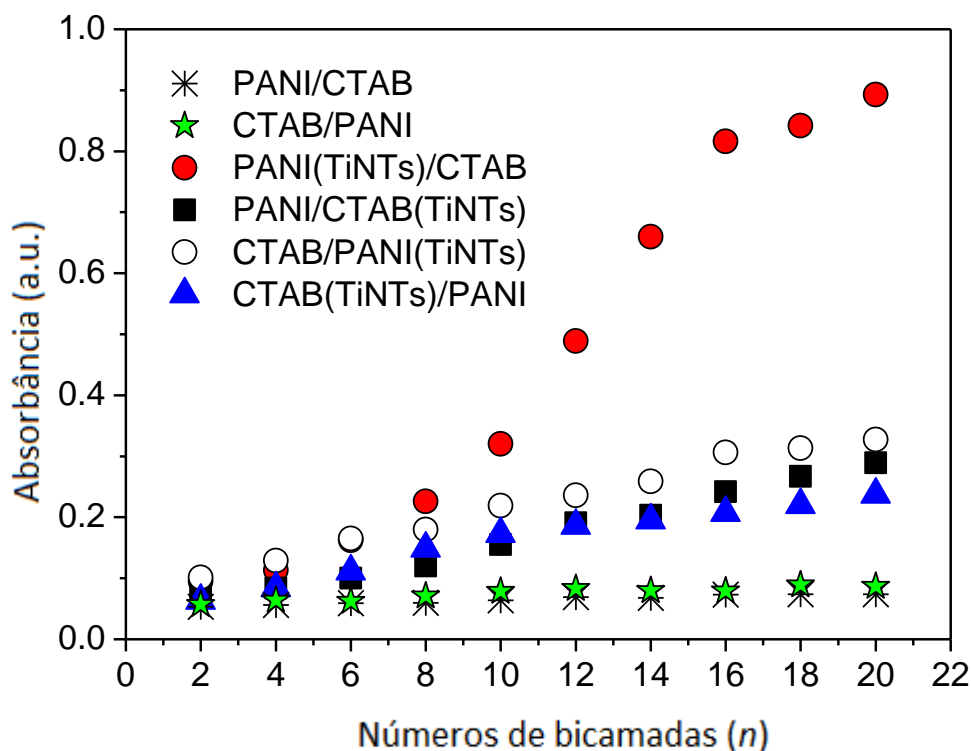


Figura 6. Curva de crescimento dos filmes de *LbL* estudados. A absorbância obtida a 640 nm para cada duas bicamadas adsorvidas (n) foi traçada em relação ao número de ciclos de adsorção de bicamada (n).

3.4 Caracterização morfológica

As Figuras 7 e 8 mostram imagens do filme PANI (TiNTs)/CTAB 20-bicamadas, obtidas por MEV e MFA, respectivamente. Na Figura 7A, observa-se um padrão granular, distribuído ao longo do filme, o que pode ser visto com mais detalhes na Figura 7B. Esses agregados têm tamanhos e formatos diferentes e são derivados da agregação dos TiNTs dispersos na solução CTAB. No 7C é possível observar detalhes desses agregados onde os TiNTs aparecem envolvidos pelo CTAB, formando macroestruturas pontiagudas. A Figura 7D mostra uma ampliação na áreas sem agregados, onde é possível observar redes de polímeros tridimensionais sobrepostas, consistentes com o método *LbL* de preparação do filme.

Para obter mais informações sobre a morfologia do material desenvolvido, as imagens MFA foram obtidas para observar a morfologia tridimensional do filme, bem como a rugosidade da sua superfície, Figura 8.

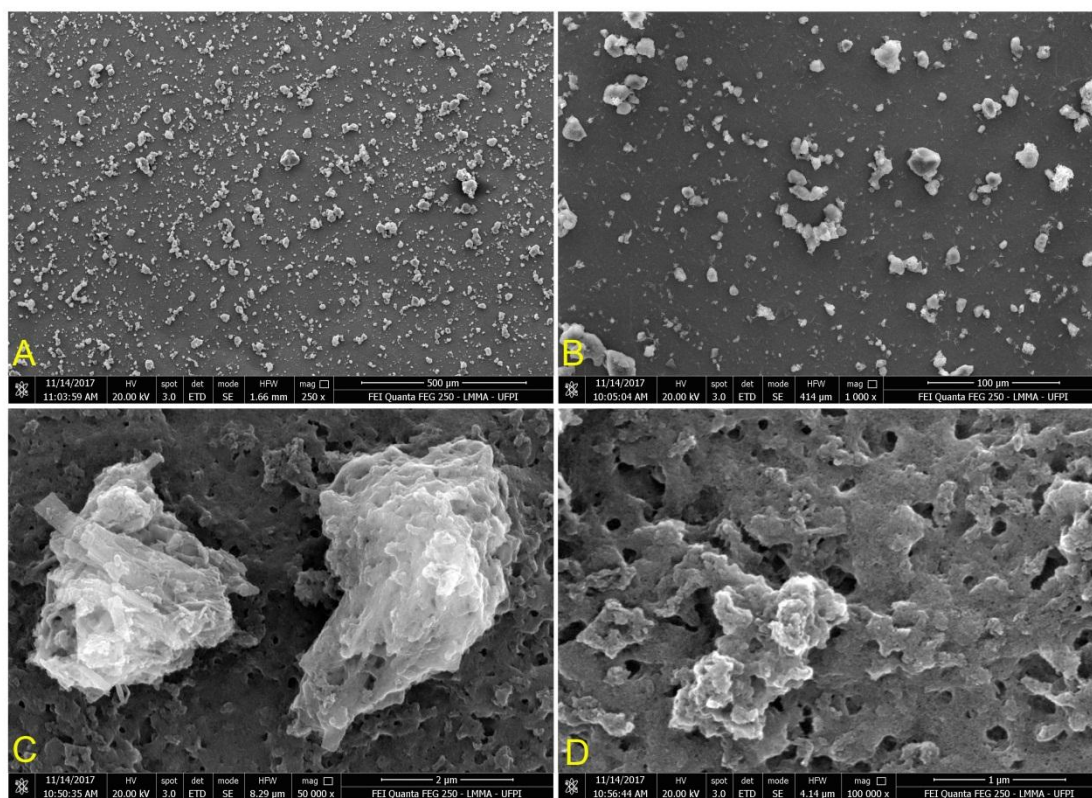


Figura 7. Imagens obtidas pela MEV para observar a morfologia do filme PANI (TiNTs)/CTAB com 20 bicamadas. As escalas no canto inferior esquerdo de cada imagem correspondem respectivamente a A) 500 μm B) 100 μm C) 2 μm e d) 1 μm .

A Figura 8 apresenta imagens MFA em diferentes tamanhos de varredura da morfologia de um filme contendo 20 bicamadas de PANI (TiNTs)/CTAB. Na Figura 8A e 8B ($15 \times 15 \mu\text{m}$), um padrão de partículas globulares pode ser observado na morfologia. Esses glóbulos parecem estar distribuídos uniformemente em toda a superfície do filme. Essas partículas tinham um tamanho médio de diâmetro de $0,73 (\pm 0,1) \mu\text{m}$ e morfologia semelhante à descrita anteriormente em filmes PANI [46-48]. Por outro lado, nas imagens de $4,0 \times 4,0 \mu\text{m}$ foram observados vários glóbulos de tamanho menor com um diâmetro de cerca de $98 (\pm 9,3) \text{nm}$, na superfície dessas partículas maiores, possivelmente devido a pequenos agregados dos nanotubos incorporados no filme, Figura 8C. A média de rugosidade foi calculada para o filme como $8,54 \pm 0,89 \text{nm}$. É importante mencionar que a rugosidade foi obtida a partir de imagens digitalizadas em $4,0 \times 4,0 \mu\text{m}$ [56].

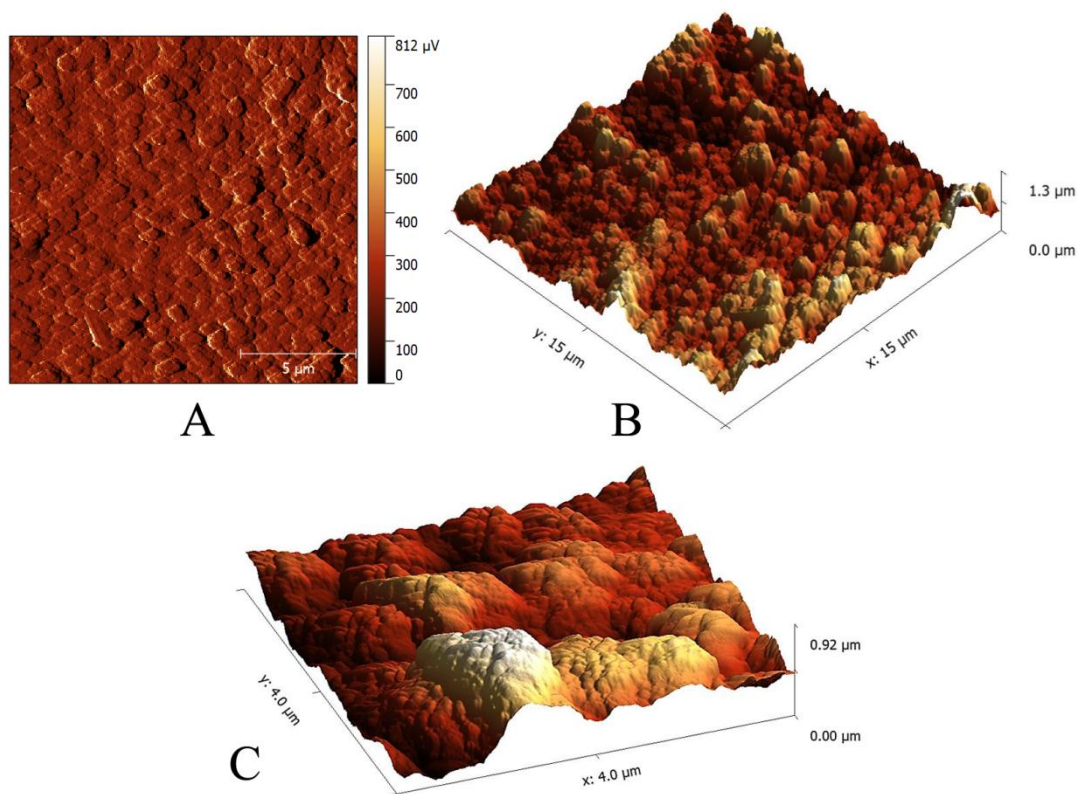


Figura 8. Imagens obtidas pelo MFA de um filme contendo 20 bicamadas de PANI (TiNTs)/CTAB. A) mostra a imagem de amplitude e B) de altura (3D) de uma área escaneada em $15 \times 15 \mu\text{m}$. C) Mostra mais detalhes da morfologia do filme a partir de uma imagem de altura digitalizada (3D) em uma área de $4 \times 4 \mu\text{m}$.

3.5 Avaliação do efeito antifúngico do filme desenvolvido

O efeito de 20 bicamadas de filme PANI(TiNTs)/CTAB depositado em lâminas de vidro contra duas cepas de *C. neoformans* (ATCC 28957 e ATCC 28958) é mostrado na Figura 9. Uma lamina de vidro limpa foi usada como controle e não impediu o crescimento de colônias da cepa de *C. neoformans* (Figura 9A e 9C). A partir dos resultados apresentados, podemos observar a inibição do crescimento fúngico mostrada pela zona de inibição ao longo e ao redor do slide após 72 horas de exposição (Figura 9B e 9D). A cepa *C. neoformans* ATCC 28958 foi mais suscetível à inibição do filme PANI(TiNTs)/CTAB (Figura 9D), mostrando uma zona de inibição maior em comparação com *C. neoformans* ATCC 28957 (Figura 9C).

A carga positiva dos surfactantes de amônio quaternário como CTAB em células microbianas tem sido frequentemente correlacionada com a ação biocida, dado que as moléculas com carga positiva líquida são capazes de matar microrganismos quando fixados ou adsorvidos em superfícies [52-54].

Um filme similar foi desenvolvido usando TiO_2 (na forma de cristal anatase), que mostrou excelente atividade contra *Staphylococcus aureus*, provavelmente devido à presença de CTAB na estrutura *LbL* [22]. No presente trabalho, a cerâmica é na forma de nanotubos e de acordo com o que foi mostrado na Figura 8, essas nanoestruturas poderiam ter aumentado a rugosidade do material e acredita-se que essa propriedade possa facilitar a ação do CTAB nos fungos estrutura celular.

Desta forma, o filme PANI(TiNTs)/CTAB mostrou um excelente efeito contra os fungos utilizados nesta pesquisa. Combinando essas propriedades com as características anticorrosivas do PANI [17], este novo material aparece como um bom candidato para o revestimento de tubos de ar condicionado de ambientes hospitalares, melhorando a eficácia desta aplicação previamente proposta.

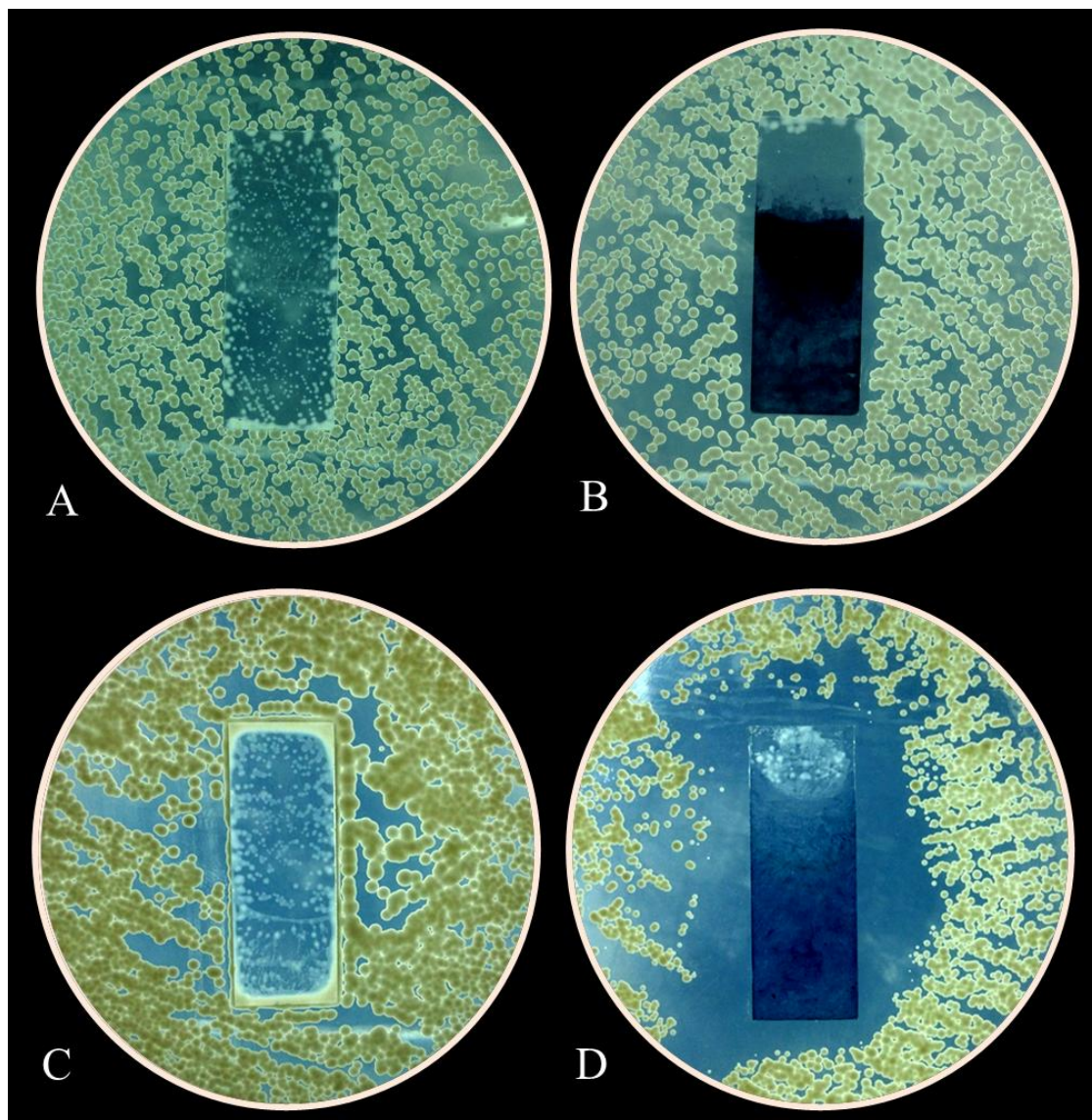


Figura 9. Atividade antifúngica do filme PANI(TiNTs)/CTAB. A e C- Lâmina de vidro limpo usado como o controle do teste antifúngico contra *C. neoformans* ATCC 28957 e *C. neoformans* ATCC 28958, respectivamente. B e D- PANI(TiNTs)/CTAB em contato com a placa inoculada com *C. neoformans* ATCC 28957 e *C. neoformans* ATCC 28958, respectivamente, após 72 horas.

4. CONCLUSÕES

Os filmes contendo PANI, TiNTs e CTAB foram preparados usando a técnica de automontagem *LbL*. As condições de preparação foram otimizadas através de experimentos espectroscópicos e eletroquímicos. O filme desenvolvido neste trabalho exibiu excelente atividade contra *C. neoformans* (ATCC 28957 e ATCC 28958). Este

novo material poderia ser usado para revestir superfícies sucessivas à colonização por *C. neoformans*, como os aparelhos de ar condicionado. Isso poderia impedir que pacientes imunocomprometidos entrem em contato com este patógeno e desenvolvessem infecções graves e difíceis de tratar.

APÊNDICE

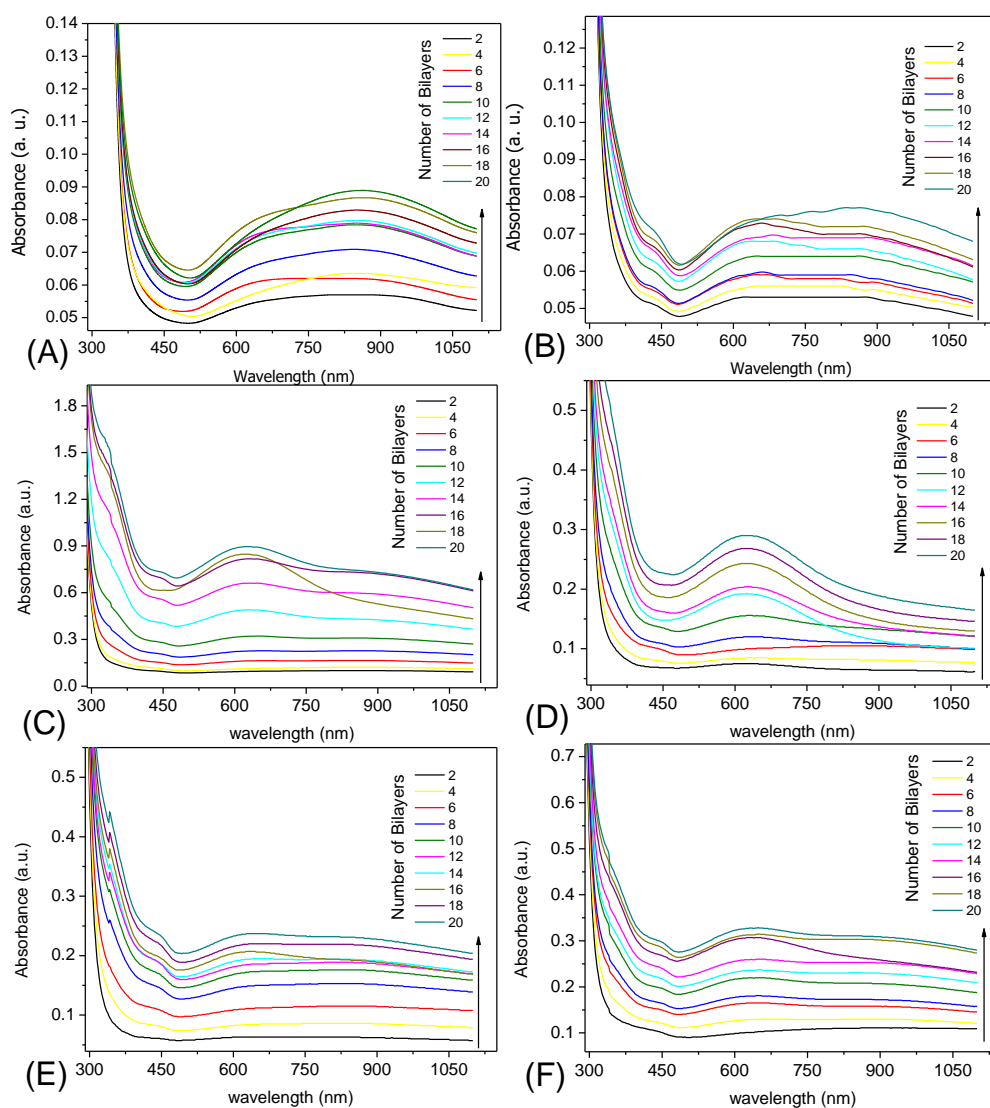


Figura A01. Os espectros obtidos para cada 2 bicamadas adsorvidos (com n variando de 2 a 20 bicamadas) para os filmes: A) PANI/CTAB, B) de CTAB/PANI, C) PANI(TiNTs)/CTAB, D) PANI/CTAB(TiNTs), E) CTAB(TiNTs)/PANI e F) CTAB/PANI(TiNTs).

REFERÊNCIAS

- [1] C. Cafarchia, D. Romito, C. Coccioli; A. Camarda, D. Otranto, Phospholipase activity of yeasts from wild birds and possible implications for human disease. *Med. Mycol.* 46 (5) (2008) 429–434.
- [2] C. Cafarchia, D. Romito, R. Iatta, A. Camarda, M. T. Montagna, D. Otranto, Role of birds of prey as carriers and spreaders of *Cryptococcus neoformans* and other zoonotic yeasts *Med. Mycol.* 44 (2006) 485–492
- [3] R. W. Botard & D. C. Kelley, A survey to determine the occurrence of *Histoplasma capsulatum* and *Cryptococcus neoformans* in air-conditioners. *Mycopathologia.* 37 (1969) 372–376.
- [4] H. A. Khan, F. K. Baig, R. Mehboob, Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance *Asian Pac J. Trop. Biomed.* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
- [5] Fournier-Wirth, C., Coste, J., Nanotechnologies for pathogen detection: Future alternatives? *Biologicals* 38 (2010) 9–13
- [6] T. Kruk, K. Szczepanowicz, D. Kręgiel, L. Szyk-Warszyńska, P. Warszyński, Nanostructured multilayer polyelectrolyte films with silver nanoparticles as antibacterial coatings. *Colloids Surf., B*, 137 (2016) 158–166
- [7] M. Cloutier, D. Mantovani, F. Rosei, Antibacterial Coatings: Challenges, Perspectives, and Opportunities. *Trends Biotechnol.* 33 (11) (2015) 637–652.
- [8] M. M. de Villiers, D. P. Otto, S. J. Strydom, Y. M. Lvov. Introduction to nanocoatings produced by layer-by-layer (*LbL*) self-assembly. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 63 (2011) 701–715.
- [9] I. Soltani, S. D. Smith, R. J. Spontak, Effect of polyelectrolyte on the barrier

- efficacy of layer-by-layer nanoclay coatings. *Journal of Membrane Science* 526 (2017) 172–180.
- [10] R. S. André, F. M. Shimizu, C. M. Miyazaki, A. Riul Jr, D. Manzani, S. J. L. Ribeiro O. N. Oliveira Jr, L. H.C. Mattoso, D. S. Correa, Hybrid layer-by-layer (*LbL*) films of polyaniline, graphene oxide and zinc oxide to detect ammonia. *Sensor Actuat B-Chem.* 238 (2017) 795–801
- [11] S. Anandhakumar, P. Gokul, A. M. Raichur. Stimuli-responsive weak polyelectrolyte multilayer films: A thin film platform for self triggered multi-drug delivery. *Mater. Sci. Eng. C.* 58 (2016) 622–628.
- [12] S. Srivastava, N. A. Kotov, Composite *Layer-by-Layer (LbL)* Assembly with Inorganic Nanoparticles and Nanowires, *Acc. Chem. Res.*, 41 (12), (2008) 1831–1841.
- [13] M. F. C. Soares, E. A. O. Farias, D. A. Silva, C. Eiras, Development and characterization of hybrid films based on agar and alizarin red S for applications as non-enzymatic sensors for hydrogen peroxide. *J. Mater. Sci.* 51 (2016) 1–15.
- [14] C. R. Bittencourt, E. A. O. Farias, K. C. Bezerra, L. M. C. Vêras, V. C. Silva, C. H. N. Costa, M. P. Bemquerer, L. P. Silva, J. R. De S. A. Leite, C. Eiras, Immobilization of cationic antimicrobial peptides and natural cashew gum in nanosheet systems for the investigation of anti-leishmanial activity. *Mater. Sci. Eng. C.* 59 (2016) 549–555.
- [15] F.N. Crespilho, V. Zucolotto, O.N. Oliveira Jr., F.C. Nart, Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review. *Int. J. Electrochem. Sci.* 1 (2006) 194–214.
- [16] L. H. C. Mattoso. Polianilinas: Síntese, Estrutura e Propriedades. *Quim. Nova*, 19 (4) (1996) 388–398.

- [17] M. Kraljic, Z. Mandic, Lj. Duic, Inhibition of steel corrosion by polyaniline coatings. *Corros. Sci.* 45 (2003) 181–198.
- [18] N. Kalaivasan, S. S. Shafi, Enhancement of corrosion protection effect in mechanochemically synthesized Polyaniline/ MMTclay nanocomposites. *Arab. J. Chem.* 10 (2017), S127–S133
- [19] L. Kumar, I. Rawal, A. Kaur, S. Annapoorni, Flexible room temperature ammonia sensor based on polyaniline. *Sensor Actuat B-Chem.*, 240, (2017) 408–416.
- [20] J. Luo, Q. Ma, H. Gu, Y. Zheng, X. Liu. Three-dimensional graphene-polyaniline hybrid hollow spheres by layer-by-layer assembly for application in supercapacitor. *Electrochim. Acta.* 173 (2015) 184–192
- [21] L. Duan, J. Lu, W. Liu, P. Huang, W. Wang, Z. Liu, Fabrication of conductive polymer-coated sulfur composite cathode materials based on layer-by-layer assembly for rechargeable lithium-sulfur batteries. *Colloid Surface A* 414 (2012) 98–103
- [22] E. A. O. Farias, N. A. Dionisio, P. V. Quelemes, S. H. Leal, J. M. E. Matos, E.C.S. Filho, I. H. Bechtold, J. R. S. A. Leite, C. Eiras, Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications. *Mater. Sci. Eng. C.* 35 (2014) 449-454.
- [23] E. Morgado Jr. M. A. S. de Abreu, O. R. C. Praiva, B. A. Marinkovic, P. M. Jardim, F. C. Rizzo, A. S. Araújo, A study on the structure and thermal stability of titanate nanotubes as a function of sodium content. *Solid State Sci.* 8 (8) (2006) 888–900.
- [24] A. Ranjitha, N. Muthukumarasamy, M., Thambidurai, D. Velauthapillai, S. Agilan, R. Balasundaraprabhu, Effect of reaction time on the formation of TiO₂ nanotubes prepared by hydrothermal method. *Optik* 126 (2015) 2491–2494.

- [25] M. Akimoto, T. Toyoda, T. Okuno, S. Hayase, Q. Shen. Effect of defects in TiO₂ nanotube thin film on the photovoltaic properties of quantum dot-sensitized solar cells. *Thin Solid Films*. 590 (2015) 90–97.
- [26] M. C. Sun, J. B. Liang, W. Q. Peng, Z. M. Wang, N. Negishi, K. Koike, Y. H. Chu, H. Q. Yin. Photocatalytic properties of fresh and pyrolyzed transparent nanocomposite films layer-by-layer fabricated from alternative layers of graphene and titanate nanotube. *Mat Sci Semicon Proc*. 40 (2015) 954–963
- [27] M. Jin, S. Yao, L-N. Wang, Y. Qiao, A. A. Volinsky. Enhanced bond strength and bioactivity of interconnected 3D TiO₂ nanoporous layer on titanium implants. *Surf Coat Tech*. 304 (2016) 459–467.
- [28] Q. Wang, J. Huang, H. Li, A. Z. Zhao, Y. Wang, K. Zhang, H. Sun, Y. Lai, Recent advances on smart TiO₂ nanotube platforms for sustainable drug delivery applications. *Int. J. Nanomedicine* (2017) 151–165.
- [29] P. Pichat, Are TiO₂ Nanotubes Worth Using in Photocatalytic Purification of Air and Water? *Molecules* 19 (2014) 15075–15087.
- [30] A. Colomer, A. Pinazo, M. A. Manresa, M. P. Vinardell, M. Mitjans, M. R. Infante, L. Pérez, Cationic Surfactants Derived from Lysine: Effects of Their Structure and Charge Type on Antimicrobial and Hemolytic Activities. *J. Med. Chem*. 54 (2011) 989–1002
- [31] M. C. Jennings, K. P. C. Minbiole, W. M. Wuest, Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance. *ACS Infect. Dis*. 1 (7) (2015) 288–303
- [32] D. B. Vieira, A. M. C. Ribeiro, Cationic lipids and surfactants as antifungal agents: mode of action. *J. Antimicrob. Chemother*. 58 (2006) 760–767.

- [33] B., Ahlström, M. Chelminska-Bertilsson, R.A., Thompson, L. Edebo,. Submicellar complexes may initiate the fungicidal effects of cationic amphiphilic compounds on *Candida albicans*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 41 (1997) 544–50.
- [34] T. Kasuga, M.; Hiramatsu, A.; Hoson, T., Sekino, K. Niihara, Formation of Titanium Oxide Nanotube. *Langmuir*, 14 (1998) 3160–3163.
- [35] Kern W (1984) Purifying Si and SiO₂ surfaces with hydrogen peroxide. *Semiconductor International* 7:94-99.
- [36] Manual Clinical and laboratory Standards Institute, CLSI (2009).
- [37] D. L. Morgan, H. W. Liu, R. L. Frost, E. R. Waclawik, Implications of Precursor Chemistry on the Alkaline Hydrothermal Synthesis of Titania/ Titanate Nanostructures. *J. Phys. Chem. C*, 114 (2010) 101–110.
- [38] B. C. Viana, O. P. Ferreira, A. G. S. Filho, J. M. Filho, O. L. Alves, Structural, morphological and vibrational properties of titanate nanotubes and nanoribbons. *J Brazil Chem Soc.* 20, (2009)167–175.
- [39] D. A. Skoog, F. J. Holler, *Princípios de Análise Instrumental*, 5^a ed., Bookman, 2002.
- [40] FU and WEISS, 1997 Fu Y, Weiss RA (1997) Protonation of polyaniline with lightly sulfonated polystyrene. *Synth. Met* 84:103-104.
- [41] Kavitha B, Prabakar K, Siva Kumar K, Srinivasu D, Srinivas Ch, Aswal VK, Siriguri V, Narsimlu N (2012) Spectroscopic Studies of Nano Size Crystalline Conducting Polyaniline. *IOSR-JAC* 2:16-19.
- [42] Y. Cao, P. Smith, A. J. Heeger. Spectroscopic studies of polyaniline in solution and in spin-cast films, *Synthetic Metals*, 32 (1989) 263–281.

- [43] N. V. Bhat, D. T. Seshadri, R. S. Phadke. Simultaneous polymerization and crystallization of aniline. *Synthetic Met.* 130 (2002) 185–192.
- [44] H. Niu, Y. Cai, Y. Shi, F. Wei, S. Mou, G. Jiang, Cetyltrimethylammonium bromide-coated titanate nanotubes for solid-phase extraction of phthalate esters from natural waters prior to high-performance liquid chromatography analysis, *Journal of Chromatography A*, 1172, (2) (2007) 113-120
- [45] D. Xiao, C. Zhang, J. He, R. Zeng, R. Chen, H. He, Platform construction and extraction mechanism study of magnetic mixed hemimicelles solid-phase extraction, *Sci Rep.* 6 (2016) 38106.
- [46] N. A. Yoshioka, H. L. R. Rocha, T. Cazati, T. M. Manhadosco, I. L. Müller, Pulsed electrodeposition of polyaniline films used as photogenerated charge transporting layers in organic photovoltaic devices, *Polímeros* 24 (1) (2014)
- [47] A. M. Meftah, E. Gharibshahi, N. Soltani, W. M. M. Yunus, E. Saion, Structural, Optical and Electrical Properties of PVA/PANI/Nickel Nanocomposites Synthesized by Gamma Radiolytic Method, *Polymers* 6 (9) (2014) 2435–2450.
- [48] X. Li, S. Tian, P. Yang, D. H. Kim, W. Knoll, One-Step Route to the Fabrication of Highly Porous Polyaniline Nanofiber Films by Using PS-*b*-PVP Diblock Copolymers as Templates, *Langmuir* 21 (21) (2005) 9393–9397.
- [49] T. G. Mitchell, J. R. Perfect. Cryptococcosis in the era of AIDS – 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev* 8 (1995) 515–548.
- [50] L. R. Martinez, A. Casadevall Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 50 (2006) 1021–1033.
- [51] L. R. Martinez, A. Casadevall, *Cryptococcus neoformans* cells in biofilms are less susceptible than planktonic cells to antimicrobial molecules produced by the innate immune system. *Infect Immun* 74 (2006) 6118–6123.

- [52] R. Kugler, O. Bouloussa, F. Rondelez, Evidence of a charge density threshold for optimum efficiency of biocidal cationic surfaces. *Microbiology* 151 (2005) 1341–1348.
- [53] J. Thome, A. Holländer, W. Jaeger I. Trick, C. Oehr, Ultrathin antibacterial polyammonium coatings on polymer surfaces. *Surf. Coat. Technol.* 174–175 (2003) 584–587.
- [54] D. B. Vieira, A. M. Carmona-Ribeiro. Cationic lipids and surfactants as antifungal agents: mode of action. *J. Antimicrob. Chemother.* 58 (2006) 760–767.
- [55] Zhang, H.; banfield, J.F. Understanding polymorphic phase transformation behavior during growth of nanocrystalline: Insights from TiO_2 . *Journal of Physical Chemistry B*, 104 (2000), 3481-3487.
- [56] Eaton P, West P. *Atomic Force Microscopy*. Oxford University Press. Oxford. UK, (2010).

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O *Cryptococcus neoformans* é um fungo cosmopolita que pertence a um grupo de agentes patogênicos que afligem um grupo crescente de pessoas imunocomprometidas. Esse fungo é capaz de colonizar uma variedade de superfícies. A prevenção de infecções microbianas por revestimentos com filmes finos antimicrobianos em superfícies suscetíveis á contaminação é uma boa alternativa contra esses tipos de fungo.

Os resultados mostrados na prospecção tecnológica, com levantamento de artigos publicados é possível afirmar que polímeros, material cerâmico e surfactantes são materiais que podem estar associados na fabricação de filmes com finalidade para aplicações contra microrganismos. Na literatura observou-se que não tinham aplicações voltadas contra fungos destacando assim a inovação da pesquisa proposta aqui, além dos materiais utilizados neste trabalho (PANI, NT-TiO₂ e CTAB) na formação dos filmes *LbL*. Na busca de patentes depositadas foram encontradas três patentes que mostram o potencial dos filmes finos para aplicações em revestimentos.

A realização da prospecção nos mostrou que filmes finos para aplicação é uma área que ainda esta pouco explorada, entretanto com um grande potencial para varias estudos.

Os filmes desenvolvidos nesta pesquisa foram preparados usando a técnica de automontagem *LbL* utilizando PANI, TiNTs e CTAB. A sequência de adsorção bem como o meio de dispersão do TiNTs foram dois fatores averiguados durante a otimização dos filmes. Os experimentos eletroquímicos por voltametria, observou-se que a sequência contendo o material cerâmico disperso na solução de PANI apresentou maiores valores de densidade de corrente (filme de PANI(TiNTs)/CTAB). Esse resultado foi corroborado por experimentos espectroscópicos por UV-Vis, onde foi observado que este filme apresentou crescimento diferenciado dos demais filmes analisados, com um comportamento exponencial até a 16^a bicamada. Depois de otimizadas as condições de preparação dos filmes, o filme PANI(TiNTs)/CTAB foi selecionado para realização dos testes contra *C. neoformans* (ATCC 28957 e ATCC 28958). Este filme também foi caracterizado morfologicamente por MEV e MFA. O MEV mostrou padrão granular, distribuído ao longo do filme e redes de polímeros tridimensionais sobrepostas, que condizem com o método usado na preparação do filme.

O MFA apresentou uma rugosidade média de $8,54 \pm 0.89$ nm e espessura estimada em 400 nm.

O filme desenvolvido neste trabalho exibiu excelente atividade contra *C. neoformans* e este novo material surge como excelente candidato para revestimento de tubos de ar condicionado de hospitais, pois pode impedir a colonização desse fungo patógeno nessas superfícies, impedindo assim a contaminação do ar nesses ambientes fechados prevenindo que pacientes imunocomprometidos entrem em contato com o esporo desse patógeno e desenvolvam infecções mais graves.

7. REFERÊNCIAS

ABRÃO, F. Y. Atividade biológica de Óleos Essenciais em leveduras do complexo *Cryptococcus neoformans*. 2015. Dissertação (Mestrado em medicina tropical e saúde pública). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.

ABREU, M. M. S. P. de. Polímeros Condutores: Fundamentos e Aplicações. 2010. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2010.

ALMADA, G. F. Estudo da proteção à corrosão pelo uso de polímeros condutores. Dissertação de Mestrado. 2007 Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2007.

ALMEIDA, R. L. G.; MACHADO, E. R., *Cryptococcus spp.* em Pacientes com HIV/SIDA: Revisão da Literatura. *Ensaio Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde*, v. 18, n. 1, p. 55-63, 2014.

ALVES, D. C. B. Nanotubos de titanatos aplicados como sensores de gás. 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

ANDRADE, J. M. de. Efeito do tamanho das partículas do precursor, areia de rutilo, na morfologia dos titanatos nanoestruturados obtidos através da síntese hidrotérmica

alcalina. 2009. Dissertação de mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2009.

AUGUSTO, T. Introdução a Polímeros Condutores: Síntese e Caracterização Eletroquímica de Polianilina. 2009. Trabalho de Conclusão. Universidade de São Paulo, Instituto de Química, 2009.

BALAN, J. C. Estudo da interação de derivados água-solúveis de Celulose com tensoativos catiônicos. 2006. Dissertação de Mestrado. Riberão preto, São Paulo. 2006

CARMO, J. D. O. Atividade fotocatalítica de Nanotubos de Titanato frente as bactérias. 2009. Dissertação de mestrado. UNIFRA, Sant Catarina, RS., 2009.

CLOUTIER, M.; MANTOVANI, D.; ROSEI, F.; Antibacterial Coatings: Challenges, Perspectives, and Opportunities. *Trends Biotechnol.* 33, 11, 637-652, 2015.

COSTA, L. L da. Aplicação de nanotubos de titânia na fotodegradação de corantes. 2009. Tese de doutorado. Universidade de Brasília. 2009.

CRUZ, K. G. Sistemas Microemulsionados a Base de Tensoativos Hidrocarbônicos Para Aplicação Como Suportes Para Dispersão De Compostos Antibióticos. 2013 Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. 2013.

BAVYKIN D.V; FRIENDRICH, J. M; WALSH, F. C.. Protonated titanetes and TiO₂ nanostructured materials: Synthesis, properties and applications. **Advanced Materials**, 18 2807–2824, 2006.

DAL' ACQUA, N. Preparação e Caracterização de Filmes Nanoestruturados Suportados em Membrana de Celulose contendo Nanopartículas de Au e TiO₂ para Produção de H₂. 2013. Dissertação de Mestrado Universidade de Caxias do Sul. Rio Grande do Sul. 2013.

DALTIN, D. Tensoativos: química, propriedades e aplicações. 2011. São Paulo: Blucher, 2011.

DEACON, J. Fungal Biology (4th edition). Blackwell Publishing, Inglaterra. 2006.
Diebod, U. The surface science of titanium dioxide. **Surface Science Reports**, V. 48, n. 5-8, p. 53-229, 2003.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia**: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. 2006. São Paulo: Artliber, 2006.

E. A. DE O. FARIAS, M. C. DOS SANTOS, N. DE A. DIONISIO, P. V. QUELEMES, J. R. S. A. LEITE, P. EATON, D. A. DA SILVA, C. EIRAS. Layer-by-Layer films based on biopolymers extracted from red seaweeds and polyaniline for applications in electrochemical sensors of chromium VI. **Mater. Sci. Eng. B Solid**, 200 (2015) 9-21.

EBRAHIMI, G.; NESHATI, J.; REZAEI, F. An investigation on the effect of H₃PO₄ and HCl-doped polyaniline nanoparticles on corrosion protection of carbon steel by means of scanning kelvin probe. *Progress in Organic Coatings* 105 (2017) 1 – 8.

FAEZ, R; REIS, C.; DE FREITAS, .P. S.; KOSIAMA, O. K.; RUGGERI, G.; DE PAOLI, M. A. Polímeros condutores. *Química nova na escola*, v. 1, n. 11, p. 13-18, 2000.

FARIAS, E.A.O.; DIONISIO, N. A.; QUELEMES, P. V.; LEAL, S. H.; MATOS, J. M. E.; FILHO, E.C.S.; BECHTOLD, I. H.; LEITE, J. R. S. A.; EIRAS, C. Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications. **Materials Science and Engineering: C**, v, 35, n, 1 pp. 449–454, 2014.

FORNAZIER FILHO, Y. Síntese, dopagem e caracterização da polianilina com sais de Fe(II) e Fe (III). 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2009.

Freitas, A. C. R. Estudo da resistência corrosão do carbono em meio microemulsionado com biodiesel de babaçu. 2014. Dissertação de mestrado. Universidade do Maranhão. São Luís, 2014.

GOMES, D. A. de A., Aplicação de microemulsões na solubilização de frações pesadas e petróleo. 2009. Dissertação de mestrado. UFRN, Rio Grande do Norte, 2009.

HANAOR, D. A. H.; SORRELL, C. C., Review of the anatase to rutile phase transformation. **Journal of materials science**. 46: 855-874, 2011.

Izumi, C. M. S., Caracterização espectroscópica da polianilina em diferentes ambientes químicos. 2006. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de química, São Paulo, 2006.

KALAIVASAN, N.; SHAFI, S. S. Enhancement of corrosion protection effect in mechanochemically synthesized Polyaniline/ MMTclay nanocomposites. **Arabian Journal of Chemistry** (2017) 10, S127 – S133

KHAN, H. A.; BAIG, F. K.; MEHBOOB, R.. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance *Asian Pac J. Trop. Biomed.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>.

KOHL, M.; KALEDOVÁ, A. Effect of polyaniline salts on the mechanical and corrosion properties of organic protective coatings. **Progress in Organic Coatings** 86 96–107, 2015

Kraljic, M.; Mandic, Z.; Duic, Lj. Inhibition of steel corrosion by polyaniline coatings. **Corrosion Science** 45 181–198 2003.

KRUK, T.; SZCZEPANOWICZ, K.; KRĘGIEL, D.; SZYK-WARSZYŃSKA, L. WARSZYŃSKI P., Nanostructured multilayer polyelectrolyte films with silver nanoparticles as antibacterial coatings. *Colloids Surf., B*, 137, 158–166, 2016.

Li, S. S.; Mody C. H. *Cryptococcus*. *Proceedings of the American Thoracic Society* 7: 186-196, 2010.

LIANG, Y.; DUTTA, S. P.; Application trend in advanced ceramic Technologies. **Technovation**. Vol. 21, Ed. 1. p. 61-65. Jan., 2001.

LIN X, HEITMAN J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **Annual Review of Microbiology** 60: 69-105, 2006.

Lin X. *Cryptococcus neoformans*: morphogenesis, infection, and evolution. *Infection, Genetics and Evolution* 9 (4): 401-16, 2009.

LINO, A. A. Propriedades Eletrônicas e Estruturais de Nanotubos de Dióxido de Titânio por primeiros princípios. 2007. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

MA, M.; KAZEMZADEH-NARBAT, M.; HUI, Y.; LU, S.; DING, C.; CHEN, D. D. Y.; HANCOCK, R. E. W.; WANG, R. Local delivery of antimicrobial peptides using self-organized TiO₂ nanotube arrays for peri-implant infections. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. Vol. 100A, P: 278–285, 2011.

MARTINI, M. G. Análise química e da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Ocimum selloi* Benth, *Hesperozygis myrtoides* (A. St.-Hil.) Epling e *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae). 2011. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio De Janeiro, 2011.

MATTOSO, L. H. C. Polianilinas: Síntese, Estrutura e Propriedades. *Química nova*, v. 19, n.4, p. 388-398, 1996.

Menezes, C. P. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO DO ÓLEO ESSENCIAL de *Melissa officinalis* L. (Erva-cidreira) SOBRE *Cladosporium caaarionii* 2012. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 2012.

MINASSIAN-SARAGA, L. T., Thin films includ I glayers: terminology in relation to their preparation and characterization., **Pure and Appl. Chem.**, 66: 1667-1738, 1994.

MORETO, F. Utilização de polímeros condutores na detecção de compostos orgânicos. 2006 Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

NÓBREGA, M. de J. R.; FRITZ, M.; SOUSA, C. G. Inovações tecnológicas: aplicação de materiais cerâmicos na indústria automobilística. In: **Encontro Nac. de Eng. de Produção**, 24., Florianópolis, SC, Brasil, 03 a 05 de nov de 2004.

OKAZUMI, T.; UEDA, K.; TAJIMA, K.; UMETSU, N.; NARUSHIMA, T., Anatase formation on titanium by two-step thermal oxidation. **Journal material Science**.46: 2998-3005, 2011.

OLIVEIRA, P. S. **compósitos ramificados de polipirrol/dióxido de titânio/óxido de zinco aplicados na degradação da rodamina B e rodamina 6G**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Vale do São Francisco. Bahia, 2015.

Ozyilmaz, A. T., Akdaga, A. Karahan, I. H., Ozyilmaz, G. The influence of polyaniline (PANI) coating on corrosion behaviour of zinc–cobalt coated carbon steel electrode. *Progress in Organic Coatings* 76 (2013) 993–997.

PADILHA, R. M. A. Estudo do transporte de carga de Polímeros de Polianilina. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2011.

PATERNI, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; DE OLIVEIRA JR., O. N. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. *Quím. Nova*. 24, 2, 238-235, 2001.

PRESOTTO, P. **Desenvolvimento de novos materiais cerâmicos a partir de resíduos da mineração de serpentinito: obtenção e caracterização**. Dissertação de Mestrado 2012. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

QUEIROZ, E. O. de. Atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de *Coriandrum sativum* L. (coentro) e *Foeniculum vulgare* Mill. (funcho) sobre cepas de *Cryptococcus neoformans*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

R. S. ANDRÉ, F. M. SHIMIZU, C. M. MIYAZAKI, A. RIUL JR, D. MANZANI, S. J. L. RIBEIRO O. N. OLIVEIRA JR, L. H.C. Mattoso, D. S. Correa. Hybrid layer-by-layer (*LbL*) films of polyaniline, graphene oxide and zinc oxide to detect ammonia. **Sensor Actuat B-Chem.** 238 (2017) 795-801

RÓZ, A. L.; LEITE, F. L.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA JR., O. N. Nanoestruturas: Princípios e aplicações. **Elsevier**, Rio de Janeiro 1, 1, 278, 2015.

S.C.ROY M.PAULOSE, C.A.GRIMES. The effect of nanotubes in the enhancement of blood clotting for the control of hemorrhage. **Biomaterials**, 28, 4667–4672, 2007.

SANTANA, L., MACHADO, K., FREITAS, R.. PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA *Mikania Glomerata* Sprengel. GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias, São Cristóvão/SE. Vol. 5/n. 3/ p.2284- 2295, 4, set. 2014.

SANTOS, F. K. G.; ALVES, J. V. A.; DANTAS, T. N. C.; DANTAS NETO, A. A.;DUTRA JR, T. V.; BARROS NETO, E. L., Determinação da concentração micelar crítica de tensoativos obtidos a partir de óleos vegetais para uso na recuperação avançada de petróleo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS (PDPetro), 4., 2007, Campinas-SP. CDRom do 4 PDPetro. Natal - RN : ABPG, 2007. p. 2.1.72-1.

SANTOS, N. M. dos. Síntese e caracterização de nanoestruturas de titanato: troca iônica e estudo de suas propriedades catalíticas. 2012. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

SANTOS, P. de S. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais sobre *Cryptococcus neoformans*. 2011. Dissertação de mestrado. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2011.

SCORZONI, L. Estudo da atividade antifúngica e perfil de expressão de proteínas em leveduras do gênero *Candida* após tratamento com extratos de *Kielmeyera rubriflora*. 2008. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Araraquara, São Paulo, 2008.

SCORZONI, L. Estudo da atividade antifúngica e perfil de expressão de proteínas em leveduras do gênero *Candida* após tratamento com extratos de *Kielmeyera rubriflora*. 2008. Dissertação de Mestrado. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP. Araraquara, 2008.

SILVA FILHO, I. M. da. Produção de filmes finos de SnO₂ pelo método de spray pirólise utilizando um forno à gás natural com combustão de filtração. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

Silva, E. F. B. da. Síntese hidrotérmica e caracterização estrutural de titanatos nanotubulares para aplicação na captura do dióxido de carbono. 2012 Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

SOUZA, F. M. de. Análise estrutural e síntese de Nanotubos de dióxido de titânio. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Itajubá. 2011.

TORRES, J. D., Nanosílica modificada com ácido carboxílico para liberação controlada de herbicidas. 2007. Dissertação e mestrado. IQ/UNB, Brasília, DF, 2007.

TRIPATHI, K.; MOR, V.; BAIRWA, N. K.; DEL POETA, M.; MOHANTY, B. K.; Hydroxyurea treatment inhibits proliferation of *Cryptococcus neoformans* in mice. *Front. Microbiol.* 3, 187, 2012.

Viana, B. C.; Ferreira, O. P.; Souza Filho, A. G., Hidalgo. A. A., Mendes Filho, J.; Alves. O. L. Alkali metal intercalated titanate nanotubes: A vibrational spectroscopy study. *Vibrational Spectroscopy* 55, p. 183–187. 2011.