

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**Escola de Engenharia**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais**  
**(PPGE3M)**

**LILIAN VANESSA ROSSA BELTRAMI**

**LIGA MAGNETOELÁSTICA METGLAS 2826MB3 REVESTIDA POR**  
**PROCESSO SOL-GEL UTILIZADA COMO PLATAFORMA PARA SENSORES**  
**DE BACTÉRIAS EM LEITE**

**Porto Alegre**

**2017**

**LILIAN VANESSA ROSSA BELTRAMI**

**LIGA MAGNETOELÁSTICA METGLAS 2826MB3 REVESTIDA POR  
PROCESSO SOL-GEL UTILIZADA COMO PLATAFORMA PARA SENSORES  
DE BACTÉRIAS EM LEITE**

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalurgia e de Materiais (PPGE3M) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Engenharia, modalidade Acadêmica.**

**Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Materiais**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Célia de Fraga Malfatti (UFRGS)**

**Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eliena Jonko Birriel (UCS)**

**Porto Alegre**

**2017**

**LIGA MAGNETOELÁSTICA METGLAS 2826MB3 REVESTIDA POR  
PROCESSO SOL-GEL UTILIZADA COMO PLATAFORMA PARA SENSORES  
DE BACTÉRIAS EM LEITE**

**Esta tese foi analisada e julgada adequada para a obtenção do título de Doutora em Engenharia, área de concentração Ciência e Tecnologia dos Materiais, sendo aprovada em sua forma final pela orientadora e pela Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Célia de Fraga Malfatti**

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliena Jonko Birriel**

**Banca Examinadora:**

**Prof. Dr. Frank Patrick Missell – Universidade de Caxias do Sul**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lisete Cristine Scienza – Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Prof. Dr. Antonio Shigueaki Takimi – Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Prof. Dr. Tiago Lemos Menezes – Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Prof. Dr. Carlos Pérez Bergmann**

**Coordenador do PPGE3M**

*Aos meus pais, Ivo e Jurema Rossa,  
pelo incansável incentivo ao estudo  
e ao meu marido, Mateus Beltrami,  
pelo imenso amor.*

*Dedico*

## *AGRADECIMENTOS*

A Deus, em primeiro lugar, o seu infinito amor e proteção.

Aos meus pais, Ivo e Jurema Rossa, pelo imenso amor e dedicação, essenciais para que eu chegasse a este momento.

Ao meu marido, Mateus Beltrami, pelo total apoio e incentivo, sempre com muito amor e paciência a mim dedicados.

As minhas orientadoras, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Célia de Fraga Malfatti e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliena Jonko Birriel, pela contribuição para o meu crescimento profissional por meio de suas orientações.

As minhas queridas amigas do grupo “Além do Tempo”: Aline Bandeira Dotta, Ana Cláudia Rangel Faria, Mariana Bandeira, Rosiana Boniatti Casagrande e Tatiana Pacheco Soares Zamboni que, com muito carinho, companheirismo, amizade e bom humor, sempre fizeram de momentos difíceis apenas mais um motivo para sorrir.

As amigas e companheiras de sala Cleide Borsoi, Daiane Romanzini e Alessandra Lavoratti pela amizade, conhecimento e risadas compartilhadas.

A minha querida amiga, e agora professora, Dr<sup>a</sup> Sandra Raquel Kunst pelos ensinamentos, conselhos e, principalmente, pela linda amizade. Além de excelente profissional é uma grande e verdadeira amiga.

Aos professores Dr. Ademir José Zattera e Dr<sup>a</sup>. Lisete Cristine Scienza pelo incentivo e a amizade. Seu apoio foi essencial para esta conquista.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela receptividade, ajuda e parceria a mim sempre concedidos. Em especial, agradeço aos colegas Alexander Bervian, Gustavo Ludwig, Leandro Brunholi Ramos, Maria Rita Ortega Vega e Tiago Lemos Menezes pela amizade e prestatividade.

Aos colegas do Laboratório de Corrosão (LCOR) da Universidade de Caxias do Sul, pela amizade e companheirismo. Em especial, agradeço à bolsista de iniciação científica Letícia Caio, que com sua força, vontade e animação fez de dias de intermináveis análises muito mais alegres.

A todos do Laboratório de Proteômica, Genômica e Reparo de DNA (LPGRD) da Universidade de Caxias do Sul, especialmente à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Roesch Ely e à mestranda Caroline Menti pelas contribuições a esta pesquisa e pela gentileza de disponibilizar o seu laboratório para a realização das análises biológicas.

A todos do Laboratório de Caracterização Magnética (LCM) da Universidade de Caxias do Sul, especialmente ao Prof. Dr. Frank Patrick Missell e à mestranda Márcia Dalla Pozza pelas contribuições à esta pesquisa e pela gentileza de disponibilizar o seu laboratório e seus equipamentos para a realização das análises.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Polímeros (LPOL) da Universidade de Caxias do Sul pelos divertidos momentos de descontração. Em especial, agradeço às técnicas Aline Gehlen e Damiane Büdke pela disponibilidade e auxílio para a realização de alguns ensaios.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de realizar o doutorado e excelência na formação de seus alunos.

A Universidade de Caxias do Sul pela disponibilização da infraestrutura e oportunidade de realizar um doutorado interinstitucional.

Ao CNPQ pela disposição da bolsa de doutorado.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

***Meus sinceros agradecimentos.***

*“Não basta saber. É indispensável ser.  
Coloque na prática cotidiana aquilo  
que realmente dignifica e eleva.”*

*Divaldo Franco*

## RESUMO

A detecção de bactérias em alimentos para consumo é feita por métodos clássicos que necessitam elevado tempo de resposta (dias) e pessoas qualificadas para a realização dos testes. Uma alternativa para viabilizar a rápida detecção de microrganismos em alimentos é a utilização de sensores magnetoelásticos (SME). Esses sensores permitem detectar e quantificar pequenos carregamento de massa, tendo como grande vantagem o fato de que o sensoriamento pode ser promovido sem a utilização de conexões físicas diretas (monitoramento *wireless*). Contudo, estas ligas magnetoelásticas são suscetíveis a corrosão quando expostas em meios agressivos. Por isso, os SME convencionais utilizam camadas de cromo e de ouro em sua superfície, a fim de proteger a liga da corrosão e facilitar a ancoragem de outros compostos específicos (funcionalização). O objetivo deste trabalho é desenvolver um sensor, não funcionalizado, para a detecção de bactérias no leite, a partir de uma liga magnetoelástica (Metglas 2826MB3) recoberta com revestimentos híbridos. Os revestimentos híbridos testados são à base dos precursores alcóxidos 1,2-bis(trietoxisilil)etano (BTSE) e tetraetoxisilano (TEOS) combinado ao 3-(trimetoxisilil)propilmetacrilato (MAP). A finalidade destes revestimentos é a proteção da liga magnetoelástica contra a corrosão, substituindo as camadas metálicas (cromo/ouro) convencionalmente utilizadas. Dentre os revestimentos testados, o desenvolvido a partir dos precursores TEOS-MAP apresentou-se compacto, uniforme e fortemente aderido ao substrato, o que proporcionou desempenho eletroquímico superior ao obtido para o revestido à base de BTSE. O sensor recoberto com o revestimento à base de TEOS-MAP foi testado quanto à detecção de bactérias (*E. coli* e *S. aureus*) em diferentes meios líquidos (PBS e em leite) por meio da técnica de variação da frequência de ressonância. Os resultados mostraram que o sensor, mesmo não funcionalizado, respondeu ao carregamento de massa permitindo detectar a presença de bactérias (*E. coli* e *S. aureus*) em diferentes concentrações. Os resultados permitiram concluir que o sensor desenvolvido a partir da liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 recoberta com revestimento híbrido à base de TEOS-MAP mostrou-se eficaz na detecção da presença de bactérias em meios líquidos, mantendo-se íntegro durante todo o período de teste.

**Palavras-chave:** sensor magnetoelástico, Metglas 2826MB3, revestimento híbrido, precursores alcóxidos de silício, corrosão, detecção de bactérias.

## ABSTRACT

The detection of bacteria in food for consumption is done by classical methods that require high response time. An alternative to enable rapid detection of microorganisms in food is to use of magneto-elastic sensors (SME). These media detect and quantify small mass loading, taking as a great advantage the fact that sensing can be promoted wirelessly without direct physical connections. However, these magnetoelastic alloys are susceptible to corrosion when exposed in aggressive medium. Therefore, conventional SME use layers of chromium/gold on their surface in order to protect the alloy from corrosion and facilitate anchoring of other specific compounds (functionalization). The objective of this work is to develop an unfunctionalized sensor for the detection of bacteria in milk, made from a magnetoelastic alloy (Metglas 2826MB3) with hybrid coatings. The hybrid coatings tested are based on precursor alkoxides 1,2-bis(triethoxysilyl)ethane (BTSE) and tetraethoxysilane (TEOS) combined with 3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate (MAP). The purpose of the coatings is a corrosion protection of the magnetoelastic alloy, replacing as conventionally used metallic layers (chromium/gold). Among the coatings tested, the one developed from TEOS-MAP precursors was compact, uniform and strongly adhered to the substrate, which provided superior electrochemical performance to that obtained for the BTSE coating. The sensor coated with the TEOS-MAP-based coating was tested for bacterial (*E. coli* and *S. aureus*) detection in different liquid media (PBS and milk) by means of the resonance frequency variation technique. The results showed that the sensor, even when it was not functionalized, responded to the mass loading by detecting the presence of bacteria (*E. coli* and *S. aureus*) in different concentrations. The results allowed to conclude that the sensor was developed from the alloy Metglas 2826MB3 with TEOS-MAP based coating showed to be effective in detecting the presence of bacteria in liquid medium, remaining intact throughout the test period.

**Keywords:** magnetoelastic sensor, Metglas 2826MB3, hybrid coating, silicon alkoxide precursors, corrosion, bacteria detection.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Curva padrão de crescimento bacteriano.	25
Figura 2 - Representação esquemática de operação de um sensor de carregamento.	33
Figura 3 - Variação da frequência de ressonância de um sensor ME exposto a um meio contaminado com bactérias em função do tempo.	34
Figura 4 - Estrutura típica de um SME-CM utilizado para a detecção de microrganismos.	35
Figura 5 - Fabricação de fitas amorfas através do processo de melt spinning.	38
Figura 6 - Estrutura de um (a) mono-silano e um (b) bis-silano.	43
Figura 7 - Formação de uma camada de (a) bis-silano e (b) mono-silano.	43
Figura 8 – Fórmula molecular do tetraetoxisilano (TEOS).	44
Figura 9 - Fórmula molecular do 3-(trimetóxisililpropil)metacrilato (MAP).	46
Figura 10 - Fórmula molecular do 1,2-bis(trietoxisilil)etano (BTSE).	46
Figura 11 - Fluxograma genérico para síntese de sol-gel.	47
Figura 12 - Exemplo de silano genérico (Si-R ou Si-O-R) tendo uma ramificação orgânica convertida em silanol (Si-O-H) após a hidrólise e, após a cura, convertida em ligação siloxano (Si-O-Si).	48
Figura 13 - Esquema ilustrativo do processo dip-coating.	50
Figura 14 – Fluxograma completo da metodologia aplicada neste trabalho.	56
Figura 15 - Esquema dos aparatos desenvolvidos para facilitar a aplicação dos revestimentos sobre a superfície das amostras de Metglas, com dimensões de (a) 30 x 6 mm e (b) 5 x 1 mm, pelo método de dip-coating.	58
Figura 16 - Detalhe do fluxograma da metodologia empregada neste trabalho com ênfase na etapa inicial de preparação das amostras.	59
Figura 17 - Ilustração esquemática onde são definidos os parâmetros de rugosidade superficial em 2D e expandidos em 3D.	64
Figura 18 - Esquema do analisador de rede em operação.	66
Figura 19 - Esquema ilustrativo do resultado de um ensaio de sensibilidade microbiológica.	68
Figura 20 - Esquema de diluição seriada utilizada para os testes de detecção de bactérias.	69

Figura 21 - FTIR dos sols TEOS-MAP e BTSE antes da cura (após 24 horas de hidrólise) e depois da cura (após a cura em estufa). _____	72
Figura 22 - Termogramas das amostras de (a) TEOS-MAP e (b) BTSE. _____	74
Figura 23 - FTIR do revestimento TEOS-MAP após permanecer 1 hora em isoterma de 350°C. ____	74
Figura 24 - Micrografias obtidas por MEV-FEG da superfície das amostras estudadas. _____	76
Figura 25 - Mapeamento por EDS da superfície das amostras com os revestimentos estudados, identificando o sinal dos elementos silício (Si) e ferro (Fe). _____	77
Figura 26 - Micrografias obtidas por MEV-FEG da seção transversal das amostras estudadas ____	78
Figura 27 – Imagens obtidas por MEV-FEG e mapeamento por EDS da superfície das amostras com revestimento após o ensaio de adesão, identificando o sinal dos elementos silício (Si) e ferro (Fe)._____	78
Figura 28 – Micrografias obtidas por MEV-FEG das amostras após o ensaio de adesão com ampliação na região da incisão. _____	79
Figura 29 - Imagens 3D e 2D obtidas por AFM da superfície das amostras estudadas. _____	81
Figura 30 - Imagens obtidas das amostras após 24 e 164 horas de exposição em câmara úmida. ____	83
Figura 31 - Monitoramento de OCP (a) e curvas de polarização potenciodinâmicas (b) para as amostras estudadas em solução de NaCl 0,05M. _____	84
Figura 32 - Diagramas de Bode para as amostras estudadas após 1, 24 e 96 horas de imersão em solução de 0,05 M NaCl. _____	85
Figura 33 - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1, 24 e 96 horas de imersão em solução de NaCl 0,05 M no ensaio de EIE. _____	86
Figura 34 - Diagramas de Bode para as amostras estudadas após 1, 24 e 96 horas de imersão em leite desnatado. _____	89
Figura 35 - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1, 24 e 96 horas de imersão em leite desnatado no ensaio de EIE. _____	90
Figura 36 - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão das amostras estudadas nos eletrólitos: NaCl 0,05 M durante (a) 1 hora e (b) 24 horas; e leite desnatado durante (c) 1 hora e (d) 24 horas . _____	94
Figura 37 - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1 e 24 horas de imersão em NaCl 0,05 M no ensaio de acompanhamento da $\Delta f$ . _____	95
Figura 38 - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1 e 24 horas de imersão em leite desnatado no ensaio de acompanhamento da $\Delta f$ . _____	96

Figura 39 - Ensaio de sensibilidade microbiológica das amostras estudadas. _____	99
Figura 40 - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor sem revestimento híbrido (MTG) imerso em PBS sem e com contaminação de $10^8$ UFC/mL de E. coli. _____	100
Figura 41 - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro, PBS contaminado com $10^8$ UFC/mL de E. coli e PBS contaminado com $10^8$ UFC/mL de S. aureus. _____	101
Figura 42 - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro e em PBS contaminado com diferentes concentrações de E. coli. _____	103
Figura 43 - Curva de calibração padrão determinada para a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação a concentração de E. coli em PBS. _____	104
Figura 44 - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em leite puro e em leite contaminado com diferentes concentrações de E. coli. _____	105
Figura 45 - Curva de calibração padrão determinada para a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação a concentração de E. coli em leite. _____	106
Figura 46 - Microscopias de fluorescência das superfícies da amostra (a) MTG e (b) MTG/TEOS-MAP, ambas expostas exposta ao PBS contaminados com $10^8$ UFC/mL de E. coli e (c) MTG/TEOS-MAP exposta ao leite contaminado com $10^8$ UFC/mL de E. coli. _____	108
Figura 47 - Micrografias obtidas por MEV-FEG para amostra MTG/TEOS-MAP exposta ao leite contaminado com $10^8$ UFC/mL de E. coli. _____	109

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Características e propriedades gerais do Metglas®2826MB3. _____	54
Tabela 2 - Descrição e nomenclatura das amostras estudadas. _____	59
Tabela 3 - Propriedades dos meios líquidos estudados _____	55
Tabela 4 - Viscosidade e pH de cada sol após 24 horas de hidrólise. _____	70
Tabela 5 - Valores de ângulo de contato entre a água e a superfície das amostras estudadas. __	80
Tabela 6 - Valores de rugosidade médias obtidos pela análise de AFM. _____	80
Tabela 7 - Quantidade de bactérias detectadas pelo sensor durante o ensaio de $\Delta f$ . _____	107

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFM	Microscopia de força atômica
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATR	Refletância total atenuada
BTSE	1,2-bi(trietoxisilil)etano
CBI	Contagem bacteriana individual
[ ]	Concentração
UFC	Unidades formadoras de colônias
DAPI	4' - 6 - diamidino - 2 – fenilindol
DTA	Doenças transmitidas por alimentos
$\Delta f$	Variação da frequência de ressonância
EDS	Espectroscopia dispersiva de energia
EBM	Elemento de reconhecimento biomolecular
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
EIE	Espectroscopia de impedância eletroquímica
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IN	Instrução Normativa
LB	Meio de cultura Luria Bertani
MAP	3-(trimetoxisilil)propilmetacrilato
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ME	Magnetoelástico
MTG	Metglas
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo
MO	Microscopia ótica
OCP	Potencial de circuito aberto
PBS	Solução tampão fosfato-salino
PNQL	Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão

SENAR	Serviço Nacional de Aprendizagem Rural
SME	Sensor magnetoelástico
TEOS	Tetraetoxisilano
TGA	Análise termogravimétrica
UCS	Universidade de Caxias do Sul
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>21</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Contaminação de alimentos por bactérias</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Sensores</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Ligas magnetoelásticas</b>	<b>37</b>
<b>3.4</b>	<b>Revestimentos híbridos</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>54</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais</b>	<b>54</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos</b>	<b>55</b>
4.2.1	Preparação do substrato	57
4.2.2	Preparação e aplicação dos revestimentos	57
4.2.3	Desenvolvimento dos sensores	59
4.2.4	Ensaio de caracterização do sol	60
4.2.4.1	Viscosidade	60
4.2.4.2	Análise termogravimétrica (TGA)	61
4.2.4.3	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	61
4.2.5	Ensaio de caracterização dos revestimentos híbridos	61
4.2.5.1	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)	61
4.2.5.2	Espectroscopia dispersiva de energia (EDS)	61
4.2.5.3	Microscopia ótica (MO)	62
4.2.5.4	Teste de adesão	62
4.2.5.5	Molhabilidade	62
4.2.5.6	Microscopia de força atômica (AFM)	63
4.2.5.7	Ensaio em câmara úmida	64
4.2.5.8	Potencial de circuito aberto (OCP) e Polarização potenciodinâmica	65
4.2.5.9	Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)	65

4.2.5.10	Ensaio de variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) .....	66
4.2.5.11	Nanoindentação.....	67
4.2.5.12	Sensibilidade microbiológica .....	67
4.2.5.13	Ensaio de detecção de bactérias .....	68
4.2.5.14	Microscopia de fluorescência.....	69
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização das propriedades dos sols e dos revestimentos híbridos.....</b>	<b>70</b>
5.1.1	Caracterização físico-química.....	70
5.1.2	Caracterização química.....	71
5.1.3	Caracterização térmica.....	73
5.1.4	Caracterização morfológica .....	75
5.1.5	Caracterização quanto a resistência à corrosão.....	82
5.1.6	Caracterização por frequência de ressonância .....	92
5.1.7	Caracterização mecânica.....	97
5.1.8	Considerações quanto a seleção do revestimento .....	98
<b>5.2</b>	<b>Avaliação do revestimento híbrido quanto à detecção de bactérias .....</b>	<b>99</b>
5.2.1	Avaliação da sensibilidade microbiológica .....	99
5.2.2	Avaliação quanto à detecção de bactérias.....	100
5.2.3	Avaliação morfológica.....	107
5.2.4	Considerações quanto à detecção de bactérias.....	109
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>110</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>112</b>

# 1 Introdução

Os alimentos podem transmitir vários agentes causadores de doenças ao homem. As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são causadoras de morbidade e mortalidade em todo o mundo, tornando-se um crescente problema econômico e de saúde pública. Segundo o Ministério da Saúde brasileiro (2016) o conceito de DTA é qualquer síndrome relacionada à ingestão de alimentos ou água contaminados, geralmente constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre (SINAN, 2016).

As DTAs podem ser decorrentes de alimentos contaminados por produtos químicos (pesticidas), vírus (hepatite, poliovírus), parasitas (amebas, helmintos) e microrganismos como fungos e bactérias patogênicas (MASIÁ et al., 2016; CONOVER et al., 2016; YOSHIDA et al., 2011; BEHRSING et al., 2003; KONG et al., 2014; VAISOCHEROVÁ et al., 2016).

Como visto, os microrganismos presentes nos alimentos podem ser responsáveis por doenças microbianas de origem alimentar ou toxinfecções alimentares. Informações apresentadas no Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos do Ministério da Saúde brasileiro (2016), considerando-se dados referentes ao período de 2007-2016, revelam que 90% das DTAs são causadas por bactérias, sendo as mais comuns a *Salmonella*, a *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli*.

A presença de *S. aureus*, por exemplo, é uma indicação de alerta potencial à saúde pública devido à enterotoxina estafilocócica, bem como à sanificação questionável, principalmente quando o processamento envolve manipulação do alimento (CHAIBENJAWONG et al., 2011; SON et al., 2016). São agentes comuns de intoxicação estafilocócica no leite, queijos, salada de batata, atum, frango, presunto e outras carnes cozidas (HUMMERJOHANN et al., 2014).

A presença de *E. coli* indica contaminação fecal nos alimentos, devido ao processamento inadequado ou contaminação pós-produção, provenientes da matéria-prima, equipamentos e/ou manipulação sem cuidados de higiene (JENSEN et al., 2015; SMITH et al., 2016). Estes microrganismos, quando presentes nos alimentos, são causadores de reações químicas que provocam a deterioração dos alimentos, resultando em alterações organolépticas, como cor, odor, sabor, textura e aspecto do alimento.

Ainda segundo informações do Ministério da Saúde brasileiro (2016), mais de 60% dos alimentos contaminados causadores de doenças não são identificados. Dentre os alimentos incriminados mais comuns, o leite e seus derivados, considerando-se doces e sobremesas, equivalem a cerca de 5% do total (SINAN, 2016).

O leite é um excelente meio de cultura para os microrganismos devido a sua alta atividade de água, pH próximos da neutralidade e alta concentração de nutrientes (FRANCO et al., 2002). O leite pode ser contaminado durante a ordenha ou mesmo nos equipamentos utilizados durante a manipulação, transporte, processamento e o armazenamento, comprometendo assim a qualidade de todos os seus produtos derivados (FRANCO et al., 2002; BIANCHI et al., 2013; GUZMAN-HERNANDEZ et al., 2016).

Atualmente a detecção de bactérias em alimentos é feita por métodos clássicos que contemplam as fases de enriquecimento seletivo ou pré-enriquecimento, seguidos por testes que avaliam a morfologia, ensaios imunológicos e bioquímicos (ATEBA et al., 2013; TATINENI et al., 2013; LUEDTKE et al., 2014; WANG et al., 2015). Mesmo que eficientes, de custo médio e já estabelecidos, tais métodos mostram desvantagens como o tempo de resposta, pois há a necessidade de espera de dias pelo resultado final, além de pessoas qualificadas para a realização dos ensaios.

Neste contexto, a rápida detecção de microrganismos em alimentos é de grande importância industrial, comercial e de saúde pública. Para suprir esta necessidade tecnológica, estudos têm apresentado como alternativa a utilização de sensores magnetoelásticos (SME).

Os SME são constituídos por ligas magnetoelásticas que operam com o princípio da magnetostrição Joule. O material magnetoelástico, quando submetido a um campo magnético transversal variável no tempo, vibra longitudinalmente com frequência de ressonância característica, alterando seu tamanho ciclicamente (LIANG et al., 2007; HUANG et al., 2008a; GRIMES et al., 2011; LI et al., 2012). Com isso, pode-se utilizar desta propriedade para detectar e quantificar pequenos carregamentos de massa, tendo como grande vantagem o fato de que o sensoriamento pode ser promovido sem a utilização de conexões físicas diretas (monitoramento *wireless*).

O desempenho do SME é diretamente afetado pelas propriedades da liga magnetoelástica quando imersa em uma solução, pois estas podem induzir a corrosão acelerada destes materiais (HUANG et al., 2008a, 2008b; GRIMES et al., 2011). Por isso, alguns sensores são revestidos com finas camadas de cromo e de ouro, a fim de evitar

ataques corrosivos. Normalmente, estas camadas metálicas são aplicadas por *sputtering*, processo este que requer condições de operação específicas (pressão, temperatura, entre outras) (HUANG et al., 2008b).

Além disso, a fim de garantir ao SME eficiência e especificidade na detecção de microrganismos, faz-se necessária a imobilização de um elemento de reconhecimento biomolecular (EBM) que apresenta ligação de captura específica. De acordo com o EBM utilizado para a sua construção, os sensores podem ser divididos em várias classes, como biossensores enzimáticos, microbiológicos, os quimiorreceptores e os imunossensores (KATZ e WILLNER, 2004; CAMPANELLA et al., 2008). Contudo, os EBM são compostos frágeis, de difícil imobilização e apresentam pouca estabilidade em ambientes líquidos (LAKSHMANAN et al., 2007).

Uma alternativa às sucessivas camadas presentes nos sensores convencionais (cromo/ouro) pode estar no desenvolvimento de um revestimento híbrido à base de precursores alcóxidos de silício obtido pelo processo sol-gel. Em geral, os revestimentos desenvolvidos pelo processo sol-gel proporcionam excelente resistência à corrosão em substratos metálicos devido às suas propriedades de barreira, forte adesão, inércia química, versatilidade de formulação e facilidade de aplicação em temperatura ambiente. Estudos mostram que os revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos obtidos pelo método sol-gel são alternativas eficientes e de baixo custo na proteção contra a corrosão de metais (JOTHI et al., 2014; KUNST et al., 2014.a; BRUSCIOTTI et al., 2013; DALMORO et al., 2012; ROMANO et al., 2011).

Diante de tudo que foi mencionado anteriormente, o presente trabalho apresenta um estudo sobre o desenvolvimento de um sensor magnetoelástico recoberto com um revestimento híbrido à base de precursores alcóxidos de silício, visando a detecção de bactérias em leite.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo do presente trabalho é substituir as camadas metálicas protetivas de sensores magnetoelásticos por um revestimento híbrido à base de precursores alcóxidos de silício, obtendo um revestimento que garanta a integridade do sensor magnetoelástico Metglas 2826MB3 e que permita a detecção de bactérias no leite.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Identificar, a partir do emprego de diferentes precursores alcóxidos de silício, quais dos revestimentos híbridos testados atendem às características adequados à aplicação requerida, protegendo o substrato metálico da ação da corrosão.
- Avaliar o desempenho protetivo dos revestimentos híbridos em meio agressivo (eletrólito salino), visando preservar a integridade da liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 quando exposta ao meio potencialmente corrosivo, visando substituir as camadas metálicas convencionalmente utilizadas em sensores.
- Analisar o comportamento do sistema Metglas 2826MB3/revestimento híbrido quando exposto à meios líquidos contaminados com bactérias, a fim de verificar a sua compatibilidade e toxicidade a estes microrganismos.
- Investigar se os revestimentos híbridos não funcionalizados (sem a utilização de elementos de reconhecimento biomolecular) aplicados sobre a liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 podem detectar bactérias em meios líquidos.

### **3 Fundamentação Teórica**

Este trabalho propõe a utilização de revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício na proteção contra a corrosão de uma liga magnetoelástica, a fim utilizá-la como plataforma para um sensor de detecção de bactérias no leite. Portanto, neste capítulo de revisão do estado da arte serão abordados todos os conceitos envolvidos no trabalho, como a contaminação de alimentos e seus danos à saúde, o desenvolvimento e a utilização de sensores, bem como a formação e aplicação de revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício.

#### **3.1 Contaminação de alimentos por bactérias**

A contaminação de alimentos com certos microrganismos e/ou suas toxinas é a causa mais frequente de problemas sanitários e de saúde pública, gerando inúmeros problemas sociais, além das grandes perdas econômicas. Segundo o levantamento do Ministério da Saúde, no Brasil, de 2007 a 2016, mais de 65% dos casos de doenças causadas por alimentos ocorreram nas regiões sul e sudeste, sendo que mais da metade destas contaminações ocorrem nas residências e em restaurantes (SINAN, 2016).

Uma das principais preocupações do microbiologista de alimentos relaciona-se ao controle do desenvolvimento microbiano, visando eliminar riscos à saúde dos consumidores, bem como prevenir ou retardar o surgimento de alterações indesejáveis nos alimentos. Medidas para controlar o desenvolvimento microbiano em alimentos envolve métodos mecânicos, como filtração; métodos físicos como atmosfera desfavorável em embalagem a vácuo ou temperaturas elevadas, como na pasteurização, além de métodos químicos como conservantes.

Segundo Franco et al. (2002), os microrganismos nos alimentos são causadores de alterações químicas prejudiciais, resultando no que chamamos “deterioração microbiana”. A deterioração resulta em alterações de cor, odor, sabor, textura e aspecto do alimento. Essas alterações são consequência da atividade metabólica natural dos microrganismos, que estão apenas tentando perpetuar a espécie, utilizando o alimento como fonte de energia, sendo que a deterioração provocada é somente uma consequência desse processo.

Microrganismos patogênicos podem chegar até os alimentos por inúmeras vias, sempre refletindo condições precárias de higiene durante a produção, armazenamento, distribuição ou manuseio. Para uma bactéria, o corpo humano é um conjunto de nichos ambientais que fornece calor, umidade e os alimentos necessários para o seu crescimento. Nem todas as bactérias causam doenças, porém algumas bactérias oportunistas aproveitam as condições pré-existentes, como a imunossupressão que aumenta a suscetibilidade do paciente (MURRAY et al., 2009). As bactérias são organismos muito pequenos, com dimensões médias em torno de 1 µm e massa em torno de 1 pg, compostos por células procariontes (não possuem envoltório nuclear) (DE ROBERTS e HIB, 2010).

Conforme comentado anteriormente, informações divulgadas pelo Ministério da Saúde brasileiro, revelam as bactérias patogênicas mais comuns em alimentos são a *S. aureus* e a *E. coli* (SINAN, 2016).

As bactérias da espécie *E. coli* pertencem à classe de bactérias que não se coram pelo método de coloração desenvolvido pelo microbiólogo H. C. Gram e, por isso, são conhecidas como bactérias Gram-negativas (DE ROBERTS e HIB, 2010). Estes microrganismos têm forma de bacilos (células cilíndricas, em forma de bastonetes) e são anaeróbias facultativas, pertencentes ao grupo dos coliformes fecais. Em alimentos frescos de origem animal, a ocorrência de números elevados destas bactérias pode indicar manipulação sem cuidados de higiene e/ou armazenamento inadequado. Em alimentos processados, a presença de um número elevado de coliformes indica processamento inadequado ou contaminação pós-produção, provenientes da matéria-prima, equipamentos sujos ou manipulação sem cuidados de higiene (MURRAY et al., 2009; DE ROBERTS e HIB, 2010).

As bactérias da espécie *S. aureus* tem a forma de cocos (células esféricas), são Gram-positivas e anaeróbios facultativos. Podem ser produtores de enterotoxinas nos alimentos, causando intoxicação quando consumidos. São agentes comuns de intoxicação estafilocócica o leite, queijos, salada de batata, atum, frango, presunto e outras carnes cozidas (TONG et al., 2015).

Visando proteção e desenvolvimento, as bactérias associam-se em comunidades, chamadas de biofilmes, o que permite a sua sobrevivência em diferentes ambientes. De forma geral, um biofilme é qualquer grupo de microrganismos em que as células aderem umas às outras e muitas vezes estas células aderem a uma superfície. Estes complexos

ecossistemas microbianos, podem se formar a partir de uma única ou de várias espécies sobre superfícies bióticas e/ou abióticas (MEYER, 2003; IST, 2008).

A formação de biofilmes é um processo que possui várias etapas, sendo uma reversível, caracterizada pela proximidade do microrganismo à superfície a outra, irreversível, caracterizada pela ligação entre o microrganismo e a superfície. Esta primeira etapa reversível, envolve a aproximação deste à superfície, de forma aleatória ou através de mecanismos de quimiotaxia e de mobilidade. Quando o microrganismo atinge uma proximidade crítica da superfície, a ocorrência de adesão depende do balanço final entre forças atrativas e repulsivas geradas entre as duas superfícies (GILBERT et al., 2003; MEYER, 2003; IST, 2008). Além disso, as características físico-químicas da superfície e do microrganismo são fundamentais no favorecimento da formação de biofilmes.

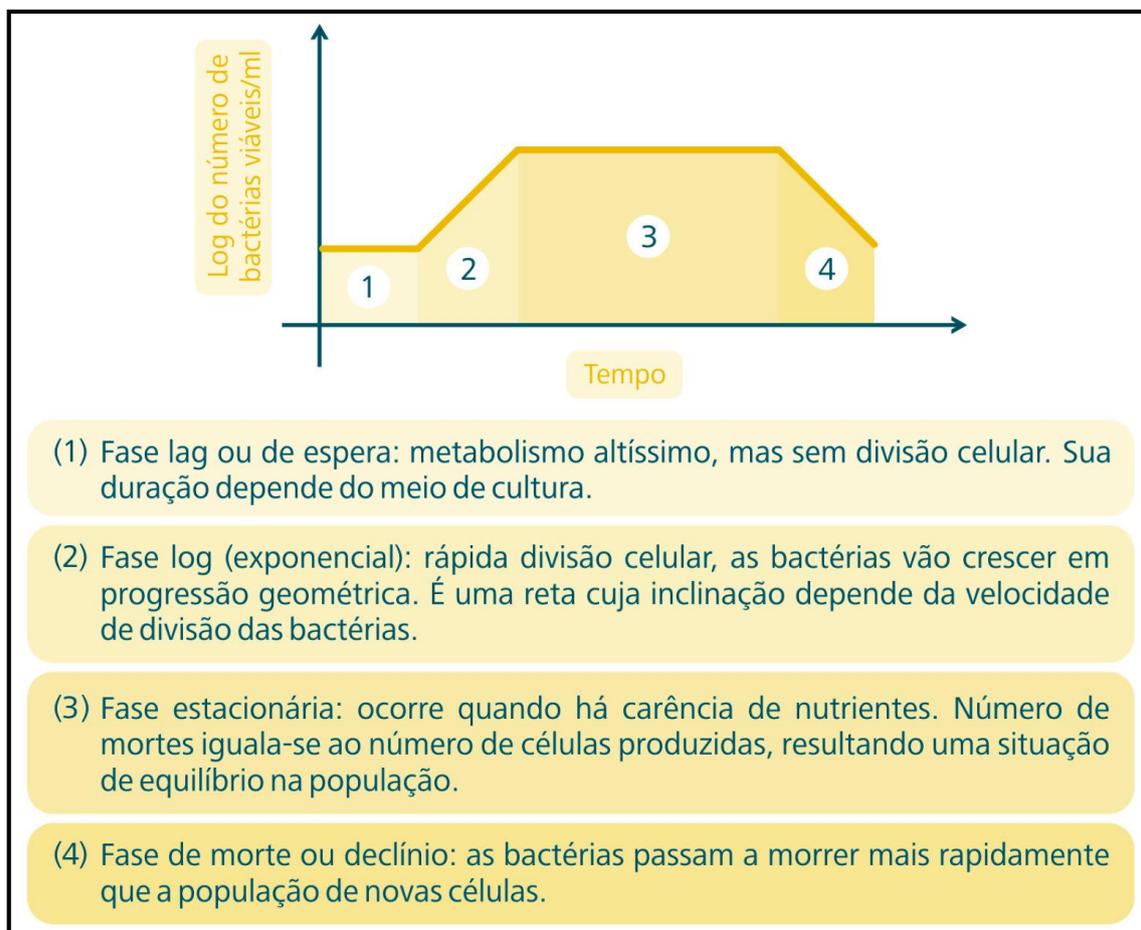
Para que a multiplicação microbiana seja possível, os seguintes nutrientes devem estar disponíveis: água, fonte de energia (açúcares, álcoois e aminoácidos), fonte de nitrogênio (aminoácidos), vitaminas (complexo B, como biotina e ácido pantotênico) e sais minerais (Na, K, Ca, Mg, entre outros) (FRANCO et al., 2002).

O crescimento bacteriano é o somatório dos processos metabólicos progressivos, que normalmente conduz à divisão, com a geração de duas células-filhas a partir de uma bactéria (VIEIRA et al., 2012). O perfil de crescimento bacteriano tem quatro fases distintas, conforme apresentado na Figura 1. O período de tempo que uma célula demanda para se dividir e dar origem a duas novas células é designado tempo de geração ou de duplicação. Segundo Prescott et al. (2002), o tempo de geração para uma célula de *E. coli* é em torno de 22 à 25 minutos, enquanto que para um célula de *S. aureus* é entre 28 à 30 minutos.

Além disso, a capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos microrganismos que estão presentes em um alimento depende de uma série de fatores. Entre estes fatores, estão aqueles relacionados com as características próprias dos alimentos (fatores intrínsecos), como a atividade de água (Aa), a acidez (pH), o potencial de oxirredução (Eh), a composição química, a presença de fatores antimicrobianos naturais e as interações entre os microrganismos presentes nos alimentos. Define-se atividade de água (Aa) de um alimento ou de uma solução como sendo a razão entre a pressão parcial de vapor da água contida no alimento ou na solução (P) e a pressão parcial de vapor da água pura (Po), a uma dada temperatura. A adição de sais, de açúcar e de

outras substâncias provoca a redução do valor de Aa de um alimento por reduzir o valor de P, sendo essa redução variável em função da natureza e da quantidade das substâncias adicionada e da temperatura. Portanto, a adição de um sal a um alimento qualquer reduz o valor de Aa (FRANCO et al., 2002).

**Figura 1** - Curva padrão de crescimento bacteriano.



**Fonte:** Vieira et al. (2012)

Já dentre os fatores relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (fatores extrínsecos), os mais importantes são a umidade, a temperatura e a composição química da atmosfera que envolve o alimento (FRANCO et al., 2002).

Dentre os alimentos contaminados identificados como causadores de doenças, o leite e seus derivados são comumente citados (SINAN, 2016). O leite é um alimento de alta qualidade, sendo uma importante fonte de proteínas, gorduras, minerais, entre outros nutrientes e constitui um dos alimentos mais consumidos pelas populações, em todas as faixas etárias. No Brasil existe o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite

(PNQL) desenvolvido pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR) que visa mudar a forma de se produzir o leite, com o objetivo de melhorar a qualidade e garantir à população o consumo de produtos lácteos mais seguros e nutritivos, além de proporcionar condições para aumentar o rendimento dos produtores (DÜRR, 2012).

O leite é constituído basicamente de água e sólidos totais, que são responsáveis pelo seu valor nutricional. O teor de sólidos determina o valor industrial do leite, pois quanto mais gordura e proteína, maior o rendimento que a indústria terá ao fabricar os derivados lácteos (DÜRR, 2012).

Existe um grande número de agentes de doenças infecciosas que podem ser transmitidas ao homem pelo leite. Os principais microrganismos que contaminam o leite são as bactérias, uma vez que os vírus, fungos e leveduras têm participação reduzida, embora sejam importantes em determinadas situações (EMBRAPA, 2009).

Conforme comentado anteriormente, o leite é um excelente meio de cultura para o crescimento de microrganismos devido a suas características intrínsecas, como a alta Aa, pH próximos da neutralidade e riqueza de nutrientes. A contaminação do leite pode ocorrer durante a ordenha, porém, as principais fontes de contaminação são os equipamentos utilizados durante a manipulação, o transporte, o processamento e o armazenamento. A qualidade de todos os produtos derivados do leite dependerá, basicamente, das condições microbiológicas da matéria-prima. O aparecimento de sabores e odores estranhos no leite e derivados é decorrente da multiplicação de microrganismos que resistem ao processo de pasteurização ou de microrganismos que contaminaram o produto depois do processamento térmico (FRANCO et al., 2002).

Em dezembro de 2011 foi publicado no Diário Oficial da União o texto da Instrução Normativa nº 62 (IN-62) redigido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), o qual contém normas de produção e qualidade do leite. A IN 62 estabelece que, para inibir a multiplicação das bactérias e evitar que o leite deteriore, ele deve ser refrigerado, no tempo máximo de 3 horas após o término da ordenha, na temperatura de 4 a 7 °C, com tempo máximo de conservação na propriedade até o momento do transporte à indústria de 48 horas. Além disso, a IN-62 estipula que a contagem bacteriana total máxima esperado no leite cru refrigerado seja de 100.000 unidades formadoras de colônias para cada mL de leite ( $10^5$  UFC/mL) (DÜRR, 2012).

Não existe um consenso sobre a quantidade de bactérias existentes em uma unidade formadora de colônias (UFC). Existem entidades responsáveis por elaborar

normas a fim de padronizar os procedimentos analíticos entre diferentes laboratórios para a determinação da contagem bacteriana individual (CBI). Logo, cada laboratório deve desenvolver a sua equação de conversão, analisando amostras em diferentes métodos e equipamentos e ao mesmo tempo através da contagem padrão em placas. Uma metodologia automatizada de CBI é a citometria de fluxo, que é capaz de contar e classificar partículas microscópicas suspensas em meio líquido em fluxo (FLINT et al., 2007; SAMPAIO et al., 2015).

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas para o controle de qualidade do leite. Pinto et al. (2006) avaliaram a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado destinado à produção de leite UHT e isolaram as bactérias predominantes. O método utilizado foi o de isolamento de colônias, incubação (de 48 a 72 horas) e posterior contagem. Os autores relataram que o leite cru refrigerado mantido no silo industrial não atendeu ao padrão microbiológico legal e apresentou contagens microbianas significativamente superiores às do leite mantido em tanques individuais ou coletivos, variando entre  $1,4 \cdot 10^6$  UFC/mL e  $5,5 \cdot 10^6$  UFC/mL. Segundo os autores a contaminação elevada constatada pode estar associada com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção, considerando que resíduos de leite presentes nas superfícies dos equipamentos constituem nutrientes para o crescimento de bactérias que contaminam o produto em etapas subsequentes do processamento. Além disso, o contato do leite com animais sujos, ambientes inadequados de produção, falhas na velocidade de resfriamento e leite proveniente de animais com mastite também podem resultar em contagens microbianas elevadas.

Nörnberg et al. (2009) em seu estudo realizaram contagens de bactérias psicotróficas e avaliaram a atividade proteolítica de amostras de leite cru refrigerado e no leite cru tipo C. O método utilizado pelos autores foi o de inoculação de placas, a partir de diluições seriadas, com posterior incubação por 10 dias a  $7^\circ\text{C}$  e contagem. Os resultados evidenciaram uma contagem de bactérias em torno de  $10^6$  UFC/mL. Segundo os autores a presença de contagens elevadas de bactérias no leite evidencia a existência de falhas em procedimentos de manipulação e higienização, podendo comprometer a qualidade e diminuir a vida de prateleira do produto final.

Como visto, os métodos frequentemente utilizados para a detecção e contagem de bactérias em alimentos, como no leite por exemplo, demandam um tempo de resposta consideravelmente alto – dias ou até semanas – além de especialistas para a realização

dos ensaios. Portanto, pesquisas que proponham novas tecnologias para suprir esta necessidade de respostas rápidas são oportunas e relevantes. Vislumbrando este cenário, o estudo de sensores aplicados na detecção de bactérias em alimentos torna-se uma promissora alternativa aos métodos convencionais.

### 3.2 Sensores

Conforme visto, o diagnóstico de doenças provocadas por bactérias e vírus é normalmente realizado por meio de métodos analíticos de identificação que necessitam de equipamentos e profissionais especializados para realizá-los, bem como longos tempos de preparação e incubação, o que os torna onerosos e demorados (ATEBA et al., 2013; TATINENI et al., 2013). Métodos alternativos têm sido estudadas a fim de substituir os convencionais e otimizar o processo de quali e quantificação de microrganismos.

Neste contexto, atualmente os sensores têm sido tema de vários estudos no meio científico. Segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC, 2016), sensor é um dispositivo que responde a um estímulo físico/químico de maneira específica e mensurável.

Inúmeras são as pesquisas sobre sensores que tem criado expectativa no meio científico e médico. Exemplo disso é o estudo realizado pela biomédica pernambucana Deborah Zanforlin, que criou um dispositivo que informa se o paciente apresenta algum tipo de câncer em estágio inicial. Este dispositivo trata-se de um biossensor que mapeia marcadores sanguíneos que podem indicar até 18 tipos diferentes de câncer, sendo que a resposta ao teste é dada em 15 minutos. Segundo os autores do estudo, o dispositivo portátil poderá ser utilizado em lugares onde o acesso a exames como tomografia e mamografia são restritos. Atualmente, a equipe espera o término do processo de patenteamento do dispositivo, chamado de chip ConquerX, e autorizações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para dar sequência ao processo industrial (REVISTA GALILEU, 2016).

Outro dispositivo importante, criado pela empresa israelense MeMed Diagnostics LTD, interpreta sinais químicos do sistema imunológico do corpo do paciente para distinguir, com mais de 90% de precisão, infecções bacterianas de virais, habilitando médicos a tomarem decisões mais conscientes sobre quais tratamentos e medicamentos devem ser administrados. Este dispositivo é chamado de ImmunoXpert e o seu

funcionamento é baseado em sofisticados biossensores e algoritmos que decodificam as diferentes respostas do sistema imunológico à infecções bacterianas e virais, sem precisar acessar e isolar o patógeno. Segundo os seus desenvolvedores, os resultados ficam prontos em 99 minutos, porém uma nova versão reduzirá esse tempo para 15 minutos, mesmo para infecções inacessíveis. O ImmunoXpert é usado atualmente em hospitais na União Europeia, Suíça e Israel. Com estes dispositivos, espera-se diminuir o uso excessivo de antibióticos, que é o maior desencadeador de variedades de bactérias resistentes a medicamentos (ISRAEL TRADE, 2016).

O grupo de cientistas japoneses, da Universidade de Yamagata, no Japão, liderados pelo pesquisador Prof. Shizuo Tokito, criou um dispositivo capaz de informar o estado de conservação de alimentos como carnes e peixes. O sensor é capaz de detectar a presença de histamina, uma substância gerada quando as bactérias começam a decompor os aminoácidos dos alimentos e que é responsável por sintomas de intoxicação alimentar, mesmo em pequenas quantidades. Este dispositivo pode ser instalado em embalagens fornecendo informações sobre o estado de conservação dos alimentos. Além disso, os pesquisadores desenvolvem paralelamente um sistema para interligar este dispositivo à celulares, por meio de aplicativos, de modo que os consumidores possam receber informação à distância sobre o estado dos alimentos (MINAMIKI et al., 2015; EBC, 2016).

Fator importante a ser considerado para o desempenho eficiente de sensores é a sua completa esterilização, visando promover a completa eliminação ou destruição de todas as formas de microrganismos presentes, a fim de alcançar um aceitável nível de segurança (RUTALA et al., 2008). A escolha do método de esterilização adequado deve ser baseada em recomendações de cunho científico e depende da natureza do material a ser esterilizado, pois deve garantir a total desinfecção do material sem agredi-lo ou danificá-lo. Por vezes, estes processos podem danificar o material durante a esterilização, inviabilizando o seu uso (DHHS, 2004; RUTALA et al., 2008). Exemplo disso são os materiais porosos, que quando expostos à autoclaves podem sofrer uma variação no seu volume, levando à fragilização e até a fissuramentos. Logo, um material compacto e termicamente estável, com alta resistência térmica, pode ser mais resistente às condições extremas exercidas durante alguns processos de esterilização, garantido o completo extermínio dos microrganismos sem provocar danos a sua estrutura.

Uma classe interessante de sensores que vem sendo estudada são os sensores magnetoelásticos (SME), que se tratam de dispositivos que detectam variações específicas por meio das mudanças no sinal de frequência emitido quando são expostos a um campo magnético externo (GRIMES et al., 2002). Estes sistemas utilizam uma liga magnetoelástica como plataforma e, normalmente, imobilizam sobre ela um composto que lhes confere especificidade.

A sensibilidade é uma das características mais importantes destes SME. Esta sensibilidade pode estar relacionada à detecção da variação de massa sobre o sensor, indicando que quanto menor a massa inicial do sensor melhor será a sua sensibilidade à variação de massa na superfície. Sempre que parâmetros como temperatura e umidade são mantidos constantes, a mudança na frequência de ressonância do SME depende apenas de sua mudança de massa (HUANG et al., 2008). Estes dispositivos podem ser classificados como sensores magnetoelásticos de carregamento de massa (SME-CM).

Lu et al. (2009) utilizaram em seu estudo um SME-CM para detecção do crescimento de *Escherichia coli* O157:H7, utilizando um EBM específico. Segundo os autores, à medida que a *E. coli* ligava-se ao sensor, era observada uma variação da frequência de ressonância. Esta variação possibilitou a quantificação da concentração de *E. coli* até um limite de detecção de 60 células/mL. Os autores relataram que esta análise apresentou como principal vantagem a possibilidade de ser conduzida sem a necessidade de incubação e de poder ser concluída em menos de 3 horas.

Ruan et al. (2004) estudaram a detecção de enterotoxina B de *S. aureus* através de um SME-CM e demonstraram uma mudança na frequência de ressonância linear com a concentração de enterotoxina B estafilocócica, com um limite de detecção de 0,5 ng/mL.

Um SME-CM é formado basicamente por uma plataforma composta por uma liga magnetoelástica (ME) recoberta por várias camadas, sendo uma delas o EBM. Quando o sistema entra em contato com o analito ou amostra fluídica a ser testada (sangue, saliva, solução aquosa, etc.) e uma ligação não-covalente se forma entre o EBM e o patógeno (antígeno) presente no analito (MORGAN et al., 1996).

Conforme comentado anteriormente, o EBM, por vezes chamado de “anticorpo”, proporciona ao sensor especificidade; porém, estes compostos são frágeis, de difícil imobilização e apresentam pouca estabilidade em ambientes líquidos (LAKSHMANAN et al., 2007; KATZ e WILLNER, 2004; CAMPANELLA et al., 2008).

Menti et al. (2016.a) publicaram um trabalho onde relacionam o potencial e o progresso de SME-CM para a detecção de bactérias patogênicas e toxinas associadas. Em seu estudo, os autores afirmam que os SME-CM baseados em anticorpos são sensíveis e rápidos. Contudo, essa eficiência está associada a qualidade do anticorpo, bem como ao método de imobilização utilizado para sua deposição sobre o sensor.

O funcionamento do SME-CM baseia-se no conceito de magnetoelasticidade ou magnetostricção, que é a deformação das estruturas de um material devido à aplicação de campo magnético. Para um material magnetoelástico de comprimento  $L$ , vibrando no seu plano basal, a frequência de ressonância fundamental ( $f_0$ ) das oscilações longitudinais é dada pela Equação 1, onde  $\epsilon$  é o módulo de Young de elasticidade,  $\rho$  é a densidade do material do sensor e  $\sigma$  é o coeficiente de Poisson (LIANG et al., 2007).

$$f_0 = \frac{1}{2L} \sqrt{\frac{\epsilon}{\rho(1 - \sigma^2)}} \quad (1)$$

De acordo com Grimes et al. (2011) a  $\Delta f$  pode ser expressa pela relação entre a frequência fundamental do material ( $f_0$ ) e o carregamento de massa ( $\Delta m$ ) sobre a sua superfície em razão da massa inicial ( $m_0$ ) do sensor, conforme Equação 2:

$$\Delta f = -f_0 * \frac{\Delta m}{2m_0} \quad (2)$$

Logo, a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) de um material magnetoelástico é calculada a partir da relação entre as Equações 1, 3 e 4:

$$\Delta m = m - m_0 \quad (3)$$

$$m_0 = L * t * w * \rho \quad (4)$$

onde:  $\Delta m$  = Variação da massa do sensor

$m_f$  = Massa final do sensor, considerando-se o sensor com carregamento de massa

$m_0$  = Massa inicial do sensor, considerando-se o sensor sem carregamento de massa

$\rho$  = massa específica da liga magnetoelástica

$L$  = comprimento do sensor

$w$  = largura do sensor

$t$  = espessura do sensor

O sinal negativo significa que a frequência de ressonância do ressonador ME diminui com o aumento da carga de massa. Assim, a massa aderida ao SME pode ser facilmente obtida medindo-se a mudança na frequência de ressonância.

A partir disto, a sensibilidade de massa ( $Sm$ ) de um SME pode ser calculada através da razão entre a  $\Delta f$  e a  $\Delta m$ , conforme Equação 5 (LI et al., 2012).

$$Sm = \frac{\Delta f}{\Delta m} \quad (5)$$

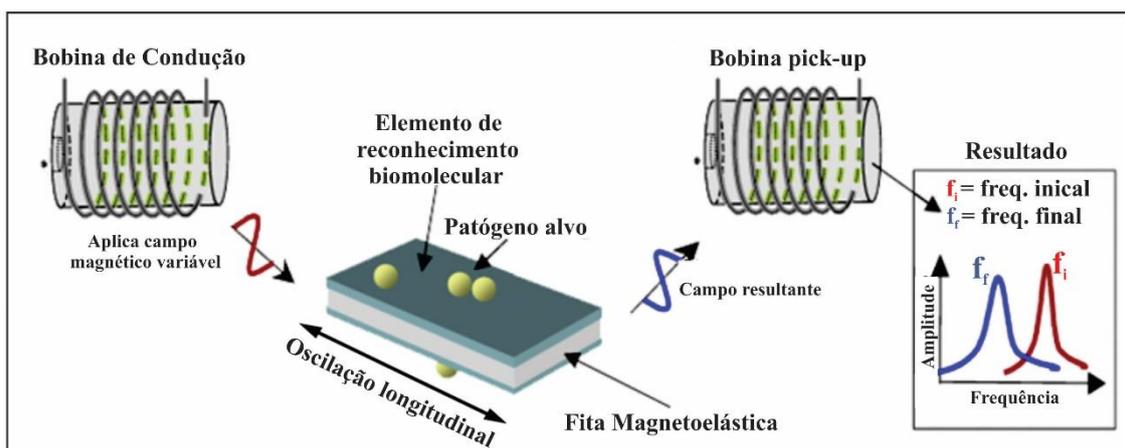
Logo, relacionando-se todas as equações citadas anteriormente, é possível perceber que a  $Sm$  de um sensor ME pode ser determinada diretamente a partir das propriedades fundamentais do material magnetoelástico, conforme mostra a Equação 6:

$$Sm = - \frac{1}{4L^2wt\rho} \sqrt{\frac{\epsilon}{\rho(1-\sigma)}} \quad (6)$$

Com base no equacionamento apresentado, um SME-CM relaciona o conceito de magnetoestricção com o carregamento de massa sobre a sua superfície. Fundamentando-se nestas definições, o funcionamento de um SME-CM pode ser explicado partindo-se da aplicação de um campo magnético oscilante produzido por uma bobina sobre os domínios magnéticos do metal, inicialmente orientados de forma aleatória, que tendem a se alinhar na direção do campo aplicado. Isso provoca uma mudança nas dimensões da liga ME que, posteriormente, converte estas oscilações mecânicas em energia magnética, sendo detectada como uma frequência de ressonância característica. Esta frequência de ressonância é medida remotamente por uma bobina pick-up.

Quando o sensor é exposto a um meio contaminado específico, o EBM imobilizado sobre ele se liga aos agentes patogênicos. Esta ligação/reacção provoca um aumento na massa total do sensor, e por consequência, a diminuição da frequência de ressonância por amortecimento (LI et al., 2012). Uma representação esquemática do princípio de um SME-CM é apresentada na Figura 2.

**Figura 2** - Representação esquemática de operação de um sensor de carregamento.



**Fonte:** Adaptado de Li et al., 2012.

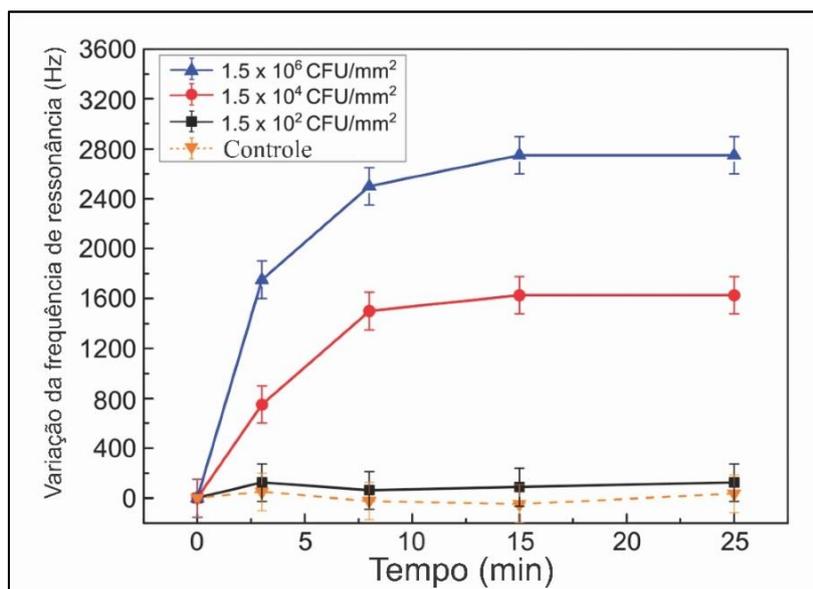
O estudo realizado por Tormes et al. (2013) mostrou que fitas magnetoelásticas, com dimensões de 30 x 6 x 0,029 mm, cobertas com uma fina camada de argila apresentaram uma variação na frequência de ressonância na ordem de 10%. Relacionando a proporcionalidade do sensor (5 x 1 x 0,029 mm) e a massa média de uma bactéria (cerca de 1 pg), a variação esperada na frequência de ressonância para SME não ultrapassaria 0,01%. Conforme a equação da sensibilidade de massa (Equação 6) percebe-se que para detectar pequenas variações de massas, como bactérias, um sensor deve ter suas dimensões e sua massa inicial reduzida.

Para o emprego de SME-CM faz-se necessária a utilização de equipamentos eletrônicos com a função específica de medida da frequência de ressonância, em aparelhos comerciais como amplificador sintonizado Lock-in ou analisador de rede. Contudo, estes aparelhos são caros, volumosos e requerem condições específicas de operação, funcionando perfeitamente como instrumentos de bancada. A aplicação de SME-CM propõe a realização de ensaios simples e em campo, a fim de se obter uma resposta rápida e segura. Neste contexto, Beltrami (2016) desenvolveu um dispositivo portátil capaz de analisar a frequência de ressonância de um SME-CM, onde foram

testados sensores para a detecção da variação de pH em meio líquido. O dispositivo opera de forma completamente autônoma ou em conjunto com computador e os SME-CM foram desenvolvidos a partir da liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 recoberto pelo polímero sensível ao pH do meio. Os resultados mostraram que o sensor testado foi eficiente, podendo detectar variações de pH de 1,5 a 7,5 em meios líquidos. Além disso, o dispositivo portátil, quando comparado a outros dispositivos comerciais, apresentou excelente desempenho, além de ser leve, possuir dimensões menores e valor de produção acessível.

O estudo realizado por Chai et al. (2013) comprovou um aumento na variação da frequência de ressonância do SME-CM compatível com o aumento do número de colônias de *Salmonella typhimurium* na superfície de uma fatia de melancia. A Figura 3 apresenta os resultados obtidos pelos autores, relacionando a variação da frequência de ressonância com o tempo de exposição ao meio contaminado com bactérias.

**Figura 3** - Variação da frequência de ressonância de um sensor ME exposto a um meio contaminado com bactérias em função do tempo.



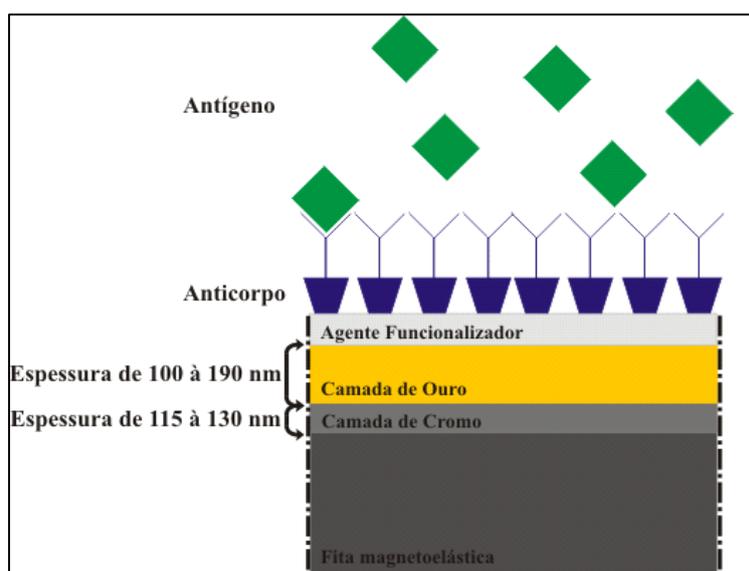
**Fonte:** Adaptado de Chai et al., 2013.

No estudo realizado por He et al. (2009), o crescimento de bactérias *Micoplasma genitalium* foi monitorado usando um SME-CM. A base para o sensor era formada pela liga magnetoelástica Metglas 2826MB, com composição de Fe<sub>40</sub>Ni<sub>38</sub>Mo<sub>4</sub>B<sub>18</sub>. Os autores ressaltam que a utilização de um sistema remoto (sem a ligação física por meio de fios)

facilita o processo, tornando-o totalmente asséptico (livre de contaminação por agentes causadores de doenças). Os autores concluíram que o dispositivo de detecção (SME-CM) utilizado neste estudo foi eficaz e pode ser facilmente utilizado para o acompanhamento do crescimento de bactérias, bem como, para a avaliação dos efeitos dos antibióticos sobre estes microrganismos.

As ligas magnetoelásticas utilizadas como plataforma para o sensor são compostas principalmente por ferro. Devido a sua composição, estas ligas são suscetíveis ao ataque corrosivo, sendo facilmente comprometidas pela ação da umidade do meio ou de compostos presentes no analito em que os sensores são testados. Por este motivo, algumas destas ligas utilizadas nos sensores são revestidas com uma fina camada de cromo e outra de ouro, que além de auxiliar na imobilização do agente funcionalizador e, conseqüentemente, do EBM, ainda protegem contra a ação da corrosão (HUANG et al., 2008a). A Figura 4 ilustra a estrutura de um SME-CM convencionalmente estudado.

**Figura 4** - Estrutura típica de um SME-CM utilizado para a detecção de microrganismos.



**Fonte:** Adaptado de Morrison et al. 2007 e de Huang et al., 2008.

Pozza (2016) desenvolveu um SME-CM a partir da liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 recoberta por diversas camadas: cromo, ouro, agente funcionalizador e anticorpo, visando a detecção de bactérias *E. coli* em meio líquido. A autora estudou a influência da aplicação de diferentes tióis como agente funcionalizador, a fim de melhorar a imobilização e adesão do anticorpo, aumentando assim a eficiência do sensor na detecção de bactérias. Os resultados apresentados no estudo mostraram-se favoráveis para

a detecção da bactéria *E. coli*, evidenciando que a composição química do agente funcionalizador cisteamina (tamanho da cadeia carbônica e o grupamento terminal) influenciam na eficácia da imobilização deste patógeno em SME-CM.

Em seu estudo, Huang et al. (2008b) avaliaram a influência da espessura da camada de ouro aplicada sobre uma plataforma magnetoelástica utilizada como sensor. A aplicação da camada de ouro com diferentes tempos de pulverização promoveu a formação de camadas com diferentes espessuras na superfície do sensor. Com um tempo de pulverização menor, o sensor apresentou baixa resistência à corrosão, devido à camada de ouro não ter recoberto a superfície por completo. Um tempo maior de pulverização promoveu a formação de uma camada de ouro mais espessa, que apresentou uma resistência à corrosão satisfatória. Contudo, se o sensor recoberto (plataforma + cromo + ouro) apresentar uma massa total consideravelmente elevada, a variação de massa ( $\Delta m$ ) será muito pequena. Esta pequena variação de massa resultará em uma variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) demasiadamente pequena para ser detectada pelos equipamentos utilizados, comprometendo o desempenho do biossensor. Com isso, os autores comprovaram que a sensibilidade de sensores desenvolvidos a partir de ligas magnetoelástica é limitada por sua massa inicial.

Normalmente, a aplicação das camadas de cromo e de ouro sobre a liga ME é realizada por *sputtering* (pulverização catódica). Esta técnica que se baseia na deposição de um material através do bombardeamento de seus átomos ou íons sobre a superfície a ser recoberta (BEHRISCH et al., 2007). Contudo, além de ser um processo que exige infraestrutura relativamente complexa e de custo de instalação elevado, o *sputtering* não possibilita a aplicação simultânea do revestimento nas duas faces da amostra magnetoelástica, aumentando, dessa forma, o tempo para o processo de produção do sensor. Além disso, este processo não garante o recobrimento regular nas áreas laterais da amostra, o que pode comprometer a resistência à corrosão do sensor quando em contato com meio agressivo, uma vez que, qualquer mínima área deste material exposta se comportará como ânodo em relação ao revestimento de cromo de ouro aplicados.

Neste contexto, a redução na massa inicial e a proteção contra a corrosão de um SME são fatores importantes a serem estudados, uma vez que influenciam diretamente no seu desempenho. Logo, a substituição das camadas de cromo e de ouro por outro material com características protetivas frente à corrosão e com custos inferiores, como os

revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos, por exemplo, é uma alternativa a ser estudada e avaliada.

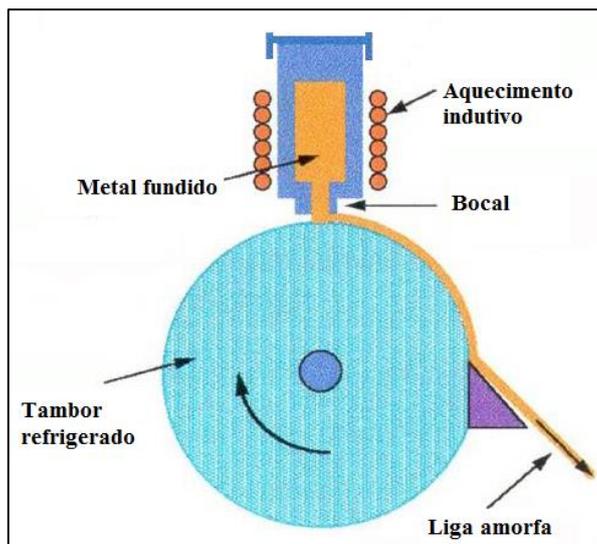
### 3.3 Ligas magnetoelásticas

Materiais metálicos com estrutura amorfa apresentam arranjos atômicos aleatórios e sem simetria, ou seja, sua estrutura é caracterizada pela falta de ordenação atômica dos cristais. Estes materiais apresentam várias propriedades magnéticas distintas e particulares, o que desperta o interesse às aplicações tecnológicas de ponta, especialmente na área de informática e de sensoriamento remoto.

Uma das propriedades de algumas ligas ferromagnéticas amorfas é a magnetoelasticidade. Conforme comentado anteriormente, o fenômeno magnetoelástico ou magnetostricção é definido pela deformação de um material devido à ação de um campo magnético externo. Esta propriedade é inerente ao material e não muda com o tempo de uso. Quando um material magnetoelástico é submetido a um campo magnético externo seus domínios magnéticos se orientam ao longo da direção do campo, gerando tensões magnetoelásticas que resultam na variação longitudinal da amostra (LIANG et al., 2007).

As ligas magnetoelásticas utilizadas como plataformas para SME são comercializadas em formato de fitas em rolos, com baixa espessura (cerca de 28  $\mu\text{m}$ ). Um dos processos de fabricação de fitas magnetoelásticas a partir de ligas metálicas fundidas é conhecido como *melt spinning* (LIEBERMANN et al., 1976; BUDHANI et al., 1982). Nesse processo, o material em estado líquido é forçado a passar por uma abertura que produz um jato sobre um cilindro giratório. A taxa de resfriamento necessária para que o material solidifique sem formar estruturas cristalinas é de aproximadamente  $10^6 \text{ K}\cdot\text{s}^{-1}$  (MOSCON, 2009). Para ajudar na formação do estado amorfo e melhorar a viscosidade do metal fundido, na maioria das vezes é adicionada de uma quantidade restrita de metaloide ao fundido (TUMANSKI, 2011). A espessura da fita é determinada pela velocidade do tambor rotativo enquanto a largura é determinada pela largura e proximidade do bocal onde corre a liga com o tambor. A Figura 5 ilustra esquematicamente a técnica de produção das fitas magnetoelásticas através de *melt spinning*.

**Figura 5** - Fabricação de fitas amorfas através do processo de *melt spinning*.



**Fonte:** Adaptado de Tumanski, 2011.

O processo *melt spinning* produz fitas ME com superfícies distintas, pois o lado superior da fita fica voltado ao ambiente, formando uma superfície lisa, enquanto que o lado inferior da fita fica voltado para o tambor de refrigeração, o que provoca o aprisionamento de bolhas de ar, gerando assim uma superfície com rugosidade maior que a outra.

Possan et al. (2016) desenvolveram um SME-CM para a detecção de bactérias *E. coli* a partir da liga Metglas 2826MB3, revestida por cromo, ouro, cistamina e anticorpo. Os autores estudaram a influência da superfície (rugosa, lisa e polida) da liga Metglas 2826MB3 no desempenho do sensor. Os resultados mostraram que as variações de frequência de ressonância medidas correspondem a captura das bactérias e que a saturação ocorreu após 40 minutos de ensaio. Ainda segundo os autores, o sensor com superfície rugosa apresentou uma resposta mais rápida referente a captura de bactérias, quando comparado aos demais sensores testados. Por outro lado, os sensores com superfície lisa e polida apresentaram uma variação na frequência de ressonância maior, quando comparado ao sensor com superfície rugosa.

Os parâmetros magnéticos da fita magnetoelástica podem ser melhorados através de tratamento térmico, principalmente se o tratamento longitudinal ocorrer em campo magnético. No entanto, alguns cuidados devem ser tomados de modo a não exceder a temperatura de cristalização do estado amorfo. O estudo realizado por Brinkman et al. (2011) mostrou que quando expostas a altas temperaturas, as fitas podem sofrer

alterações, apresentando pequenas porções de arranjos cristalinos. Os testes foram realizados em uma liga Metglas com composição de Fe (40–50%), B (1–5%), Mo (5–10%), Co (0.3%), e Ni (40–50%), que foi aquecida de 25°C a 710°C e avaliada por DRX. Os resultados mostraram que a partir dos 400°C uma fase cristalina FeNi se formou na proporção de 22 % vol. dentro da matriz amorfa e esta estrutura permaneceu estável ao longo de 3 h a esta temperatura. Com este estudo os autores confirmaram que uma fase cristalina pode coexistir em uma matriz amorfa de Metglas.

As fitas magnetoelásticas têm sido empregadas como sensores de força/pressão, torque, deformação e posição, em magnetômetros e geradores de potência. De modo geral, estes sensores encontram aplicação em equipamentos de agricultura, indústria automotiva, área de defesa e aeroespacial, mineração, equipamentos médicos, indústria de petróleo e petroquímica, indústria metalúrgica, indústria farmacêutica, geração de energia, etc. (SANTOS, 2013). Além disso, as fitas magnetoelásticas têm sido amplamente utilizadas como plataforma de sensoriamento remoto para detecção da variação de temperatura, pressão, viscosidade, densidade, massa, entre outros (JAIN et al., 2000; AUSANIO et al., 2005).

A operação desta variedade de sensores está baseada na exposição a um campo magnético oscilante produzido por uma bobina excitadora, que produz vibrações longitudinais elásticas no sensor que, por sua vez, emite um fluxo magnético que pode ser detectado remotamente. A resposta do sensor pode ser detectada por técnicas magnéticas, acústicas ou óticas (GRIMES et.al., 2011).

Em seu estudo, Kouzoudis e Mouzakis (2006) utilizaram uma fita magnetoelástica Metglas 2826 como sensor para medição remota de tensão e deformação passiva (bobina) e comparam com os resultados de tensão e deformação dinâmica (análise dinâmico mecânica (DMA)) em várias frequências. Os resultados comprovaram a eficiência do sistema de sensoriamento remoto, uma vez que o sensor detectou facilmente pequenas variações na frequência. Com isso os autores sugerem que este sistema de sensoriamento remoto elimina a necessidade de utilização de técnicas demoradas e de difícil compreensão, como o DMA por exemplo. Os autores também destacaram a facilidade da utilização deste sistema, pois a fita Metglas pode ser utilizada como sensor remoto sem a necessidade de conexões externas, pilhas ou fonte de alimentação auxiliar.

Ligas magnetoelásticas comerciais são conhecidas e estudadas em várias composições (MAGRINI et al., 1985; SANTOS, 1986; PLATA-TORRES et al., 2007),

porém, a liga FeNiMoB é especialmente estudada devido a suas propriedades eletromagnéticas (LIANG et al., 2012; TORMES et al., 2013; LISHA et.al., 2014). Autores como Lakshmanan (2007) indicam a utilização da liga Metglas 2826MB3 em sensores, uma vez que este material possui grande magnetoestricção e alto fator de acoplamento magnetoelástico, o que garante uma eficaz conversão da energia magnética em energia elástica, sendo altamente sensível ao carregamento de massa.

O estudo realizado por Liang et al. (2012) mostrou que uma liga FeNi dopada com molibdênio (Mo) tem sua estrutura policristalina alterada para amorfa além de apresentarem alterações significativas nas propriedades magnéticas anisotrópicas e diminuição da coercividade da liga. A adição de boro (B) à liga já dopada com molibdênio diminui ainda mais a coercividade e as perdas de histerese, além de alterar as propriedades de anisotropia magnética. Estes resultados mostram que a adição de Mo e B à liga FeNi melhora as propriedades e o desempenho do material, principalmente quanto a aplicações sensoriais.

Sensores fabricados a partir da liga FeNiMoB apresentam alta sensibilidade à variação de massa (SHEN et al., 2010). Contudo, para aumentar a sensibilidade a pequenas variações de massa, é necessário reduzir a massa do sensor e aumentar sua resposta de frequência. Considerando-se que a espessura da fita é a menor possível, a redução proporcional do comprimento e da largura é um método eficaz, uma vez que não apenas aumenta a frequência, mas também diminui a massa do sensor, melhorando o seu desempenho (LIANG et al., 2007).

Devido à sua sensibilidade na detecção de variações de massa, as fitas magnetoelásticas têm sido utilizadas como plataforma para o desenvolvimento de sensores. Contudo, uma de suas limitações é a suscetibilidade à corrosão, necessitando impreterivelmente de um revestimento protetivo. Uma alternativa para substituir os revestimentos metálicos convencionalmente utilizados, cujas limitações foram abordadas anteriormente, são os revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício.

### **3.4 Revestimentos híbridos**

Os materiais metálicos apresentam diversas propriedades interessantes à indústria, como alta resistência mecânica e alta tenacidade, porém são facilmente atacados por íons agressivos, sofrendo corrosão, que limita o seu tempo de vida útil (WEST, 1988;

GENTIL, 2011). Um dos processos de proteção de superfícies metálicas que tem sido estudado amplamente envolve o desenvolvimento de revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício. O uso desses revestimentos tem sido reportado para a proteção de diversos substratos metálicos e suas ligas, como magnésio (KHRAMOV et al., 2006; BRUSCIOTTI et al., 2013), aço (CERTHOUX et al., 2013), folhas de flandres (KUNST et al., 2015; BALDIN et al., 2016) e alumínio (JERMAN, et al., 2011; VIGNESH et al., 2014).

Estudos mostram que estes revestimentos são alternativas de relativo baixo custo, pois requerem menos etapas de processo, agredem menos o meio ambiente e oferecem proteção no mínimo igual àquelas fornecidas pelos fosfatos e cromatos. Promovem uma excelente adesão da tinta, passivam o metal e melhoram a resistência à corrosão, mesmo sem a pintura (JOTHI et al., 2014; KUNST et al., 2014.a; BRUSCIOTTI et al., 2013; DALMORO et al., 2012; ROMANO et al., 2011).

Conceitualmente, revestimentos são coberturas ou filmes aplicados sobre qualquer superfície, visando protegê-la ou decorá-la. São considerados revestimentos híbridos os que são constituídos pela combinação de componentes orgânicos e inorgânicos que, normalmente, apresentam propriedades complementares, gerando um novo material com propriedades diferenciadas daquelas que lhe deram origem (JOSE et al., 2005).

Os revestimentos híbridos orgânico-inorgânicos combinam a estabilidade química, mecânica e térmica da fase inorgânica (cerâmica) com as propriedades elásticas e hidrofóbicas da fase orgânica (JOSE, 2005). Além disso, conforme relatado por alguns pesquisadores (SANCHEZ, 1994; SCHOTTNER, 2001; JOSE, 2005) nas propriedades dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos há também sinergismo envolvido, que depende da natureza química da interface orgânica-inorgânica, da quantidade e da morfologia de cada fase.

Um alcóxido pode ser entendido como um composto que tem em sua estrutura uma ramificação alcóxi (O-R), onde R represente uma ramificação orgânica. Estes compostos alcóxidos são resultantes da reação de um haleto metálico com um determinado álcool, em presença de um receptor do ácido formado para deslocar a reação (AIROLDI et al., 2004).

Os alcóxidos de silício, por vezes chamados apenas de “silanos”, são comumente utilizados como precursores no desenvolvimento de revestimentos híbridos. Estes

compostos tem o silício como elemento principal em sua cadeia, ligado à oxigênios e/ou ramificações orgânicas (R). Porém, segundo a IUPAC (2016), silanos são hidretos de silício saturados, análogos dos alcanos, que possuem fórmula geral  $\text{Si}_n\text{H}_{2n+2}$ . Estes compostos são subdivididos em várias classificações, sendo que os que possuem ramificações orgânicas são chamados organo-silanos. Logo, adotando-se esta subdivisão, os alcóxidos de silício são classificados como organo-silanos.

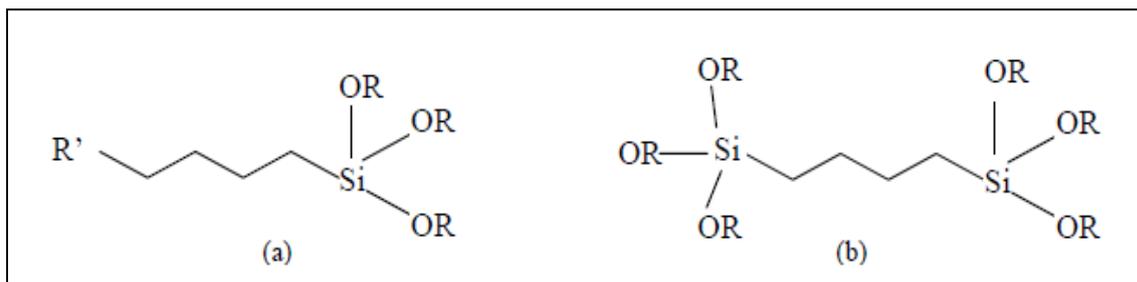
A presença simultânea de grupos orgânicos ligados a uma coluna inorgânica proporciona aos revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício uma combinação única de propriedades (STARK et al., 1982), permitindo a sua utilização em campos tão diferentes como aeroespacial (desempenho sob baixas e altas temperaturas), eletrônico (isolamento elétrico), saúde (excelente biocompatibilidade), mecânico (lubrificação) ou como material de construção (resistência ao intemperismo). Estes compostos também são utilizados como agentes de acoplamento, pois promovem a aderência entre materiais orgânicos e inorgânicos (WU et al., 2012).

Os compostos de alcóxidos de silício exibem a combinação de uma cadeia inorgânica, de alta energia superficial, com grupos orgânicos, associados a uma baixa energia de superfície. Isso promove estabilidade a estes compostos, uma vez que as ligações Si-O são fortemente polarizadas e sem proteção sofreriam fortes interações intermoleculares (STARK et al., 1982).

Em seu estudo, Airoidi et al., (2004) citou que no caso dos alcóxidos de silício, o tamanho da cadeia é de fundamental importância para a cinética do processo de hidrólise verificando-se que, quanto maior a cadeia, mais lento é o processo de hidrólise, o que por sua vez influenciará as propriedades (porosidade, por exemplo) do composto formado. Assim, em condições de reação similares, diferentes alcóxidos produzem diferentes materiais. Por este motivo, a escolha do precursor é de fundamental importância nas propriedades desejadas do revestimento a ser desenvolvido.

Os alcóxidos de silício podem ser classificados em mono-silanos e os bis-silanos. Os mono-silanos contêm somente um átomo de silício por molécula, ligados a três grupos OR, enquanto os bis-silanos têm dois átomos de silício e seis grupos OR no total, sendo o grupo OR hidrolisável, conforme mostra a Figura 6 (ZHU et al., 2003).

**Figura 6** - Estrutura de um (a) mono-silano e um (b) bis-silano.

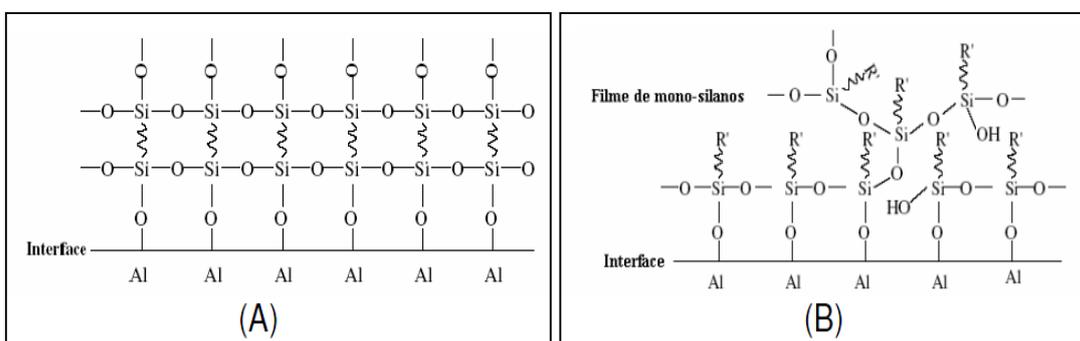


**Fonte:** Zhu et al., 2003.

Um fator muito importante para a eficiência anticorrosiva das camadas formadas pelos alcóxidos de silício é a etapa de adsorção. Uma adsorção mais eficiente garantirá um revestimento mais protetor após as etapas de tratamento do revestimento (cura). Já que o número de grupos Si-OH das moléculas de bis-silanos é o dobro das moléculas de mono-silanos, os bis-silanos são capazes de formar uma maior densidade de ligações e, simultaneamente, originar um revestimento de polissilano mais eficiente, com maior quantidade de ligações cruzadas (rede de Si-O-Si).

Uma comparação das possíveis regiões interfaciais formadas entre estes dois sistemas e o substrato de alumínio é mostrada na Figura 7. Como ambas as ligações contribuem para uma maior adesão dos compostos ao metal, espera-se que os bis-silanos tenham uma aderência maior aos substratos metálicos que os mono-silanos (ZHU et al., 2003). O acoplamento dos silanóis à superfície metálica se dá através de ligações de hidrogênio, que se formam entre as hidroxilas do metal e as hidroxilas do silanol.

**Figura 7** - Formação de uma camada de (a) bis-silano e (b) mono-silano.



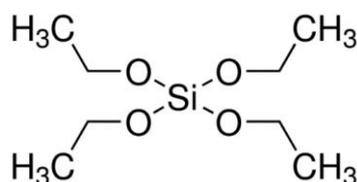
**Fonte:** Adaptado de Zhu et.al., 2003.

Existem vários alcóxidos de silício comumente utilizados como precursores na formação de revestimentos híbridos. Dentre estes, destacam-se o tetraetoxissilano (TEOS),

3-(trimetóxisililpropil)metacrilato (MAP) e o 1,2-bi(trietoxisilil)etano (BTSE), muito estudados como revestimento protetivo e de ancoragem em substratos metálicos.

O TEOS (tetraetoxisilano ou tetraetilortosilicato) é um mono-silano, não funcional, composto por 4 grupos etóxi (etilóxido) hidrolisáveis, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 8. Por ser facilmente hidrolisável, tem a vantagem de formar completamente as ligações silanol (Si-OH) para, posteriormente, condensar-se em ligações siloxano (Si-O-Si). O TEOS é considerado um agente *cross-linker*, pois promove a formação de redes robustas com reatividade moderada (OWENS et al., 2016).

**Figura 8** – Fórmula molecular do tetraetoxisilano (TEOS).



**Fonte:** Sigma-Aldrich, 2014

O estudo de Kros et al. (2002) demonstrou que materiais à base de TEOS, produzidos por sol-gel, podem ser utilizados como revestimentos biocompatíveis. Estes revestimentos são atóxicos e apresentaram-se eficientes quando aplicados em sensores de glicose implantáveis.

Além disso, segundo o estudo realizado por Lioni et al. (2014), alguns precursores alcóxidos de silício, como o TEOS, podem ser utilizados em contato com alimentos, uma vez que não apresentaram genotoxicidade. Conforme os autores relatam, o TEOS apresentou resultado negativo no teste de Ames\*, demonstrando não ser mutagênico, tendo baixíssima toxicidade potencial.

Cabral et al. (2005) em seu estudo, comprovaram que a espessura da camada de um revestimento de precursores alcóxidos depende da estrutura, da composição química e da natureza do precursor. Segundo os autores, os bis-silanos levam à formação de camadas mais espessas e mais homogêneas, além de terem alta capacidade de formar ligações Me-O-Si, enquanto que o mono-silanos formam camadas heterogêneas e com espessura menor. O TEOS, por se tratar de um mono-silano, normalmente é combinado com outro alcóxido de silício, a fim de melhorar a características e propriedades finais do revestimento.

\* O teste de Ames é um ensaio biológico amplamente empregado que avalia o potencial mutagênico de compostos químicos em organismos (mutações no DNA de bactérias) (AMES et al., 1973).

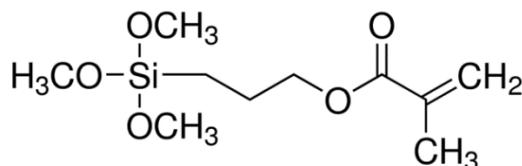
Estudos mostraram que a rede reticulada formada a partir do TEOS é puramente inorgânica, necessitando assim de um outro composto para a formação de um híbrido. Dalmoro et al. (2012) estudou o comportamento protetivo de revestimentos à base de TEOS dopados com ácido fosfônico (ATMP), quando aplicados sobre a liga AA2024-T3. Os testes foram realizados em solução de NaCl 0,05 M e, segundo os autores, a amostra revestida de TEOS puro apresentou um desempenho eletroquímico superior ao da amostra sem revestimento. Porém, com a adição de ATMP, na concentração de  $5 \cdot 10^{-4}$  M, o revestimento melhorou significativamente o seu desempenho protetivo.

Motte et al. (2012) estudaram a combinação de três alcóxidos de silício junto à incorporação de nanopartículas de argila no desenvolvimento de um revestimento protetivo ao aço galvanizado. O revestimento foi desenvolvido à base de glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS), tetraetoxisilano (TEOS) e metiltriethoxisilano (MTES), sendo incorporada diferentes concentrações de argila montmorilonita modificada com cério (III) ou com sódio. Os resultados mostraram que os revestimentos com argilas modificadas com sódio e cério aumentam a proteção contra a corrosão do aço.

Figueira et al. (2015) realizou um levantamento (*review*) das pesquisas publicadas entre 2001 e 2013 sobre o progresso dos revestimentos híbridos obtidos por sol-gel aplicados na proteção contra a corrosão de metais. Segundo os dados apresentados pelos autores o TEOS é o precursor alcóxido usado na maioria das publicações encontradas. Além disso, 27% de todas as publicações acessadas apresentam revestimentos híbridos compostos por uma combinação de TEOS e 3-(trimetoxisililpropil)metacrilato (MAP ou MAPTES).

O MAP (3-(trimetoxisililpropil)metacrilato ou 3-(metacrilóxi)propil trimetoxisilane) é um agente reticulante, muito utilizado em revestimentos híbridos, pois o torna mais denso e compacto. Este composto é um alcóxido modificado que possui um grupo metacrilato reativo (Figura 9). Conforme citado em vários estudos (GU et al., 2004; KUNST et al., 2014.a) o MAP é um grande agente de acoplamento e permite uma ligação estável entre fases orgânicas e inorgânicas, possibilitando assim, a formação de revestimentos de alguns micrômetros de espessura e sem fissuras.

**Figura 9** - Fórmula molecular do 3-(trimetóxisililpropil)metacrilato (MAP).

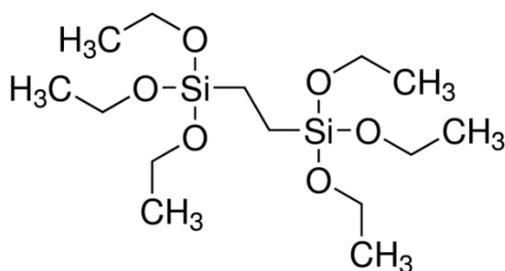


Fonte: Sigma-Aldrich, 2014

Certhoux et al. (2013) estudaram o desempenho anticorrosivo de revestimento híbrido à base de TEOS e MAP aplicado sobre o aço inoxidável AISI 304L. Neste estudo também foi avaliado o desempenho do cério (III) como inibidor de corrosão e do polietilenoglicol (PEG) como plastificante, quando adicionados ao revestimento híbrido. A eficiência da proteção anticorrosiva do aço inoxidável revestido foi investigada por curvas de polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), utilizando como eletrólito uma solução de NaCl 3,5%. Os resultados eletroquímicos mostraram que o revestimento à base de TEOS-MAP-PEG apresentou os melhores desempenhos anti-corrosão, atuando como uma barreira eficaz, aumentando a resistência à impedância e reduzindo significativamente as densidades de corrente.

O BTSE (1,2-bis(trietoxisilil)etano) é bis-silano, não funcional, composto por seis grupos etóxi (etilóxido) e uma cadeia curta de carbonos entre os átomos de silício (Figura 10). Devido a sua natureza hidrofóbica, o BTSE é considerado um composto base alcohólica, necessitando de uma grande quantidade de álcool para a sua solubilização em água (Zhu et al., 2003).

**Figura 10** - Fórmula molecular do 1,2-bis(trietoxisilil)etano (BTSE).



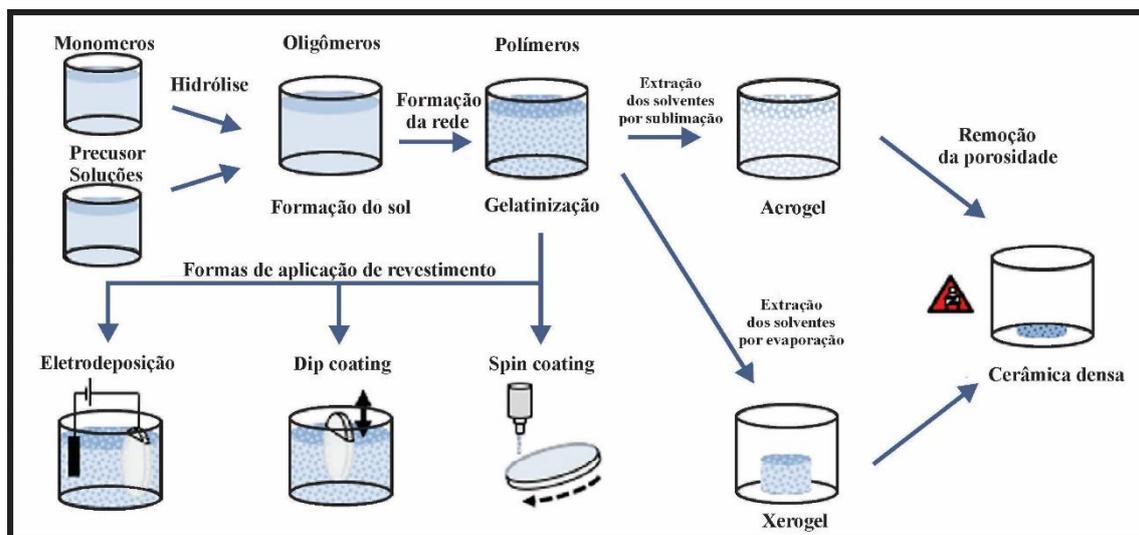
Fonte: Sigma-Aldrich, 2014.

O estudo realizado por Ooij et al. (2000) comprovou que o revestimento desenvolvido a partir do BTSE foi eficaz na proteção contra a corrosão de uma superfície metálica. Xue et al. (2013) estudaram o efeito protetivo de revestimentos à base de BTSE e resina epoxi aplicados sobre o aço galvanizado a quente (HDG). Os autores testaram dois métodos de aplicação do revestimento, por eletrodeposição e por imersão (dip-coating). Os resultados mostraram que os revestimentos formados a partir de ambos os métodos de aplicação foram eficientes na proteção do HDG contra a corrosão em meio salino (solução de NaCl 3,5%).

Os revestimentos híbridos à base de precursores alcóxidos de silício podem ser facilmente preparados via processo sol-gel. Este método possibilita seu processamento a baixas temperaturas e a custos reduzidos quando comparado à outros métodos, vindo a ser um dos mais utilizados (QUINET et al., 2007; LAMAKA et al., 2008; MOHSENI, et al., 2014; ASADI et al., 2014; KUNST et al., 2014.b).

Segundo Alfaya et al. (2002) o processo sol-gel pode ser facilmente reconhecido, pois trata de qualquer rota de síntese de materiais onde num determinado momento ocorre uma transição do sistema sol para um sistema gel. Ainda segundo o autor, o termo sol é empregado para definir uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 100 nm) estável em um fluido, enquanto o termo gel pode ser visto como sendo um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico), rede reticulada, que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios. A Figura 11 ilustra uma síntese do processo sol-gel de forma genérica.

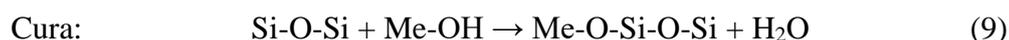
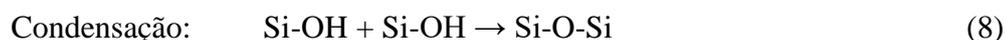
**Figura 11** - Fluxograma genérico para síntese de sol-gel.



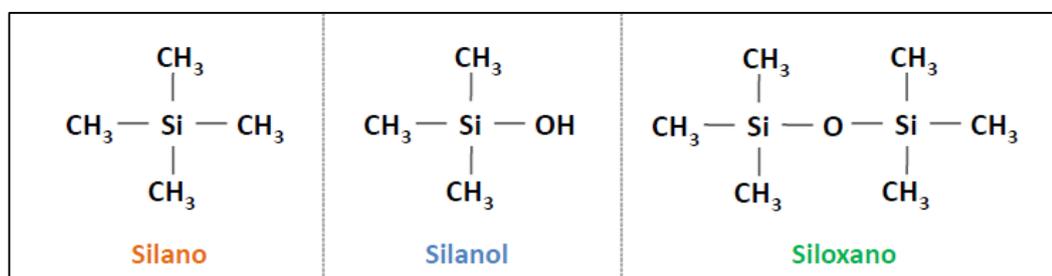
**Fonte:** Adaptado de Owens et al. (2016)

A hidrólise é a principal reação que conduz a transformação de precursores alcóxidos, quando reagem com a molécula de água. Esta reação se dá a partir da substituição das ramificações OR do precursor alcóxido (onde R é identificado como um grupo orgânico) por um grupo hidroxila (OH), formando grupos silanóis (Si-OH), conforme apresentado na Equação 7. O mecanismo de hidrólise de um precursor alcóxido é complexo, sendo diretamente afetado por diversos fatores como a razão de solventes utilizada, a temperatura, a agitação do sistema e o pH, entre outros.

Imediatamente após a hidrólise, ocorrem as reações de condensação entre os grupos silanóis, criando uma rede de ligações siloxano (Si-O-Si), conforme apresentado na Equação 8. Além disso, são produzidos como subprodutos das reações de condensação álcool e/ou água, dependendo da razão de precursores/álcool/água utilizadas. Através da cura, a uma temperatura apropriada, reações de condensação para formação de ligações metalosiloxano (Me-O-Si) e siloxano (Si-O-Si), são aceleradas, com liberação das moléculas de água, conforme Equação 9 (BRINKER et.al., 1990; WANG et al., 2009). A Figura 12 apresenta um exemplo de um silano genérico sendo convertido em silanol e posteriormente em siloxano, conforme ocorre durante o processo sol-gel.



**Figura 12** - Exemplo de silano genérico (Si-R ou Si-O-R) tendo uma ramificação orgânica convertida em silanol (Si-O-H) após a hidrólise e, após a cura, convertida em ligação siloxano (Si-O-Si).



**Fonte:** O autor

Na transição de sol a gel, o ponto de geleificação é observado pelo aumento da viscosidade do sol, a ponto deste se tornar um gel expandido. Este evento ocorre à

temperatura ambiente, sem acompanhamento exotérmico ou endotérmico, e sem alteração química do material. Contudo, caso este gel permaneça em condições ambiente por longo períodos de tempo, a sua composição, estrutura e a propriedade são alteradas, devido ao processo de envelhecimento (SCHERER, 1998).

Com isso, posteriormente a geleificação, os solventes residuais necessitam ser completamente removidos, uma vez que as ligações siloxanos não são estáveis, e a presença de água e álcool no sistema podem interferir na composição final do gel. Os solventes podem ser extraídos de duas formas: por evaporação, que utiliza temperaturas relativamente baixas (60 - 600 °C) em pressão ambiente, formando assim um xerogel; e por sublimação, onde a extração é promovida utilizando-se um fluido supercrítico, geralmente CO<sub>2</sub>, em condições de pressão e temperatura específicas, formando assim um aerogel (OWENS, 2016). Após a extração dos solventes, o gel seco passa por um tratamento térmico a fim de ser convertido em uma cerâmica densa.

De forma geral, observando-se o mecanismo de formação de um revestimento pelo processo sol-gel, o precursor passa pela sequência de oligômero, polímero, coloide, sol, e termina finalmente como sólido (CORRIU et al., 2001)

Dentre as principais vantagens do processo sol-gel, pode-se mencionar a elevada pureza dos compostos obtidos, a diversidade de composições, a estabilidade química e térmica e as baixas temperaturas de operação (OWENS, 2016).

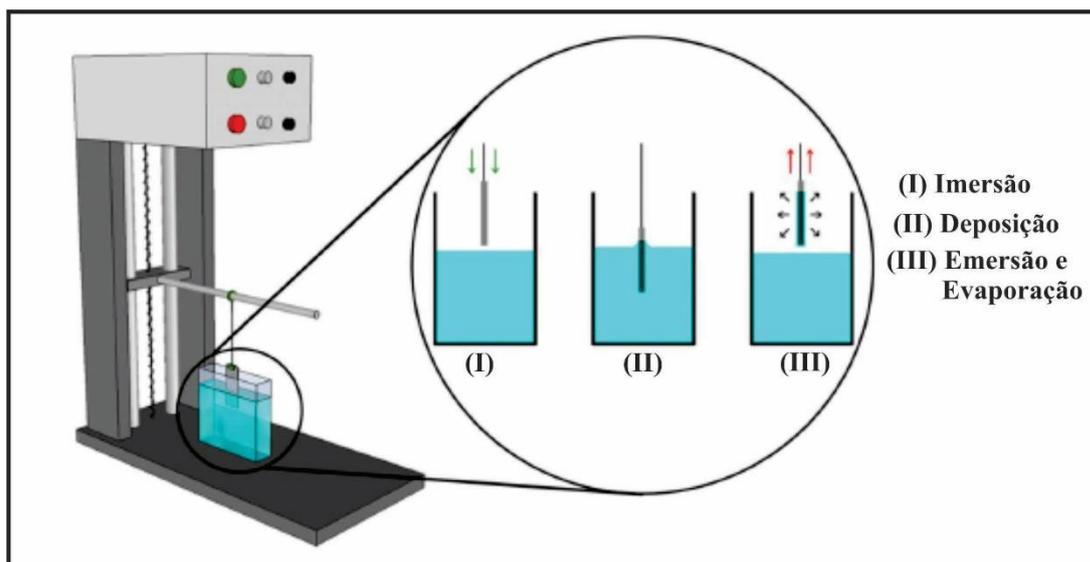
Os alcóxidos dissolvem-se em um solvente, geralmente um álcool, e depois da adição de água a solução converte-se em um sol, como resultado da formação de pequenas cadeias poliméricas a partir da hidrólise dos precursores. Porém, é importante notar que a adição de álcool em grandes quantidades leva a efeitos indesejáveis sobre a secagem dos revestimentos e géis, pois aumenta o risco de fissuração devido à rápida libertação do vapor de álcool, gerando uma porosa estrutura e reduzindo a concentração total de sólidos, o que leva a um grande encolhimento e rachaduras no material formado.

A boa adesão das moléculas de silano ao substrato metálico depende da formação de grupos silanóis que irão se ligar, por meio de pontes de hidrogênio, a uma superfície metálica; entretanto, as moléculas de silano (orgânicas) são hidrofóbicas, e, conseqüentemente, pouco solúveis em água. Por este motivo, é importante a presença de outro solvente, como álcool, para iniciar o processo de hidrólise das moléculas e a formação de grupos silanóis (hidrofílicos), garantindo assim a sequência do processo em água (OOIJ et al., 2005).

Efetivamente, o processo sol-gel é identificado e caracterizado pelas reações de hidrólise e de condensação. Logo, as demais etapas (Figura 11) podem ser alteradas, combinadas ou completamente excluídas, dependendo das necessidades específicas de aplicação (OWENS, 2016). Diante disso, para a formação de revestimentos híbridos obtidos por este processo sol-gel, o sol pode ser aplicado sobre uma superfície utilizando-se diversos métodos, sendo as mais comuns o *dip coating*, o *spin coating* e a eletrodeposição (OWENS, 2016).

Dentre as técnicas que têm sido utilizadas na deposição de revestimentos híbridos sobre superfícies o processo de *dip-coating* tem se destacado (TIAN et al., 2015; MOHSENI, et al., 2014; ASADI et al., 2014; KUNST et al., 2014.b). Este processo vem sendo muito utilizado por se tratar de uma técnica simples e de baixo custo, além de possibilitar a aplicação do revestimento nas três dimensões. Esse processo consiste na retirada, a uma velocidade controlada, do substrato anteriormente imerso no sol híbrido. Durante o movimento de emersão a suspensão é arrastada com o substrato, causando um aumento na área de evaporação e na taxa de secagem, o que leva a formação de uma camada de gel. Com o prosseguimento da secagem uma camada sólida é formada (BRINKER et al., 1990; COAN et al. 2013). Desse modo, esse processo pode ser dividido nas quatro etapas: imersão, deposição, emersão e evaporação, conforme ilustrada a Figura 13.

**Figura 13** - Esquema ilustrativo do processo dip-coating.



**Fonte:** Adaptado de Coan et al. (2013).

Segundo estudo realizado por Franquet et al. (2001), a espessura do revestimento depositado por *dip-coating* depende da concentração do alcóxido de silício no sol e da temperatura aplicada na cura. Ainda segundo os autores, a espessura é praticamente independente do tempo de imersão, já que adsorção das moléculas do sol, através de pontes de hidrogênio, ocorre rapidamente na superfície do substrato.

A velocidade de retirada é um fator que também influencia na espessura do revestimento híbrido durante o processo *dip-coating*. Kunst et al. (2013) estudou a influência da velocidade de retirada, durante o processo *dip-coating*, na formação do revestimento híbrido de MAP e TEOS aplicado sobre o aço galvanizado. Os autores estudaram três diferentes velocidade de retirada: 10, 20 e 30 cm/min. Os resultados mostraram que o revestimento formado com velocidade de retirada de 30 cm/min apresentou irregularidades e fissuras, além de menor espessura e desempenho eletroquímico inferior aos demais revestimentos testado. Segundo os autores, isso ocorreu devido à contração do volume e aumento das tensões internas que ocorrem depois de cura. Com isso, os autores concluíram que, para este sistema híbrido testado, velocidades de retirada mais baixas, como 10 cm/min, favorecem a formação de revestimentos regulares, sem fissuras, mais espessos e, conseqüentemente, mais protetivos.

Vários outros parâmetros também influenciam diretamente na formação dos revestimentos híbridos desenvolvidos por sol-gel e aplicados pelo processo *dip-coating*. Dentre estes parâmetros destacam-se a concentração dos precursores alcóxidos, o tempo de hidrólise e condensação e o pH do sol, além do tempo e temperatura de cura do revestimento, bem como a preparação da superfície do substrato onde o sol será aplicado.

O tempo de hidrólise e condensação são parâmetros importantes pois, de acordo com Pan et al. (2006), após a mistura com água, a solução de silano tem de ser hidrolisado por algum tempo para alcançar uma condição "viável" antes da aplicação sobre o substrato. Um revestimento uniforme e transparente só pode ser obtido a partir de uma solução contendo grupos silanóis suficientes, gerados a partir da hidrólise para a condensação subsequente. Se a solução é sub-hidrolisada, pode ocorrer a formação de um revestimento oleoso e não uniforme. Se a solução for super-hidrolisada, pode haver a formação de um revestimento não-uniforme e com manchas brancas na superfície.

O pH do sol é o parâmetro responsável pela estabilidade alcóxido de silício, pois controla o comportamento de um determinado alcóxido de silício durante as reações de

hidrólise e condensação, pois ambas as reações são catalisadas por ácidos ou bases (OOIJ et al., 2005).

O tempo e a temperatura de cura do revestimento são importantes para garantir a completa remoção dos solventes, bem como a formação e reticulação da rede, visando produzir camadas mais protetoras (FRANQUET, et al., 2003). De acordo com Pan et al., (2006), as ligações são o fator chave que controla as propriedades morfológicas e de barreira de revestimento híbridos de silício. Revestimento com ligações fortes e bem reticulados garantiram uma barreira mais eficaz.

A limpeza e preparação da superfície deve eliminar sujidades e impurezas, visando uma melhor aderência do revestimento ao substrato (CAPIOTTO, 2006; PALOMINO, 2007).

Alguns destes parâmetros que influenciam na formação dos revestimentos híbridos foram tema do estudo realizado por Gabbardo (2014). Em seu trabalho a autora estudou o efeito protetivo de revestimentos à base de bis-1,2-(trietoxisilil)etano (BTSE) aplicados sobre o aço galvanizado avaliando a influência do tempo de hidrólise da solução precursora (sol) e de envelhecimento do revestimento após a cura. Para isso a autora deixou o sol hidrolisando (processo de envelhecimento) por 1 dia, 1 mês e meio, 3 meses e 5 meses. Já para o outro teste, com o sol após 1 dia de hidrólise, a autora revestiu amostras e as deixou estocadas em dessecador por 1 semana, 1 mês e meio e 5 meses. Os resultados mostram que quanto maior o tempo de envelhecimento das soluções (sols) pior é o comportamento eletroquímico dos revestimentos formados a partir delas, uma vez que o revestimento com melhor desempenho protetivo foi o preparado a partir do sol hidrolisado durante 1 dia. Já o tempo de envelhecimento do revestimento após a cura não apresentou influência significativa sobre o seu caráter protetivo, uma vez que, mesmo após 5 meses de armazenamento, as amostras apresentaram comportamento eletroquímico semelhante ao das amostras testadas após 1 semana. Com isso, a autora concluiu que o tempo ideal de hidrólise do sol estudado é de 24 horas e que após a aplicação e cura do revestimento, o seu desempenho protetivo não é prejudicado, mesmo após 5 meses, desde que as amostras sejam armazenadas em locais protegidos da umidade.

Segundo alguns autores como Chou et.al. (2001), Zheludkevich et.al. (2005) e Ooij et.al. (2005) o envelhecimento de soluções de alcóxidos de silício faz com que as reações de hidrólise sejam realizadas e, conseqüentemente, promove um aumento das reações de condensação, levando a formação de longas cadeias poliméricas de silício e

de uma rede rígida (gel). Com isso, os grupos Si-OH disponíveis na solução tornam-se insuficientes para promover a interação entre o revestimento e o metal, reduzindo assim a adesão entre eles. Além disso, com a aplicação de sol condensado sobre a superfície de uma amostra, a rede polimérica formada dificulta a remoção dos solventes durante a secagem, gerando assim um revestimento com estrutura porosa e, por consequência, menos protetivo.

Jerónimo et al. (2007) confirmaram, mediante uma relação de pesquisas, que o processo sol-gel pode ser utilizado para o desenvolvimento de sensores ópticos e biossensores, devido à sua simplicidade e versatilidade. A partir dele pode-se obter revestimentos finos que incorporam diferentes agentes de detecção químicos e bioquímicos, associando estabilidade mecânica e térmica, bem como propriedades ópticas desejáveis. Segundo os dados apresentados pelos autores as principais aplicações analisadas incluem sensores para determinação de pH, gases, espécies iônicas, solventes e compostos biológicos.

Neste contexto, a utilização de compostos híbridos como revestimentos protetivos se mostra uma excelente alternativa no desenvolvimento de sensores magnetoelásticos, pois são mais leves e com custos inferiores, quando comparados às camadas metálicas de cromo e ouro convencionalmente empregadas.

## 4 Materiais e Métodos

Neste capítulo apresenta-se as informações sobre os materiais utilizados e a metodologia empregada no desenvolvimento do presente estudo, bem como a descrição dos ensaios de caracterização empregados.

### 4.1 Materiais

Para a realização deste trabalho utilizou-se como substrato uma fita magnetoelástica de nome comercial Metglas<sup>®</sup>2826MB3 (MTG), com composição mássica de 45% de ferro (Fe), 45% de níquel (Ni), 7% de molibdênio (Mo) e 3% de boro (B). O material foi adquirido da empresa Metglas Company na forma de rolos e suas características e propriedades são apresentadas na Tabela 1, conforme especificação do fornecedor.

**Tabela 1** - Características e propriedades gerais do Metglas<sup>®</sup>2826MB3.

<b>Propriedades</b>	<b>Valor</b>
<i>Magnéticas</i>	
Magnetostricção de saturação	12 ppm
Temperatura de Curie	353 °C
Indução de saturação	0,88 T
<i>Físicas</i>	
Espessura	28 µm
Densidade	7,9 g/cm <sup>3</sup>
Módulo de elasticidade	100-110 GPa
Fator de laminação	>75 %
Expansão térmica	11,7 ppm/°C
Temperatura de cristalização	410 °C

**Fonte:** Metglas Company, 2013.

Os precursores alcóxidos utilizados foram o tetraetoxissilano (TEOS), 3-(trimetoxissilil)propilmetacrilato (MAP) e o 1,2-bi(trietoxissilil)etano (BTSE), todos da marca Sigma-Aldrich com pureza superior à 96%. O álcool etílico utilizado, da marca Neon, apresenta pureza de 99,5%.

Os eletrólitos utilizados nos ensaios são solução de NaCl 0,05 M, sendo o hidróxido de sódio, ambos da marca Neon com pureza superior a 98%; solução tampão fosfato-salino (PBS), na concentração de 0,02 mg/mL, composta por 8 g/L de NaCl 137 mM, 200 mg/L de KCl 2,7 mM, 1.44 g/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>O 10 mM, 240 mg/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>O 2 mM e água (ROSKAMS et al., 2001) e leite desnatado comercial, marca Piá, lote 03/2. As propriedades dos meios líquidos utilizados nos ensaios de caracterização estão descritas na Tabela 2.

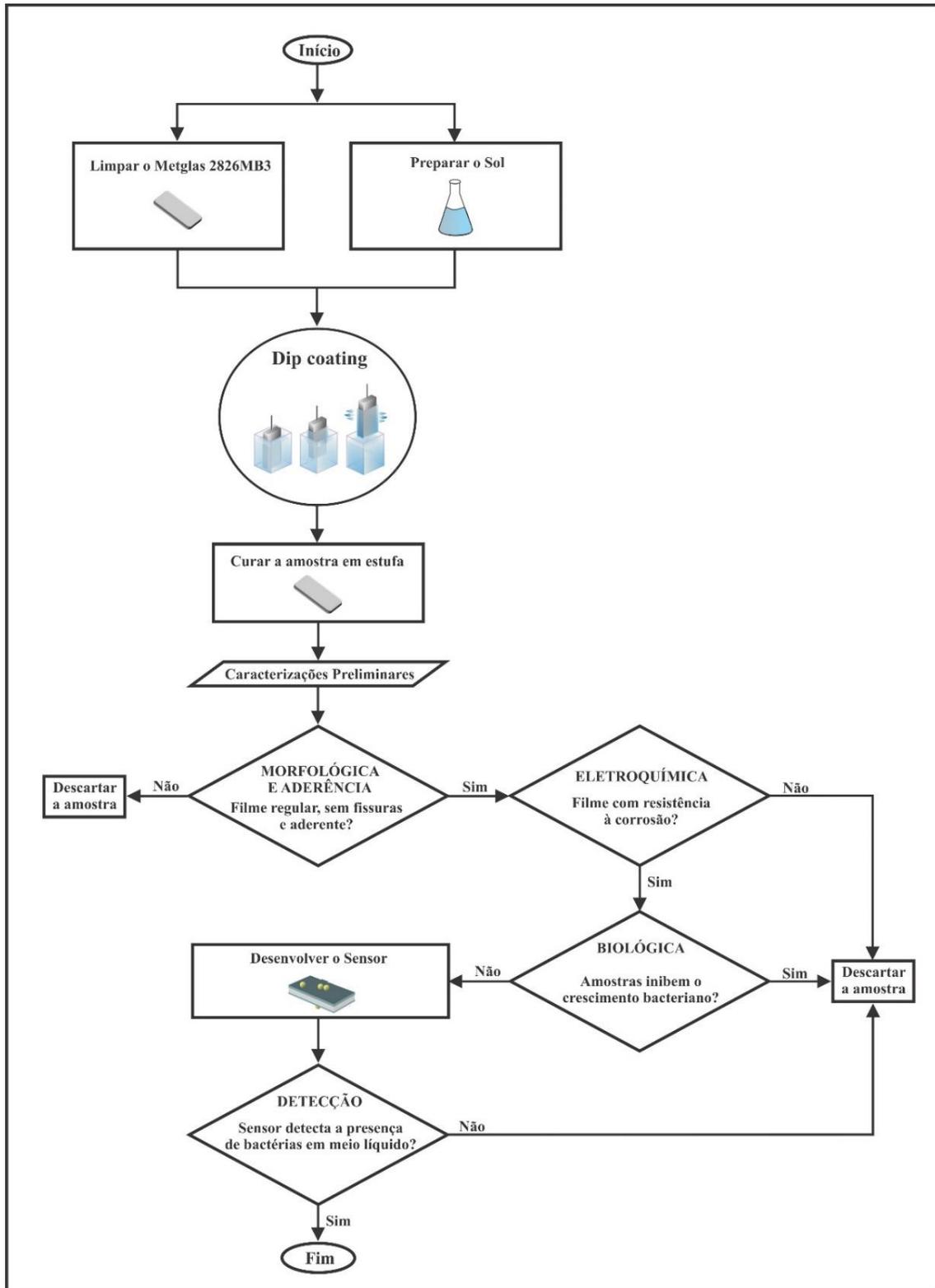
**Tabela 2** - Propriedades dos meios líquidos estudados

Propriedade	Meio líquido		
	NaCl 0,05 M	PBS	Leite
<b>pH</b>	8,4	7,4	6,7
<b>Condutividade (mS/cm)</b>	10	15	5
<b>Viscosidade (cP)</b>	1,0	1,0	1,2

## 4.2 Métodos

Neste item são descritos todos os métodos e caracterizações empregadas neste estudo e a Figura 14 apresenta o fluxograma que ilustra todas estas etapas.

Figura 14 – Fluxograma completo da metodologia aplicada neste trabalho.



#### **4.2.1 Preparação do substrato**

As fitas de Metglas foram cortadas em diferentes dimensões, dependendo do ensaio ao qual seriam submetidas. Para os ensaios de variação de frequência de ressonância utilizou-se amostras de 5 x 1 x 0,028 mm e para os demais ensaios, utilizou-se amostras de 30 x 6 x 0,028 mm. As amostras foram imersas em uma solução aquosa de etanol (1:1) e submetidas à limpeza em banho ultrassônico por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada e secas. Todos estes procedimentos foram conduzidos à temperatura ambiente.

#### **4.2.2 Preparação e aplicação dos revestimentos**

Os revestimentos utilizados neste trabalho foram obtidos a partir das reações de hidrólise dos precursores alcóxidos de silício em etanol e água. Para o revestimento TEOS-MAP, a composição (% em massa) foi definida na seguinte proporção: TEOS/MAP/Água/Etanol – 10/15/15/60. A hidrólise foi conduzida por 24 horas à temperatura ambiente. Após a aplicação sobre o substrato, a amostra permaneceu por 2 horas a temperatura ambiente para a pré-evaporação dos solventes e condensação do revestimento que, posteriormente, foi curado em estufa à temperatura de 90 °C durante 1 hora.

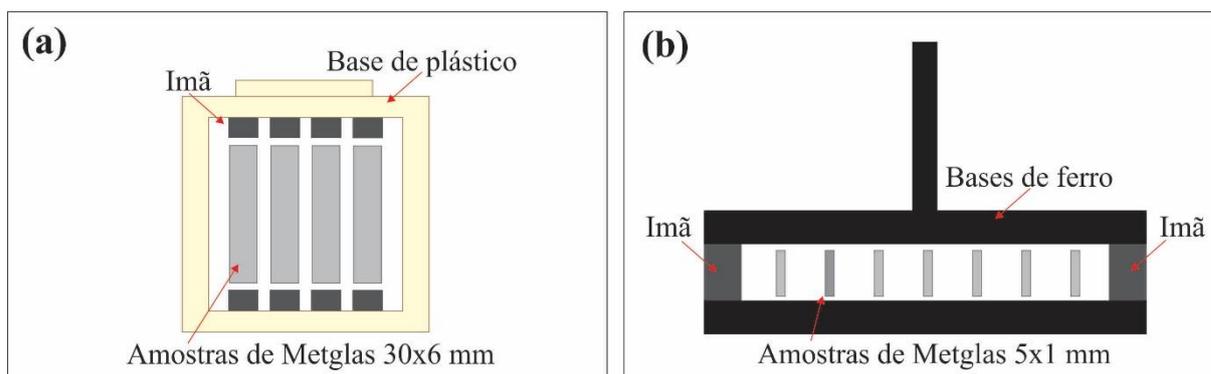
Para o revestimento BTSE, a composição (% massa) foi definida na seguinte proporção: BTSE/Água/Etanol – 5/20/75. A hidrólise foi conduzida por 24 horas à temperatura ambiente. Após a aplicação sobre o substrato, a amostra permaneceu por 2 horas a temperatura para a pré-evaporação dos solventes e condensação do revestimento que, posteriormente, foi curado em estufa à temperatura de 120 °C durante 1 hora.

O pH dos sols foi ajustado utilizando-se ácido acético para caráter ácido (> 4) para favorecer o processo de hidrólise. A metodologia aplicada no desenvolvimento das soluções (sols) acima citadas baseou-se em estudos como os de Capiotto (2006), Palomino et.al. (2008), Suegama et.al. (2010), Xue et.al. (2013), Certhoux et.al. (2013), Kunst et.al. (2014.a), Ibrahim et.al. (2014) e também em alguns testes preliminares.

O revestimento foi obtido sobre a superfície do substrato metálico pelo processo de *dip-coating*, com aplicação de uma camada, velocidades de retirada de 10 cm/min e tempo de imersão do substrato no sol de 5 minutos.

Como foram utilizadas amostras de Metglas com diferentes dimensões, foram desenvolvidos dois diferentes aparatos para a imersão das mesmas no sol, conforme ilustrado na Figura 15. Como pode ser observado na ilustração, as amostras não tocaram o suporte, o que permitiu a obtenção de um revestimento que recobrisse todas as dimensões da amostra em apenas uma aplicação.

**Figura 15** - Esquema dos aparatos desenvolvidos para facilitar a aplicação dos revestimentos sobre a superfície das amostras de Metglas, com dimensões de (a) 30 x 6 mm e (b) 5 x 1 mm, pelo método de dip-coating.

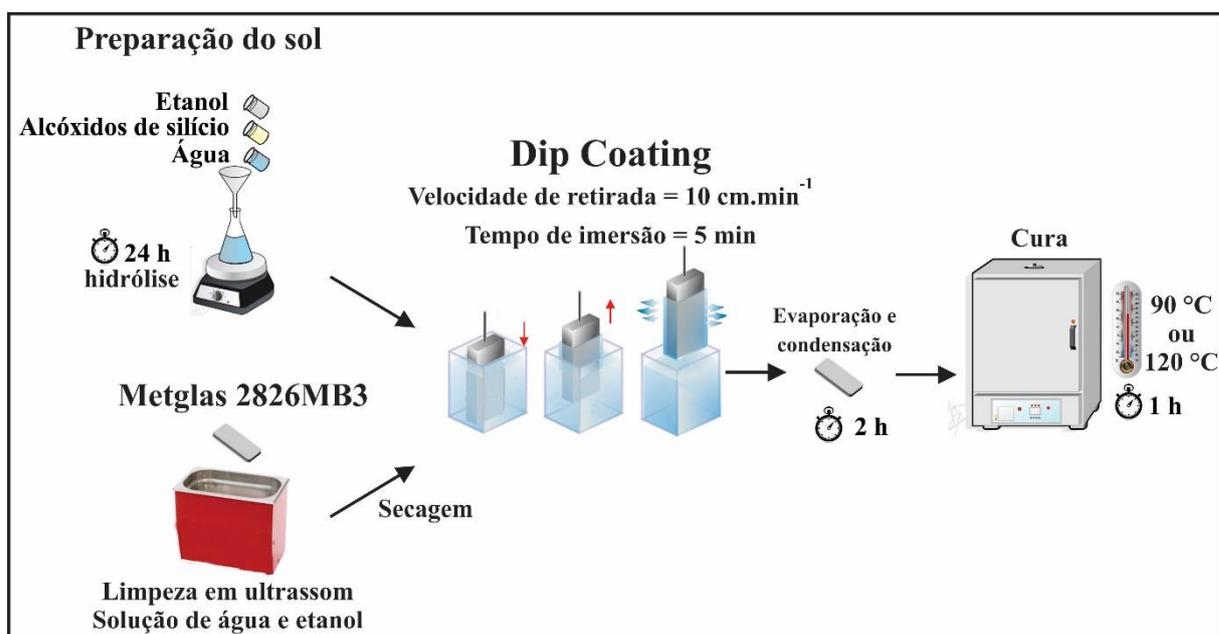


**Fonte:** O autor

Após a aplicação do sol, as amostras permaneceram expostas ao ar, em temperatura ambiente, para promover a evaporação dos solventes e o início do processo de condensação do revestimento sobre o substrato e, em seguida, as amostras foram levadas à estufa para o processo de cura. O processo de cura em estufa para ambos revestimentos estudados foi realizado com rampa de aquecimento com taxa de 10 °C/min. Este procedimento visa ambientar a amostra à elevação da temperatura, evitando que os solventes presentes no revestimento evaporem instantaneamente, causando a formação de fissuras no revestimento.

A Figura 16 apresenta o fluxograma da metodologia empregada nesta etapa e a Tabela 3 apresenta a descrição e a nomenclatura adotada para identificar as amostras estudadas nesta etapa.

**Figura 16** - Detalhe do fluxograma da metodologia empregada neste trabalho com ênfase na etapa inicial de preparação das amostras.



**Tabela 3** - Descrição e nomenclatura das amostras estudadas.

<b>Amostra</b>	<b>Descrição</b>
MTG	Metglas sem revestimento
MTG/TEOS-MAP	Metglas com revestimento à base de TEOS e MAP
MTG/BTSE	Metglas com revestimento à base de BTSE

#### 4.2.3 Desenvolvimento dos sensores

As amostras de Metglas, nas dimensões de 5 x 1 x 0,028 mm, recobertas com o revestimento que apresentou o melhor desempenho geral, foram utilizadas como plataforma para o sensor. Para testar as amostras como sensores para a detecção de bactérias fez-se necessário o preparo dos meios líquidos a serem testados.

As dimensões dos sensores foram determinadas de acordo com a sensibilidade de massa desejada e o limite do equipamento disponível. Segundo Grimes et al. (2011) a relação entre o comprimento e a largura da fita magnetoelástica utilizada em sensores

deve manter a proporção 5:1. Segundo os autores, esta proporção garante modos de vibração mais nítidos, o que favorece a obtenção de medidas precisas da frequência de ressonância fundamental.

Inicialmente, para o crescimento das bactérias utilizou-se um meio de cultura Luria Bertani (LB), formado por 1,5 % de triptona, 0,5 % de peptona, 0,05 % de NaCl (% m/v) e água (ROSKAMS et al., 2001). Para os testes utilizou-se a bactéria *E. coli* O6 (estirpe ATCC 25992) e a *S. aureus* (estirpe ATCC 25923). Meios de cultura são preparações químicas, compostas por nutrientes básicos, que estimulam o cultivo de microrganismos a serem analisados em um determinado procedimento.

A partir do lote original das bactérias, semeou-se uma pequena quantidade em uma placa de Petri com LB semi-sólido. O sistema foi mantido por 24 h a 37 °C, para o crescimento e formação de várias unidades formadoras de colônias (UFC). A partir disso, inoculou-se 1 UFC em 100 ml de LB, que permaneceu sob agitação mecânica de 100 rpm, a 37 °C e durante 14 horas, para promover a formação da suspensão bacteriana.

Após o crescimento das bactérias, os cultivos foram então diluídos nos meios líquidos a serem testados (PBS e leite desnatado). Realizou-se diluição das bactérias nos meios a partir de 0,1 mL de solução com bactérias diluído em 0,9 mL de meio a ser testado (PBS ou leite), produzindo assim uma diluição 1:10. A partir desta, sucedeu-se diluições seriadas até  $10^3$ . As soluções com diluições seriadas foram colocadas em microtubos de reação (*eppendorf*) de 250  $\mu$ L, onde as amostras foram imersas.

#### **4.2.4 Ensaio de caracterização do sol**

##### **4.2.4.1 Viscosidade**

Avaliou-se a viscosidade dos sols produzidos a partir dos precursores alcóxidos de silício, após 24 horas de hidrólise. A viscosidade foi analisada em um viscosímetro Brookfield DV2T, com rotação variável e uma temperatura constante (25 °C) para todas as amostras. Realizou-se este ensaio junto ao Laboratório de Engenharia Química (LENQ) da Universidade de Caxias do Sul.

#### *4.2.4.2 Análise termogravimétrica (TGA)*

A análise de TGA foi realizada com um equipamento 50-Shimadzu TGA, em uma faixa de temperaturas de 23 a 700 ° C e com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de ar.

#### *4.2.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)*

A análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada utilizando-se a técnica de refletância total atenuada (ATR), em um equipamento Nicolet IS10 Termo Scientific. Cada espectro foi obtido executando 32 varreduras entre 4000 cm<sup>-1</sup> e 400 cm<sup>-1</sup>.

Para as análises de FTIR e TGA, os sols foram depositados em placas de Petry e curados em estufa (em suas respectivas temperaturas) para posterior análise dos revestimentos. Realizou-se ambos os ensaios junto ao Laboratório de Polímeros (LPOL) da Universidade de Caxias do Sul.

### ***4.2.5 Ensaios de caracterização dos revestimentos híbridos***

#### *4.2.5.1 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)*

Para a avaliação da morfologia dos revestimentos utilizou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG), equipamento Tescan, modelo Mira3, com uma tensão de aceleração de 15 kV. As amostras foram observadas em vista de topo para identificação da morfologia superficial inicial e após o ensaio de impedância eletroquímica (EIE). Além disso, as amostras foram observadas em corte transversal a fim de visualizar e estimar a espessura dos revestimentos formados. As micrografias apresentadas são representativas das amostras estudadas.

#### *4.2.5.2 Espectroscopia de dispersão em energia (EDS)*

O mapeamento elementar dos revestimentos foi realizado por espectroscopia em dispersão em energia (EDS), utilizando-se um equipamento marca Oxford Instruments,

modelo X-Maxd, com uma tensão de aceleração de 15 kV e tempo de varredura de 25 minutos.

#### 4.2.5.3 *Microscopia ótica (MO)*

As imagens de microscopia ótica (MO) foram obtidas a partir de um microscópio ótico da marca Zeiss Jena, mododelo Jenapol, com uma câmara de vídeo da marca Hamamatsu acoplada. Os ensaios de MEV-FEG, EDS e MO foram realizados junto ao Laboratório Central de Microscopia "Professor Israel Baumvol" (LCMIC) da Universidade de Caxias do Sul.

#### 4.2.5.4 *Teste de adesão*

O teste de adesão (*Crosshatch and Tape Pull Test*) foi realizado em conformidade com a norma ASTM D-3359/09, onde são realizados riscos verticais e riscos horizontais, formando quadrados de 1 x 1 mm. Em seguida uma fita adesiva especial é aplicada e pressionada sobre a superfície do revestimento riscado. Após 3 minutos a fita é removida em direção paralela ao substrato. Verifica-se o nível de deslocamento do revestimento através de microscopia de MEV-FEG.

#### 4.2.5.5 *Molhabilidade*

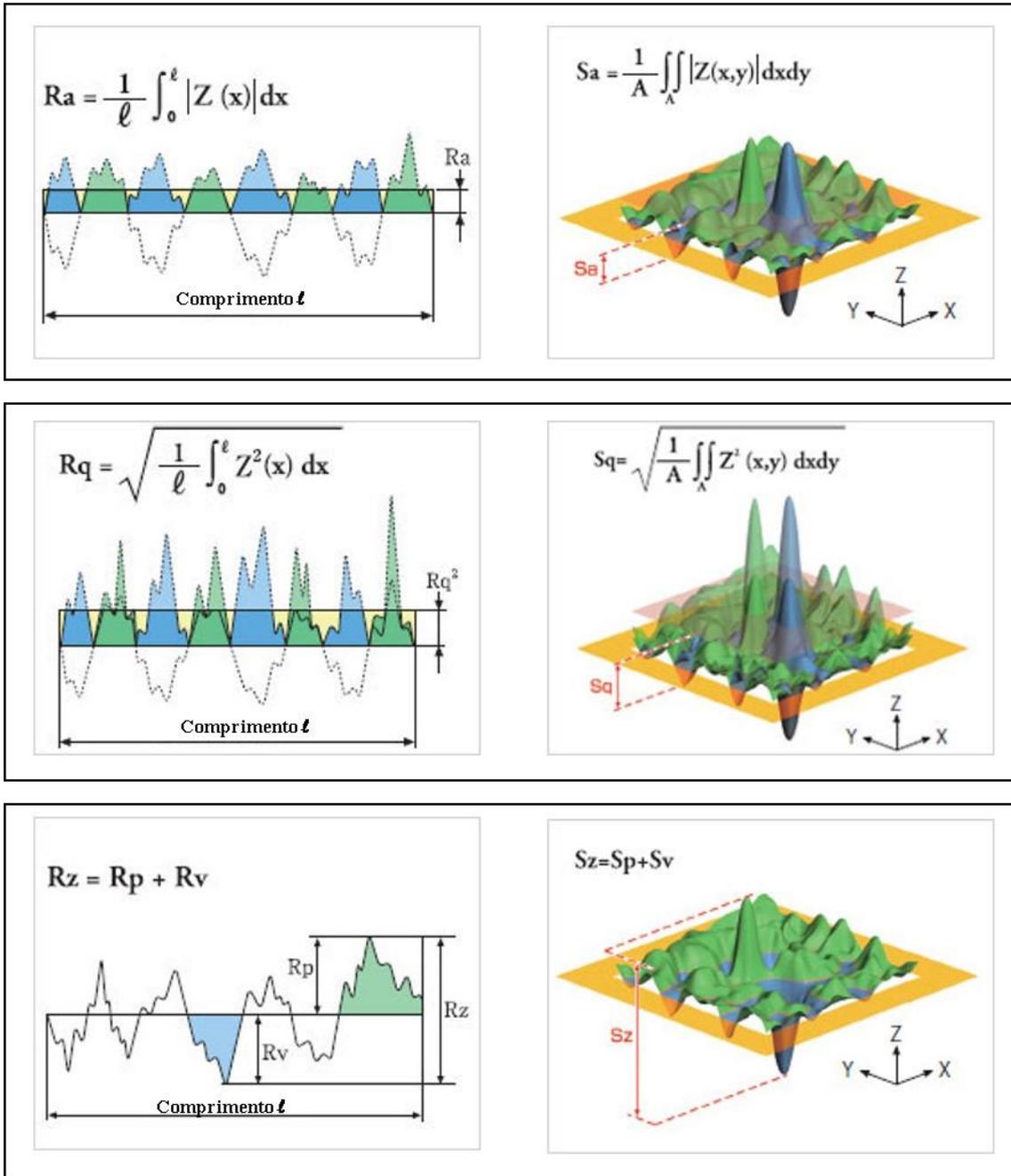
A molhabilidade das amostras foi determinada através do ângulo de contato medido pelo método da gota séssil. Uma gota de água deionizada foi depositada sobre o revestimento com o auxílio de uma seringa B-D Yale 3D. Os ensaios foram conduzidos na temperatura de 23 °C e com volume da gota de 10 µL. A gota de água depositada sobre a superfície foi fotografada e a imagem foi avaliada por meio do software SurfTens 4.5, a fim de medir o ângulo formado. O ângulo de contato é definido como o ângulo entre um plano tangente a gota do líquido e um plano contendo a superfície onde o líquido se encontra depositado. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, sendo que em cada amostra foram depositadas três gotas em diferentes pontos da superfície. Superfícies que apresentam ângulo de contato com a água menor que 90° são consideradas hidrofílicas e

as que possuem ângulo maior que  $90^\circ$  são consideradas hidrofóbicas (JUNG et al., 2006; RIOS et al., 2007).

#### 4.2.5.6 *Microscopia de força atômica (AFM)*

A análise de microscopia de força atômica (AFM) foi realizada em um microscópio de força atômica da marca SHIMADZU, modelo SPM-9500J3, operando em modo de contato, com sondas de nitreto de silício (nanossensores) e scanner com variação vertical de  $8\ \mu\text{m}$  e área de varredura de  $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ . A avaliação da rugosidade da superfície através do AFM foi realizada através de diferentes parâmetros, conforme Figura 17. Para as medidas em 2D utiliza-se o prefixo “R” e para as medidas em 3D utiliza-se o prefixo “S”, sendo que ambos se equivalem. Dentre os parâmetros avaliados, a rugosidade média aritmética ( $R_a - S_a$ ) equivale à média aritmética da região medida no diagrama 3D, em valores absolutos, quando os vales são convertidos em picos. Rugosidade média quadrática ( $R_q - S_q$ ) equivale à média quadrática média da região medida no diagrama de 3D quando os vales são convertidos em altos picos por quadratura. Rugosidade máxima ( $R_z - S_z$ ) expressa a soma do valor máximo da altura do pico ( $R_p - S_p$ ) e do valor máximo da profundidade do vale ( $R_v - S_v$ ) na superfície dentro da área medida. Realizou-se este ensaio junto ao Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**Figura 17** - Ilustração esquemática onde são definidos os parâmetros de rugosidade superficial em 2D e expandidos em 3D.



**Fonte:** Adaptado de Olympus.IMS (2016).

#### 4.2.5.7 Ensaio em câmara úmida

O ensaio de umidade saturada foi conduzido conforme a norma ASTM-D2247/11, em uma câmara fechada da marca Bass, modelo UK-01/2009. A temperatura da câmara

manteve-se em 38°C, com condutividade da água de 5  $\mu\text{S}/\text{cm}$  e umidade relativa de 100%. As amostras foram apoiadas em ângulo de aproximadamente 15° em relação à vertical.

#### 4.2.5.8 *Potencial de circuito aberto (OCP) e Polarização potenciodinâmica*

O ensaio eletroquímico de polarização potenciodinâmica foi realizado com um equipamento potenciostato/galvanostato, modelo Ivium Stat, empregando-se uma célula convencional de três eletrodos, sendo o eletrodo de referência o de calomelano saturado (ECS) e contra-eletrodo de platina. A medida foi realizada em meio não agitado, naturalmente aerado e à temperatura ambiente, o eletrólito utilizado foi NaCl na concentração de 0,05 M. O potencial de circuito aberto (OCP) foi monitorado durante a primeira hora de imersão no eletrólito antes do ensaio de polarização e antes das análises de impedância eletroquímica. Na polarização potenciodinâmica, o intervalo de varredura foi de -200 mV abaixo e 600 mV acima do OCP, com velocidade de varredura de 0,5 mV/s.

#### 4.2.5.9 *Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)*

O desempenho das amostras frente a corrosão também foi avaliado por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) em solução de NaCl 0,05 M e em leite desnatado. Os testes de EIE foram realizados em dois diferentes eletrólitos pois soluções de NaCl são comumente utilizadas por se tratarem de eletrólitos fortes, altamente condutivos, que agem como aceleradores do processo corrosivo, enquanto que o leite desnatado vem a ser o meio líquido no qual, posteriormente, pretende-se detectar a presença de bactérias.

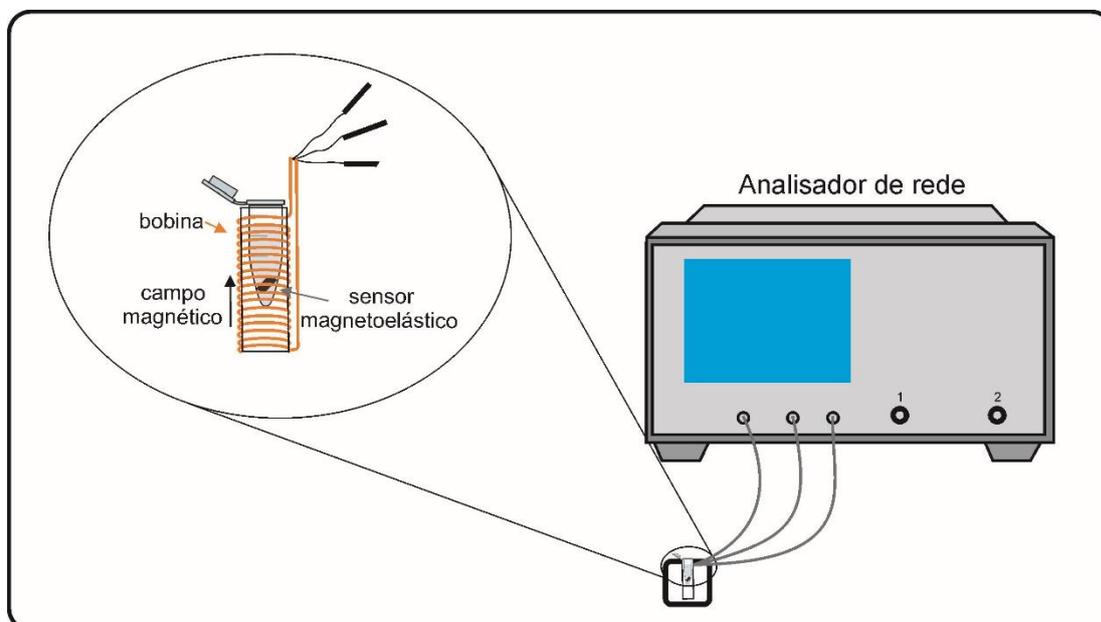
Utilizou-se um equipamento potenciostato/galvanostato, modelo Ivium Stat, e a mesma célula convencional de três eletrodos citada anteriormente. A medida foi realizada em meio não agitado, naturalmente aerado e à temperatura ambiente. Utilizou-se uma variação da frequência de 100 kHz a 10 Hz, com amplitude de 10 mV RMS. A área do eletrodo de trabalho utilizada foi de 0,5 cm<sup>2</sup>. Os ensaios foram realizados em triplicata. Após o ensaio de EIE, as amostras foram observadas por MEV-FEG para visualização da morfologia final.

Os ensaios de adesão, ângulo de contato, umidade saturada, polarização potenciodinâmica e EIE foram realizados junto ao Laboratório de Corrosão (LCOR) da Universidade de Caxias do Sul.

#### 4.2.5.10 Ensaio de variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ )

Utilizou-se o método de acompanhamento da variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) para verificar a qualidade dos revestimentos híbridos aplicados sobre o Metglas. Para esta medição utilizou-se um analisador de rede da marca Agilent E5061B, com uma bobina pick-up acoplada, com temperatura controlada de 23 °C. O sistema de aquisição através do analisador de rede é composto por apenas uma bobina (pick-up), que serve como meio de excitação e recepção de sinal proveniente do aparelho e do sensor, respectivamente, sendo que com este equipamento podemos realizar medidas através das portas ganho e fase. O limite mínimo de variação considerável deste equipamento é de 10 Hz, decorrentes de erros associados a bobina utilizada, variações na rede elétrica e outros ruídos ambientais. A Figura 18 apresenta um esquema ilustrativo de disposição do analisador de rede durante o ensaio.

**Figura 18** - Esquema do analisador de rede em operação.



Fonte: O autor

As frequências de ressonância foram medidas a cada 1 minuto durante 24 horas, sendo realizadas em triplicata, em diferentes eletrólitos (NaCl 0,05 M e leite desnatado). Após o ensaio de acompanhamento da  $\Delta f$ , as amostras foram observadas por MEV-FEG para visualização da morfologia final. Realizou-se este ensaio junto ao Laboratório de Caracterização Magnética (LCM) da Universidade de Caxias do Sul.

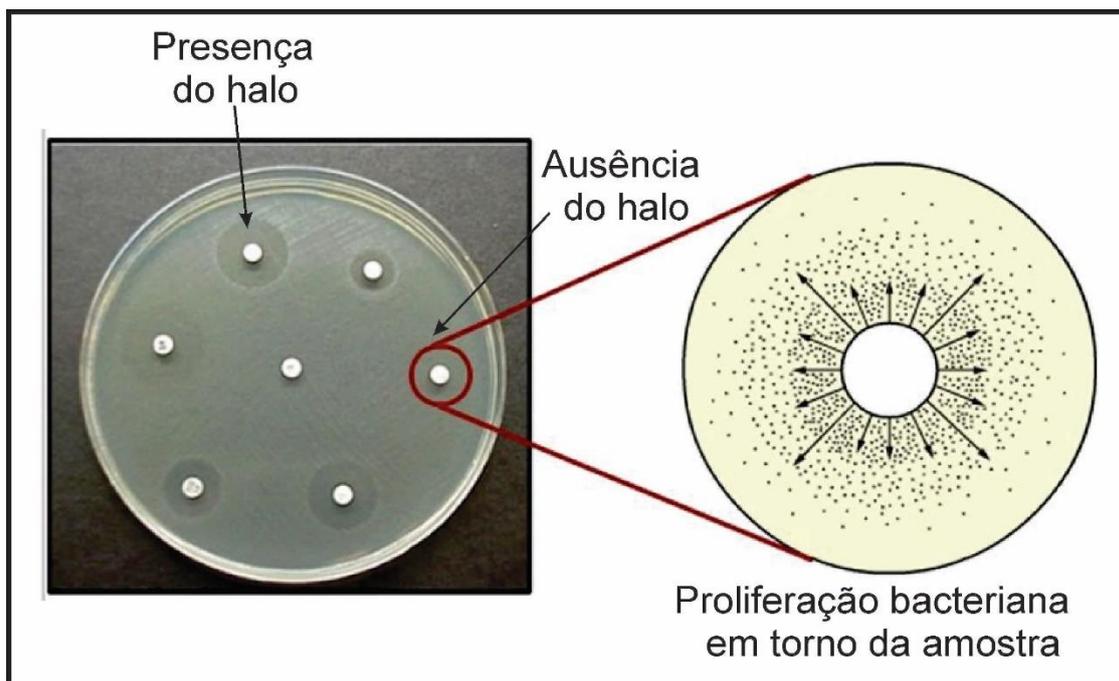
#### 4.2.5.11 Nanoindentação

O módulo de elasticidade dos revestimentos aplicados sobre o substrato MTG foi medido pela técnica de nanoindentação, por meio do nanoindentador Nano Text 600, da marca Micro Materials, com ponta Berkovich. O ensaio foi realizado a partir de um ciclo completo de 10 indentações com aplicações de 3 cargas diferentes com valores de 5, 10 e 15 mN, compreendendo em ciclos de carregamento e descarregamento. A resolução do valor da carga e do deslocamento é aproximadamente 0,01  $\mu\text{N}$  e 0,1 nm, respectivamente. Esta análise foi realizada junto ao Laboratório de Caracterização de Superfícies em Nanoescala (LACASUNE) da Universidade de Caxias do Sul.

#### 4.2.5.12 Sensibilidade microbiológica

Para o ensaio de sensibilidade microbiológica, utilizou-se cepas de bactérias *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* O6 (ATCC25922). A partir do crescimento citado anteriormente, as colônias provenientes de cultivo bacteriano foram repicadas obedecendo a escala Mac Farland ( $1 \times 10^6$  UFC/mL). As amostras a serem testadas foram colocados uma placa de Petri com LB sólido (agar) contaminado e a sensibilidade foi avaliada após 12 horas crescimento. A presença de um halo em torno da amostra indica uma zona de inibição de crescimento bacteriano. A Figura 19 apresenta uma imagem ilustrativa onde observa-se amostras distintas com e sem a presença de um halo indicando que as bactérias testadas são sensíveis a amostra.

**Figura 19** - Esquema ilustrativo do resultado de um ensaio de sensibilidade microbiológica.

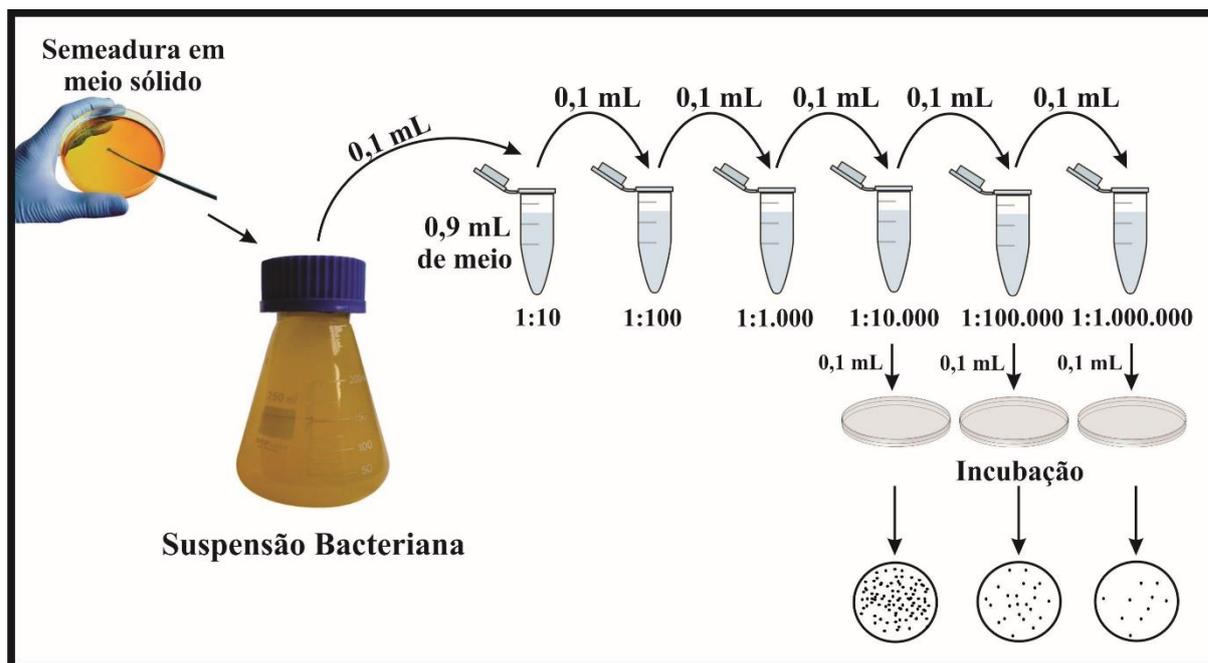


**Fonte:** O autor

#### 4.2.5.13 Ensaio de detecção de bactérias

Para os ensaios de detecção de bactérias os sensores, com dimensões de 5 x 1 x 0,03 mm, foram imersos em microtubos de reação, com 200  $\mu\text{L}$  das soluções seriadas, a fim de realizar a medição da variação da frequência de ressonância. O esquema de diluição seriada utilizado é apresentado na Figura 20. O equipamento e os parâmetros utilizados no ensaio de acompanhamento da  $\Delta f$  foram idênticos aos descritos anteriormente. As amostras foram testadas nos meios contaminados com bactérias nas concentrações de  $10^8$ ,  $10^5$  e  $10^3$  UFC/mL, sendo as concentrações confirmadas por semeadura e contagem em placas de Petry com agar. As frequências de ressonância foram medidas a cada 1 minuto durante 60 minutos, sendo realizadas em triplicata, nos diferentes meios líquidos (PBS e leite desnatado). Neste ensaio utilizou-se dois meios líquidos distintos, pois o PBS é uma solução comumente utilizada em procedimentos com cultura de células que, além de não ser tóxica, mantém a osmolaridade (pressão osmótica). O leite desnatado, por sua vez, é o objeto principal deste estudo, no qual pretende-se detectar a presença de bactérias.

**Figura 20** - Esquema de diluição seriada utilizada para os testes de detecção de bactérias.



Fonte: O autor

Após o ensaio de acompanhamento da  $\Delta f$ , as amostras foram observadas por MEV-FEG para visualização da presença de bactérias na superfície. Para isso, as amostras foram imersas em solução de glutaraldeído 3%, durante 5 minutos, a fim de promover a fixação das bactérias na amostra. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas, a fim de promover a desidratação das bactérias.

#### 4.2.5.14 Microscopia de fluorescência

Para a microscopia de fluorescência, depositou-se sobre os sensores uma gota de solução de 4' - 6 - diamidino - 2 - fenilindol (DAPI). Este composto forma complexos fluorescentes azuis com núcleos das células e por isso é utilizado comumente para realçar a estrutura das células. Após 10 minutos e em ausência de luz, os sensores foram lavados com PBS e levados para a observação em microscópio de fluorescência Olympus BX3/BX53, com filtro de excitação de 330 nm - 385 nm e filtro de emissão de 420 nm.

Os ensaios de sensibilidade microbiológica e de microscopia de fluorescência foram realizados junto ao Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA – CCBA, do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul.

## 5 Resultados e discussão

Este capítulo apresenta os resultados obtidos nesta pesquisa, acompanhados das discussões pertinentes, divididos em duas seções. Na primeira seção (5.1) serão discutidos os resultados relacionados com a obtenção e caracterização de dois diferentes revestimentos híbridos. Considerou-se o desempenho protetivo destes revestimentos híbridos, baseados especialmente no comportamento eletroquímico, como fator determinante na escolha do mais eficiente. Na segunda seção (5.2), serão discutidos os resultados obtidos para o revestimento híbrido previamente selecionado quando aplicado sobre a liga Metglas, visando a utilização como sensor para detecção de bactérias em diferentes meios líquidos.

### 5.1 Caracterização das propriedades dos sols e dos revestimentos híbridos

#### 5.1.1 Caracterização físico-química

A Tabela 4 apresenta os valores de viscosidade e pH dos sols após 24 horas de hidrólise. Segundo Teixeira (2005), a viscosidade é a medida da resistência de um fluido ao escoamento e se a viscosidade do fluido for pequena ou a área do objeto for grande, o fluido fluirá com velocidade uniforme, enquanto que, se a viscosidade do fluido for alta, a velocidade de escoamento pode variar. Logo, no processo de obtenção de revestimentos por *dip coating*, a viscosidade do sol (fluido) é um parâmetro importante, uma vez que ela influencia diretamente na formação do revestimento.

Para os sols TEOS-MAP e BTSE estudados (Tabela 4), considerando-se os desvios padrão, as diferenças entre os valores de viscosidade não são significativas. Estes resultados eram esperados, tendo em vista a baixa viscosidade dos precursores alcóxidos puros ( $> 1.0$  cP) e o alto teor de água e álcool presentes no sol.

**Tabela 4** - Viscosidade e pH de cada sol após 24 horas de hidrólise.

Sol	Viscosidade (cP)	pH
TEOS-MAP	$2,6 \pm 0,1$	3,0
BTSE	$2,5 \pm 0,1$	2,8

Para soluções à base de precursores alcóxidos, baixas viscosidades estão relacionadas à pHs ácidos. Iijima et al. (2007) em seu estudo com sols à base de silanos, observou que a viscosidade está diretamente ligada à concentração de silano e ao pH da solução, concluindo que numa mesma concentração de silano, a viscosidade aumenta em pH básico e diminui em pH ácido.

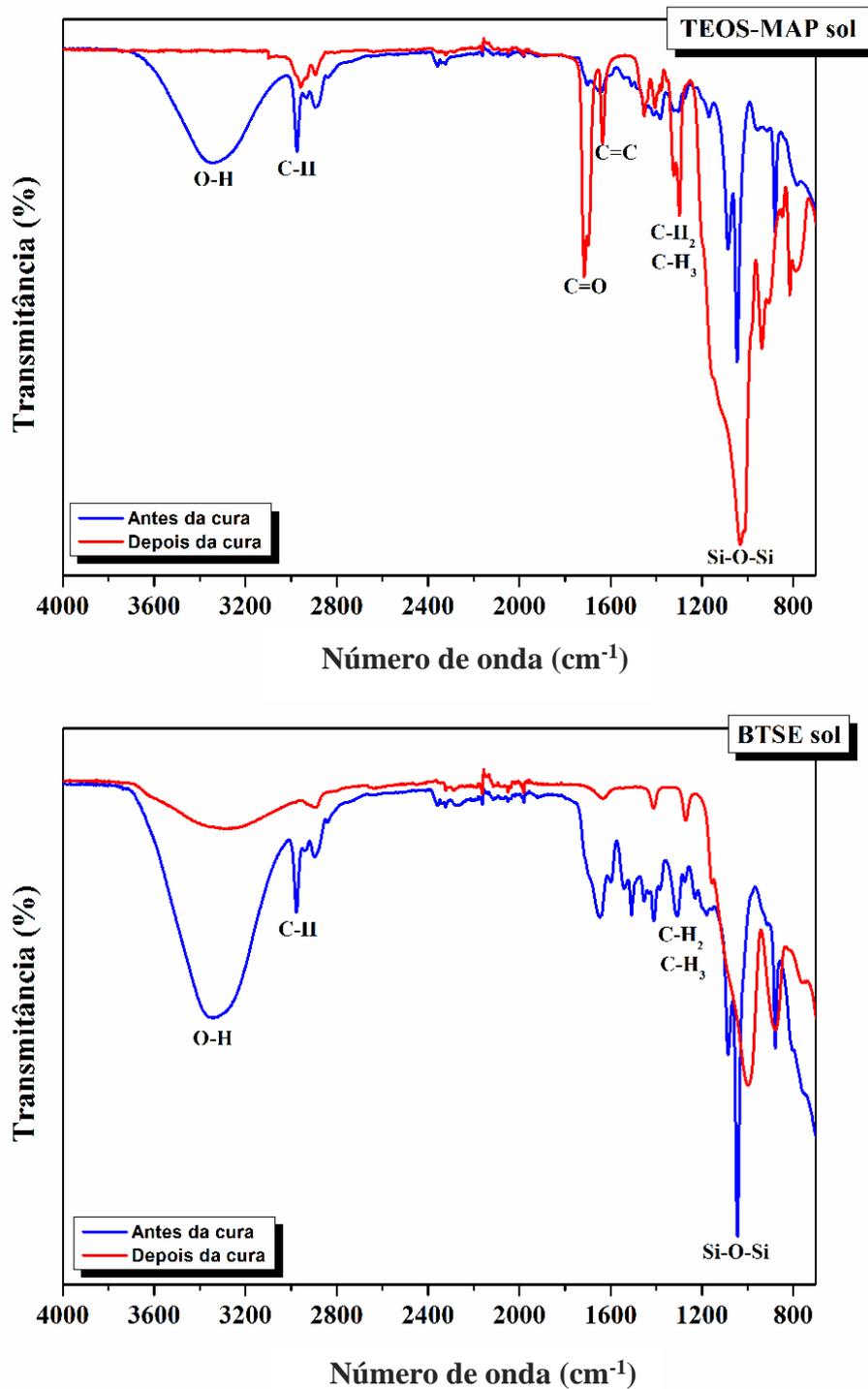
De acordo com Pan et al. (2006), as taxas de hidrólise e de condensação são dependentes do pH, de modo que o tempo de hidrólise ótimo é, na verdade, controlado pelo pH. Sob condições ácidas, ocorre uma hidrólise rápida, seguida por uma condensação lenta. Logo, com uma solução ácida é mais estável e mais fácil de se obter revestimentos uniformes. Vários autores, como Sakai et al. (2012), Xue et al. (2013) e Kunst et al. (2015) relatam em suas pesquisas a importância de sols com caráter ácido, a fim de promover a formação de revestimentos homogêneos e compactos.

### **5.1.2 Caracterização química**

A Figura 21 apresenta o resultado da análise de FTIR para as amostras dos sols TEOS-MAP e BTSE após 24 horas de hidrólise (antes da cura) e dos revestimentos após a cura em estufa (depois da cura). Observa-se que, para ambas as amostras, houve uma diminuição da banda entre 3200 e 3700  $\text{cm}^{-1}$ , referente a deformação axial das ligações O-H. Este resultado indica que os solventes (água e álcool) foram removidos, atestando a cura completa do revestimento. Contudo, para a amostra do sol BTSE, observa-se uma banda remanescente nesta faixa de comprimento de onda. Isto se deve as ligações OH dos grupos Si-O-H, presentes em grande quantidade, devido ao BTSE ser um bis-silano.

Observa-se uma diminuição da banda entre 2900 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao alongamento simétrico e assimétrico das ligações C-H, C-H<sub>2</sub> e C-H<sub>3</sub>. Para o sol TEOS-MAP, durante a reação, as ligações C-H do MAP são quebradas, promovendo formação e a liberação de metanol. Para o sol TEOS-MAP, após a cura, observa-se um aumento nas bandas 1720  $\text{cm}^{-1}$  e 1620  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao alongamento das ligações C=O e C=C, respectivamente.

**Figura 21** - FTIR dos sols TEOS-MAP e BTSE antes da cura (após 24 horas de hidrólise) e depois da cura (após a cura em estufa).



Após a cura de ambos os sols, observa-se a diminuição das bandas entre 1300 e 1400  $\text{cm}^{-1}$ , referente as deformações angulares das ligações C-H<sub>2</sub> e C-H<sub>3</sub>. Estes resultados indicam que o processo de cura eliminou os voláteis orgânicos (álcoois) inicialmente

presentes nos sols. Além disso, observa-se também um aumento nas bandas entre 1000 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  referente as ligações Si-O-Si. Sabe-se que durante a hidrólise ocorre a conversão de grupos silanóis (Si-O-C) em grupos siloxanos (Si-O-Si) e a reticulação do revestimento (WANG et al., 2009). Logo, este resultado indica que a hidrólise, condensação e cura do dos revestimentos promoveu a reticulação da rede (ligações covalentes e cruzadas).

Todas as bandas observadas estão de acordo com outros estudos encontrados na literatura (OOIJ et al., 1999; OOIJ et al., 2005; GUI-LONG et al. 2011; ANUSAVICE et al., 2013).

### 5.1.3 Caracterização térmica

A Figura 22 (a) apresenta os termogramas obtidos por TGA o sol TEOS-MAP após 24 horas de hidrólise e do revestimento TEOS-MAP após a cura em estufa.

Para o sol TEOS-MAP após 24 horas de hidrólise (Figura 22.a) observa-se dois estágios de degradação. O primeiro estágio se inicia em 30°C e finaliza em 80 °C e está associado à evaporação dos solventes presentes no sol (água e álcool). O resíduo deste primeiro evento equivale à 20% em massa, equivalente aos precursores alcóxidos utilizados neste sol. O segundo estágio de degradação se inicia em 350 °C e finaliza em 400 °C. Este evento está relacionado à quebra das ligações da cadeia principal formada pelos precursores alcóxidos devido à ação térmica, conforme foi reportado por alguns autores como Hammer et al. (2012).

A degradação térmica do revestimento TEOS-MAP foi comprovando analisando-se o revestimento, por meio da análise de FTIR, após permanecer por 1 hora em isoterma de 350 °C em TGA (Figura 23). Observa-se que a ação térmica promoveu a degradação das fases orgânicas, uma vez que não se observam os picos referentes às ligações C-H, C-H<sub>2</sub> e C-H<sub>3</sub> (2900 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ ), C=C (1620  $\text{cm}^{-1}$ ) e C-H<sub>2</sub> e C-H<sub>3</sub> (1300 e 1400  $\text{cm}^{-1}$ ), além da diminuição do pico referente à ligação C=C (1720  $\text{cm}^{-1}$ ). Estes resultados indicaram que as espécies orgânicas são mais sensíveis à ação térmica e que a rede inorgânica é mais estável termicamente, uma vez que as ligações Si-O-Si ainda estão presentes no revestimento.

Figura 22 - Termogramas das amostras de (a) TEOS-MAP e (b) BTSE.

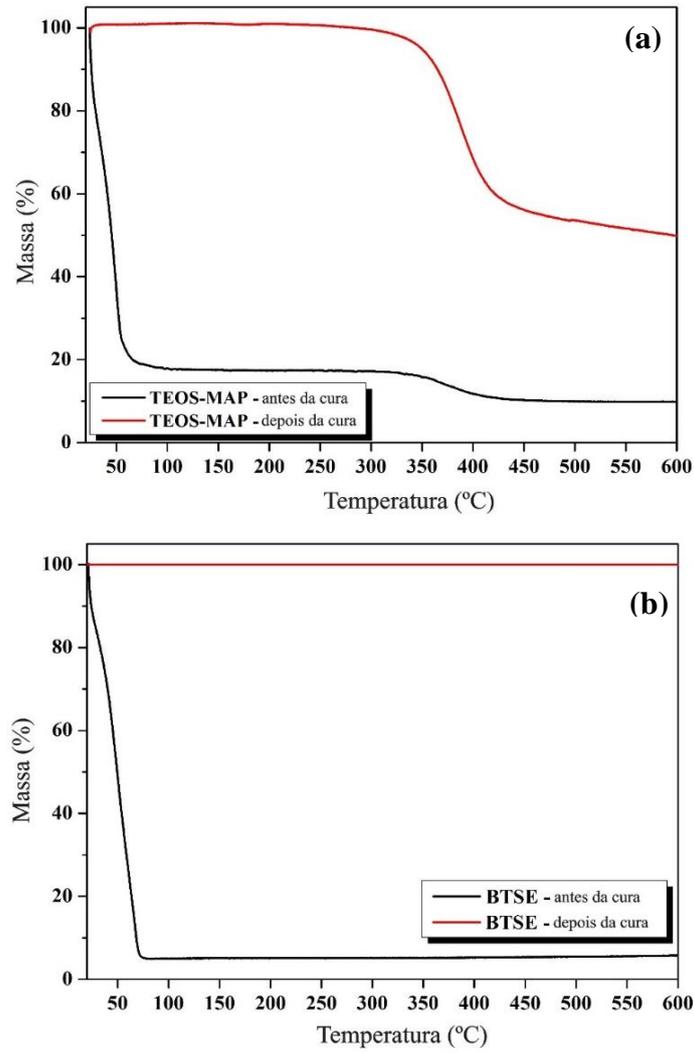
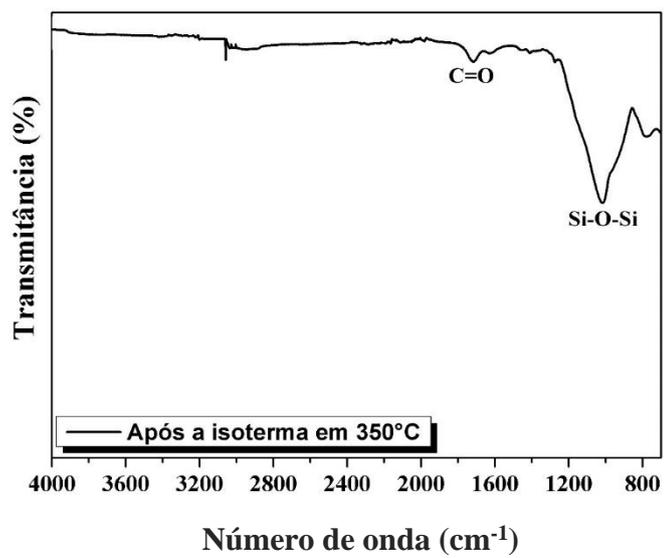


Figura 23 - FTIR do revestimento TEOS-MAP após permanecer 1 hora em isoterma de 350°C.



Para o revestimento TEOS-MAP após a cura em estufa, por 60 minutos à temperatura de 90 °C, verificou-se apenas um estágio de degradação térmica, com início em torno dos 310 °C e término em 440 °C, com temperatura de degradação máxima em torno de 390 °C. Não se observou eventos de perda de massa em temperaturas em torno de 90 °C, indicando que após a cura do revestimento não é observada a presença de solvente. Este resultado demonstra que a temperatura de 90 °C e tempo de 60 minutos empregados para cura deste sol, garantiram a completa remoção dos solventes, sem danificar ou degradar a rede formada pela reação dos precursores TEOS-MAP.

A Figura 22 (b) apresenta os termogramas obtidos para o sol BTSE após 24 horas de hidrólise e do revestimento BTSE após a cura em estufa. Para o sol de BTSE após 24 horas de hidrólise observa-se apenas um estágio de degradação, com início em 30 °C e finaliza em 80 °C, indicando a evaporação dos solventes presentes no sol (água e álcool). Considerando-se a formulação do sol de BTSE, observa-se que após a evaporação dos solventes, resta cerca de 5% do sol, referente ao BTSE hidrolisado.

Para o revestimento BTSE após a cura em estufa, por 60 minutos à temperatura de 120 °C, não foram observados estágios de degradação térmica para esta amostra. Este resultado comprova que o processo de cura empregado assegura uma completa eliminação dos solventes do revestimento e garante a sua integridade à temperaturas inferiores a 600 °C.

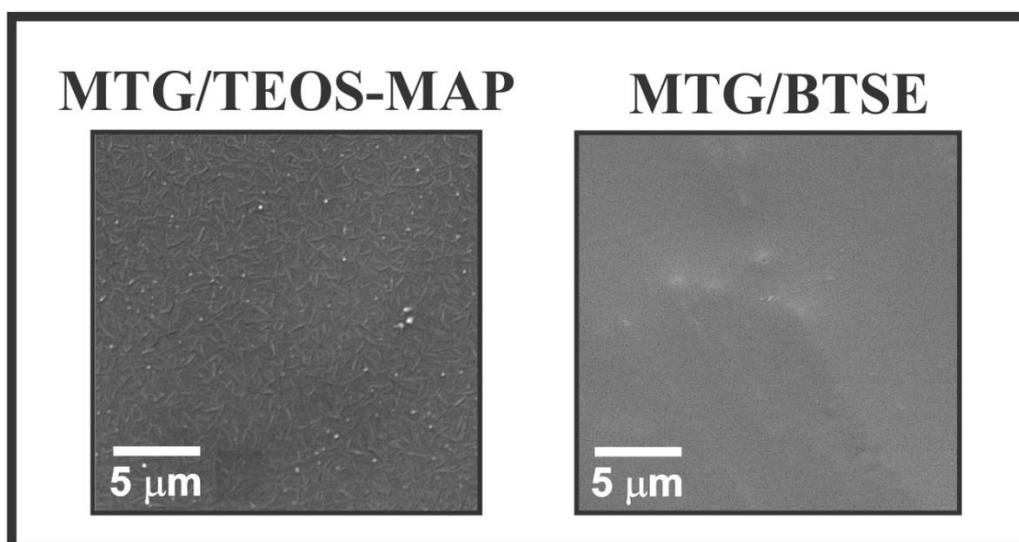
Comparando-se os revestimentos estudados, observa-se que o revestimento BTSE após a cura apresenta uma estabilidade térmica em uma faixa de temperatura maior do que o revestimento TEOS-MAP. Isso se deve as ligações orgânica-inorgânicas fortes presentes na rede reticulada do revestimento de BTSE que garante uma interação molecular mais resistente à ação térmica, quando compara a rede formada pelo sistema TEOS-MAP. O revestimento TEOS-MAP, apresenta ligações duplas entre a fase orgânica do MAP e a inorgânica do TEOS. Estas ligações são menos estáveis e facilmente quebradas pelo efeito térmico (ANUSAVICE et al., 2013).

#### **5.1.4 Caracterização morfológica**

A Figura 24 apresenta as micrografias de topo obtidas por FEG-SEM da superfície das amostras estudadas. Para a amostra MTG/TEOS-MAP observa-se um revestimento

regular, homogêneo e sem fissuras aparentes. Para a amostra MTG/BTSE também se observou um revestimento homogêneo, com cobertura regular e sem fissuras. A obtenção de revestimentos uniformes e com recobrimento regular e homogêneo era esperada devido à combinação da baixa viscosidade e do pH ácido dos sols (Tabela 4). O pH ácido favorece as reações de hidrólise dos sols, o que proporciona a formação de uma rede reticulada, sem poros e fissuras. Já os baixos valores de viscosidade (Tabela 4) garantem o escoamento do sol de forma uniforme por toda a superfície da amostra, propiciando um recobrimento completo.

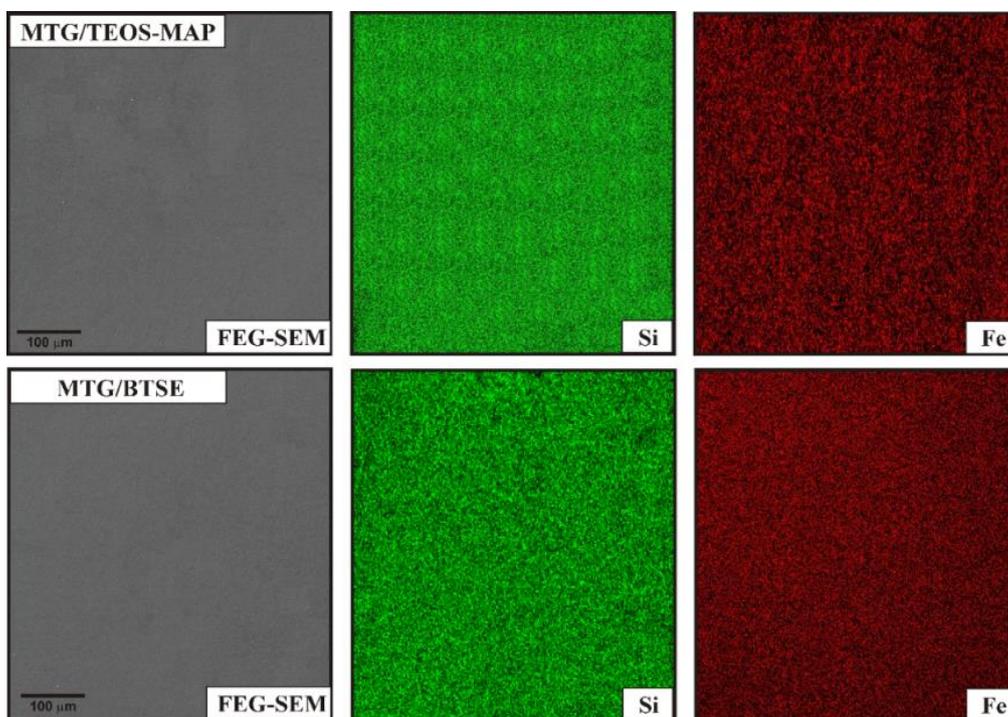
**Figura 24** - Micrografias obtidas por MEV-FEG da superfície das amostras estudadas.



Pelo mapeamento por EDS (Figura 25) observou-se a presença de Si distribuído uniformemente por toda a superfície das amostras, indicando que os revestimentos são homogêneos e regulares, e confirmando o completo recobrimento do substrato, conforme observado por MEV-FEG (Figura 24). A alta intensidade do sinal do elemento ferro (Fe) na varredura do EDS indica que os revestimentos possuem baixa espessura, permitindo que feixe de elétrons os ultrapasse e detecte também os elementos presentes no substrato MTG, considerando-se os parâmetros empregados para esta análise de EDS.

Além disso, é possível observar a textura (topografia e rugosidade) da fita MTG abaixo do revestimento TEOS-MAP, onde a variação do sinal do elemento silício (Si) corresponde aos vales presentes na superfície da fita.

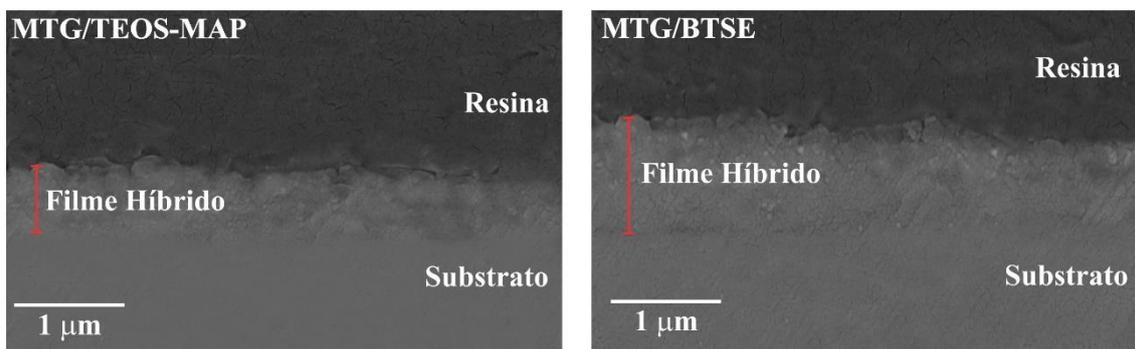
**Figura 25** - Mapeamento por EDS da superfície das amostras com os revestimentos estudados, identificando o sinal dos elementos silício (Si) e ferro (Fe).



A Figura 26 apresenta as micrografias de seção transversal das amostras estudadas a fim de determinar a espessura de camada dos revestimentos obtidos. A espessura média apresentada pelo do revestimento TEOS-MAP é de  $0,9 \mu\text{m}$  ( $\pm 0,1 \mu\text{m}$ ), enquanto que observa-se para o revestimento BTSE observou-se uma espessura média de  $1,7 \mu\text{m}$  ( $\pm 0,2 \mu\text{m}$ ).

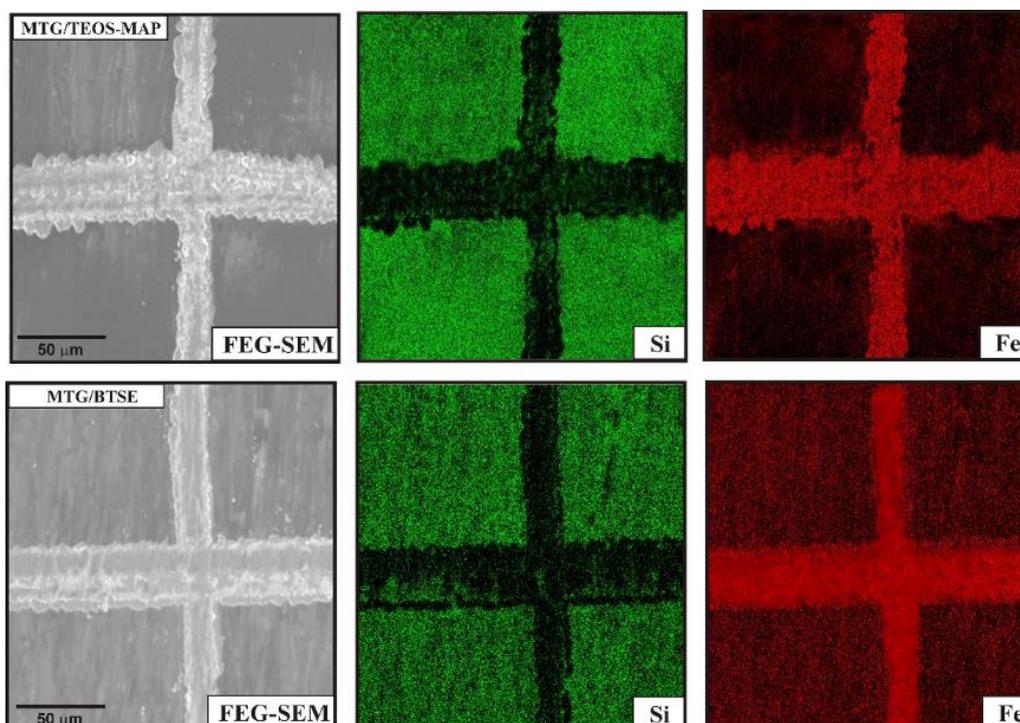
Logo, a formação e a espessura da camada do revestimento estão diretamente ligadas à viscosidade do sol produzido com os precursores alcóxidos. O sol TEOS/MAP apresentou menor valor de viscosidade dentre as amostras estudadas (Tabela 4). Sabe-se que quanto menor a viscosidade de um fluido mais uniformemente ele escoará pela superfície de um objeto. Logo, esta alta mobilidade do sol promoveu a formação de uma camada com baixa espessura, porém regular e uniforme, conforme observado na Figura 24.

**Figura 26** - Micrografias obtidas por MEV-FEG da seção transversal das amostras estudadas



Após o ensaio de adesão, observa-se que para ambas as amostras (MTG/TEOS-MAP e MTG/BTSE) (Figura 27), o revestimento foi arrancado apenas na região da incisão, permanecendo aderido ao substrato nas demais regiões. Isto é evidenciado pela alta intensidade do sinal de Si no mapeamento de EDS.

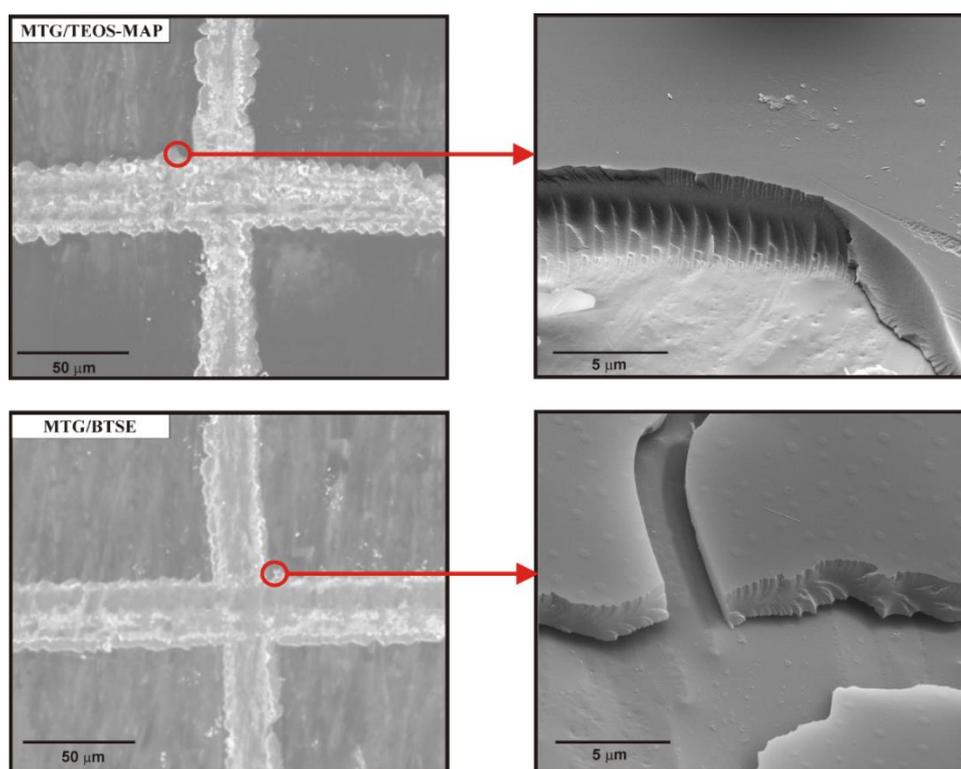
**Figura 27** – Imagens obtidas por MEV-FEG e mapeamento por EDS da superfície das amostras com revestimento após o ensaio de adesão, identificando o sinal dos elementos silício (Si) e ferro (Fe).



Observou-se também, com maior ampliação, as regiões próximas da incisão das amostras após o teste de adesão (Figura 28). O revestimento da amostra MTG/TEOS-MAP apresentou-se aderido ao substrato MTG após o ensaio de adesão. Observa-se que houve arrancamento apenas na região da incisão, sem causar danos ao restante do revestimento. Este resultado indica que o revestimento TEOS-MAP apresentou força adesiva (interação entre o revestimento e a superfície do substrato) e força coesiva (interação intermolecular do revestimento).

Por outro lado, o revestimento da amostra MTG/BTSE apresentou arrancamento nas regiões de incisão, quebrando-se e perdendo a adesão ao substrato (Figura 28). Estes resultados indicam que o revestimento BTSE apresentou forças adesiva e coesiva insuficientes para manter o revestimento aderido ao substrato.

**Figura 28** – Micrografias obtidas por MEV-FEG das amostras após o ensaio de adesão com ampliação na região da incisão.



A Tabela 5 apresenta os valores médios do ângulo de contato, obtidas pelo método da gota séssil, para as amostras estudadas. Avaliando-se os resultados pode-se afirmar que todas as amostras recobertas com revestimento híbrido possuem uma superfície

hidrofílica, com ângulo de contato inferior a 90°. A diminuição da molhabilidade da superfície proporcionada pelos revestimentos híbridos tende a contribuir para a diminuição da reatividade química da superfície e, conseqüentemente, aumentar a resistência à corrosão destas amostras, quando comparadas ao substrato MTG.

**Tabela 5** - Valores de ângulo de contato entre a água e a superfície das amostras estudadas.

<b>Amostra</b>	<b>Ângulo de Contato (°)</b>
MTG	61 ± 3
MTG/TEOS-MAP	88 ± 4
MTG/BTSE	80 ± 3

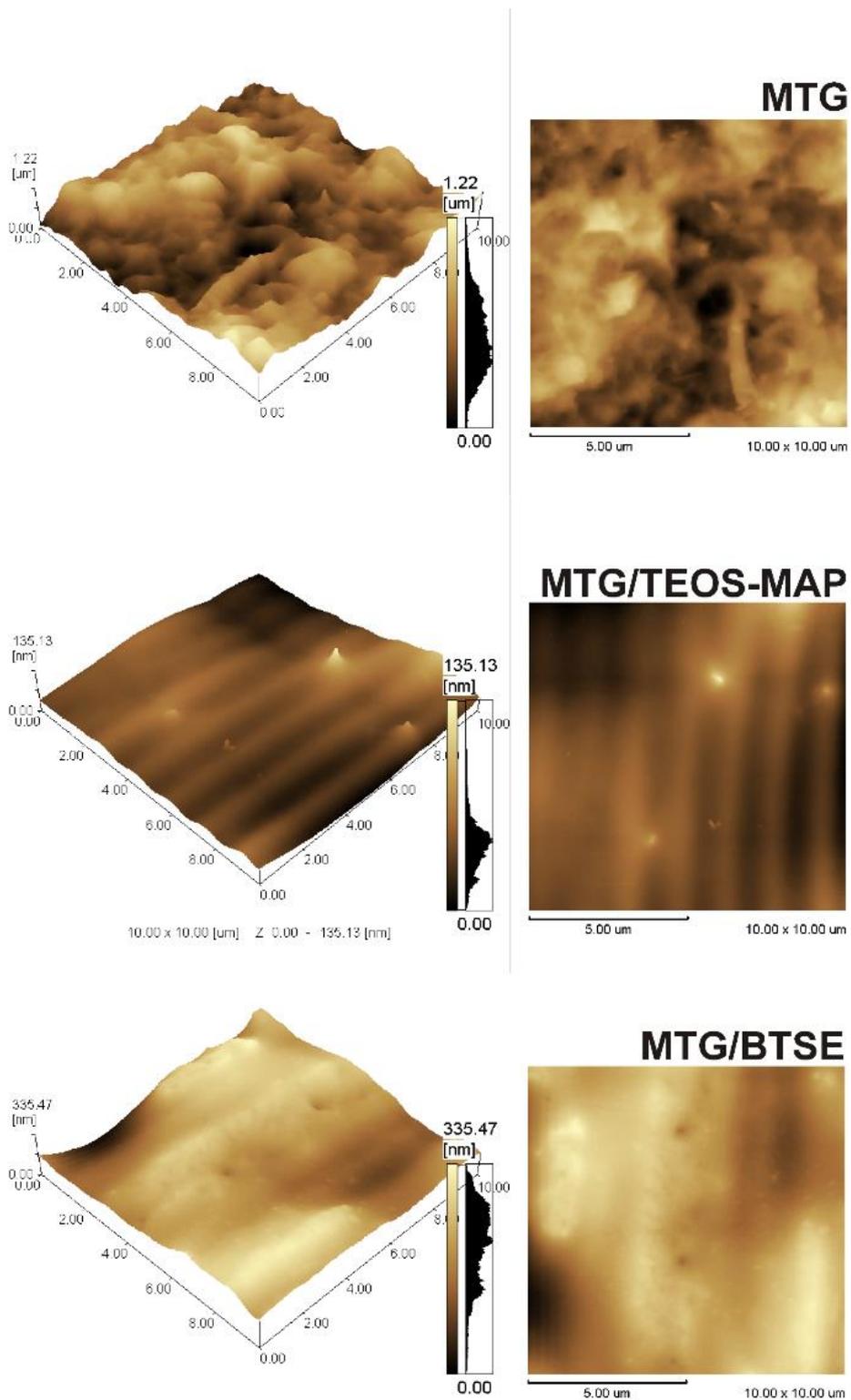
Conforme observado por FTIR (Figura 21), após o processo de cura ocorre a diminuição da presença de grupos hidrofílicos (Si-O-H), e conseqüentemente, o aumento das ligações Si-O-Si reticuladas, que possuem caráter hidrofóbico.

O estudo da topografia das amostras foi realizado a partir dos resultados da análise de AFM (Figura 29 e Tabela 6). Observa-se que a amostra MTG possui uma superfície mais irregular e rugosa do que as demais amostras. A diminuição importante do parâmetro Rz para as amostras revestidas, quando comparadas a amostra MTG, evidencia o caráter nivelador dos revestimentos aplicados.

**Tabela 6** - Valores de rugosidade médias obtidos pela análise de AFM.

<b>Amostra</b>	<b>Rugosidade média (nm)</b>		
	<b>Ra</b>	<b>Rq</b>	<b>Rz</b>
MTG	273 ± 4	290 ± 2	920 ± 10
MTG/TEOS-MAP	140 ± 2	149 ± 4	176 ± 10
MTG/BTSE	171 ± 3	193 ± 3	335 ± 10

**Figura 29** - Imagens 3D e 2D obtidas por AFM da superfície das amostras estudadas.



É possível observar para ambas amostras regiões com contrastes mais acentuados, onde as regiões brilhantes e escuras indicam variações de espessura. Longhi et al. (2015) também observaram regiões escuras na análise de AFM dos revestimentos de TEOS e MAP. Os autores associaram este comportamento às diferenças de concentrações e irregularidade do revestimento.

O parâmetro Rq evidencia a presença de picos e vales presentes na superfície. Se uma determinada superfície tiver um perfil com desvios muito pouco significativos os valores de Rq e de Ra tendem a ser similares. Na Tabela 6 observa-se que, para todas as amostras estudadas, os valores de Ra e Rq são muito próximos, indicando que a superfície apresenta poucos defeitos topográficos.

Contudo, a amostra MTG/BTSE apresentou um valor maior de Rz, quando comparada a amostra MTG/TEOS-MAP, associado a superfície irregular do revestimento BTSE, conforme mostrado na Figura 24.

#### **5.1.5 Caracterização quanto a resistência à corrosão**

A utilização dos sistemas estudados como plataforma para o desenvolvimento de biossensores de carregamento requer que estes revestimentos estudados sejam eficientes na proteção contra a corrosão da liga magnetoelástica Metglas. Para avaliar o desempenho dos revestimentos em condição de ensaio acelerado, realizou-se o ensaio de câmara úmida. A Figura 30 apresenta as imagens obtidas por fotografia e por microscopia ótica das amostras após 24 e 164 horas de exposição à umidade saturada.

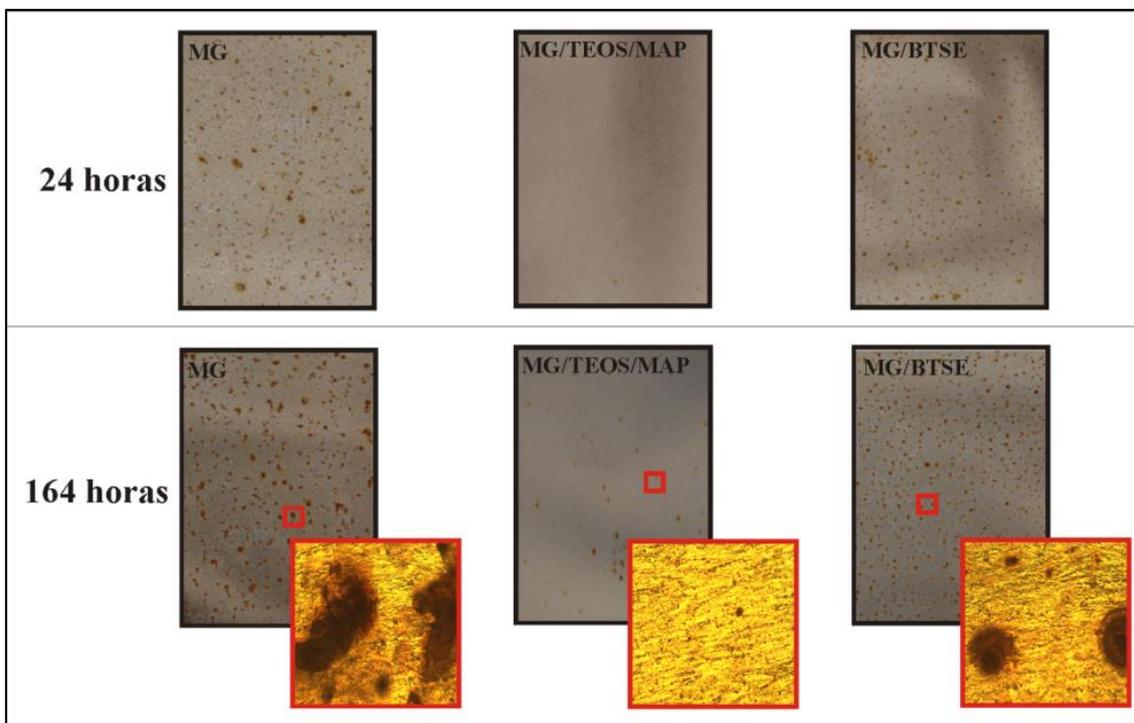
Observa-se que a amostra MTG apresentou corrosão em toda sua superfície logo após 24 horas de exposição (Figura 30). Ao longo do ensaio, observou-se corrosão localizada acentuada e produto de corrosão em toda superfície.

A amostra MTG/TEOS-MAP apresentou o melhor resultado frente à exposição à umidade saturada (Figura 30). Com 24 horas de ensaio, não foi evidenciada a presença de corrosão. Ao final do ensaio é possível observar pequenos pontos de corrosão aleatórios pela superfície. Este resultado demonstra que este revestimento atua eficazmente como barreira entre o substrato e o meio, devido a sua homogeneidade, regularidade e boa adesão.

A amostra MTG/BTSE apresentou, a partir de 24 horas de ensaio, uma grande quantidade de pequenos pontos de corrosão distribuídos por toda a superfície (Figura 30).

Estes resultados indicam que este revestimento é suscetível e permeável à umidade, permitindo que as moléculas de água atinjam o substrato e promovam o ataque corrosivo, desempenhando um fraco efeito barreira.

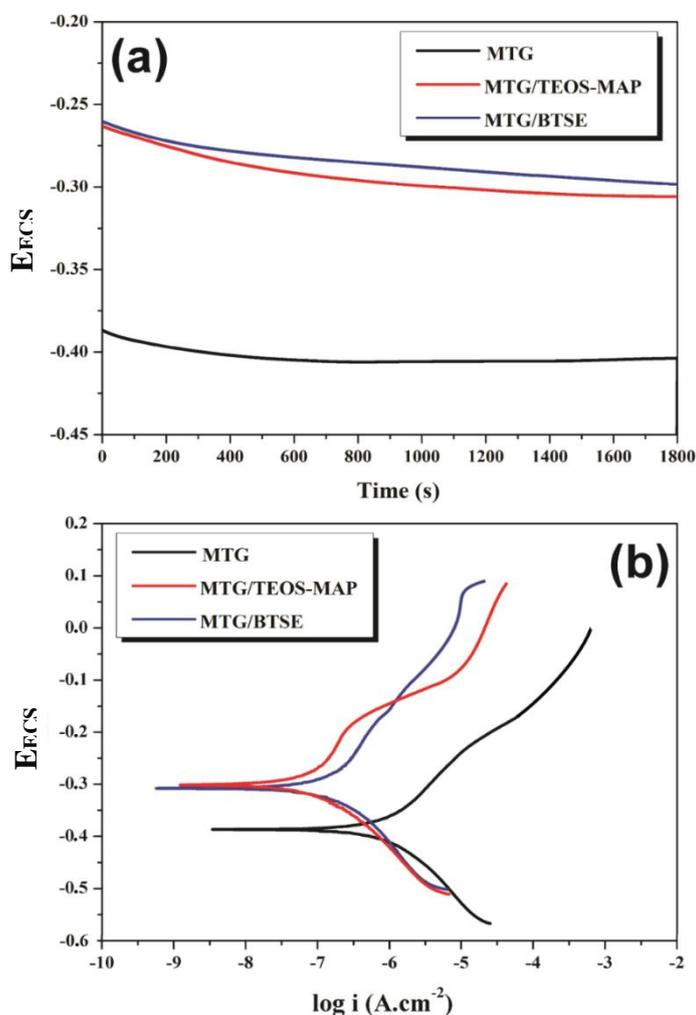
**Figura 30** - Imagens obtidas das amostras após 24 e 164 horas de exposição em câmara úmida.



Além disso, ensaios eletroquímicos foram realizados a fim de avaliar o efeito protetivo dos revestimentos estudados. Analisando-se os resultados de OCP (Figura 31-a), observa-se que ambas amostras MTG/TEOS-MAP e MTG/BTES apresentaram um potencial inicial menos ativo que a amostra MTG.

A amostra MTG apresentou um potencial final em torno de - 0,40 V (ECS), enquanto que para as amostras com revestimento MTG/TEOS-MAP e MTG/BTES o potencial final permaneceu mais elevado, em torno de - 0,30 V (ECS). Estes resultados indicam que os revestimentos podem atuar como barreira física entre o substrato e o eletrólito.

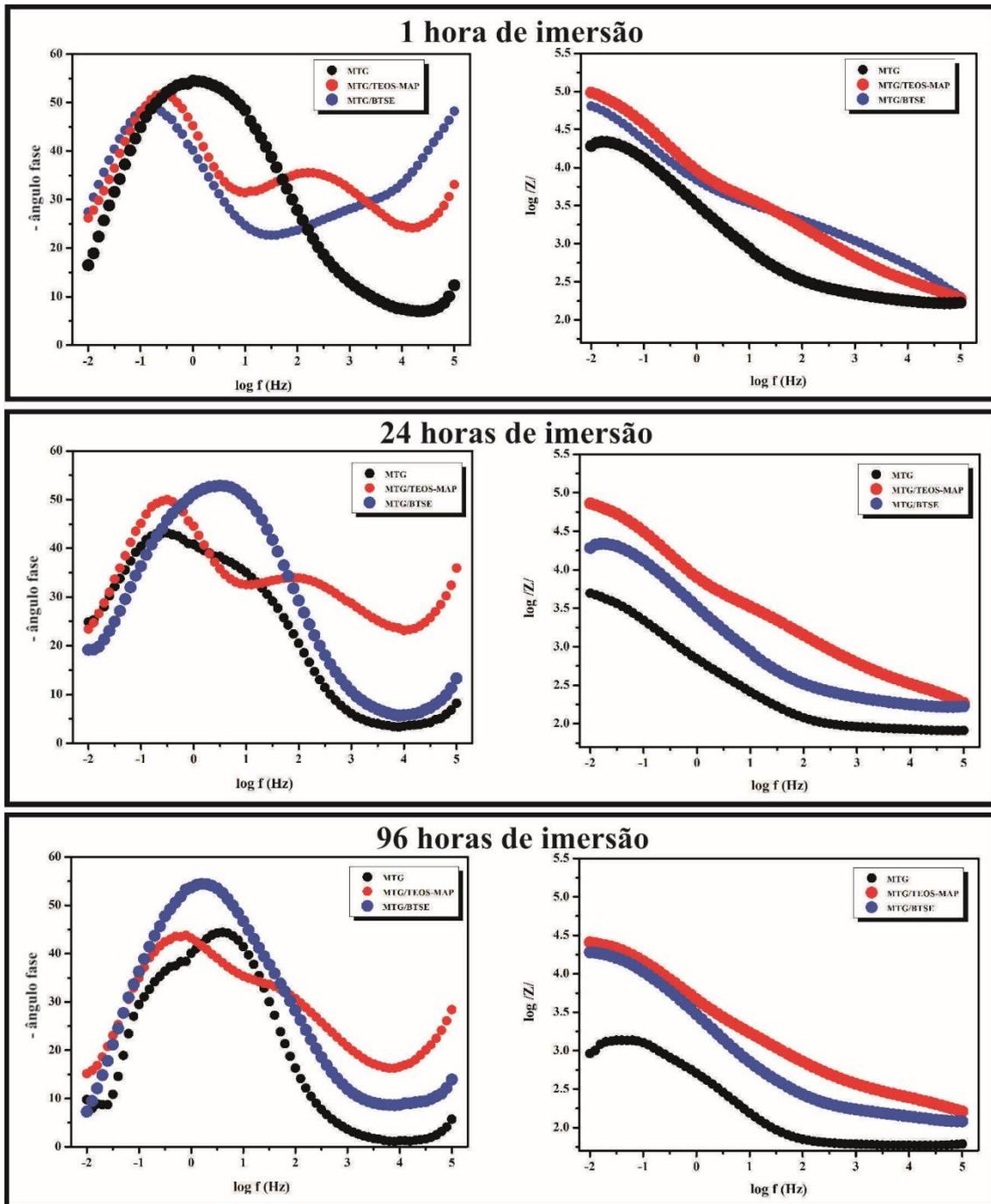
**Figura 31** - Monitoramento de OCP (a) e curvas de polarização potenciodinâmicas (b) para as amostras estudadas em solução de NaCl 0,05M.



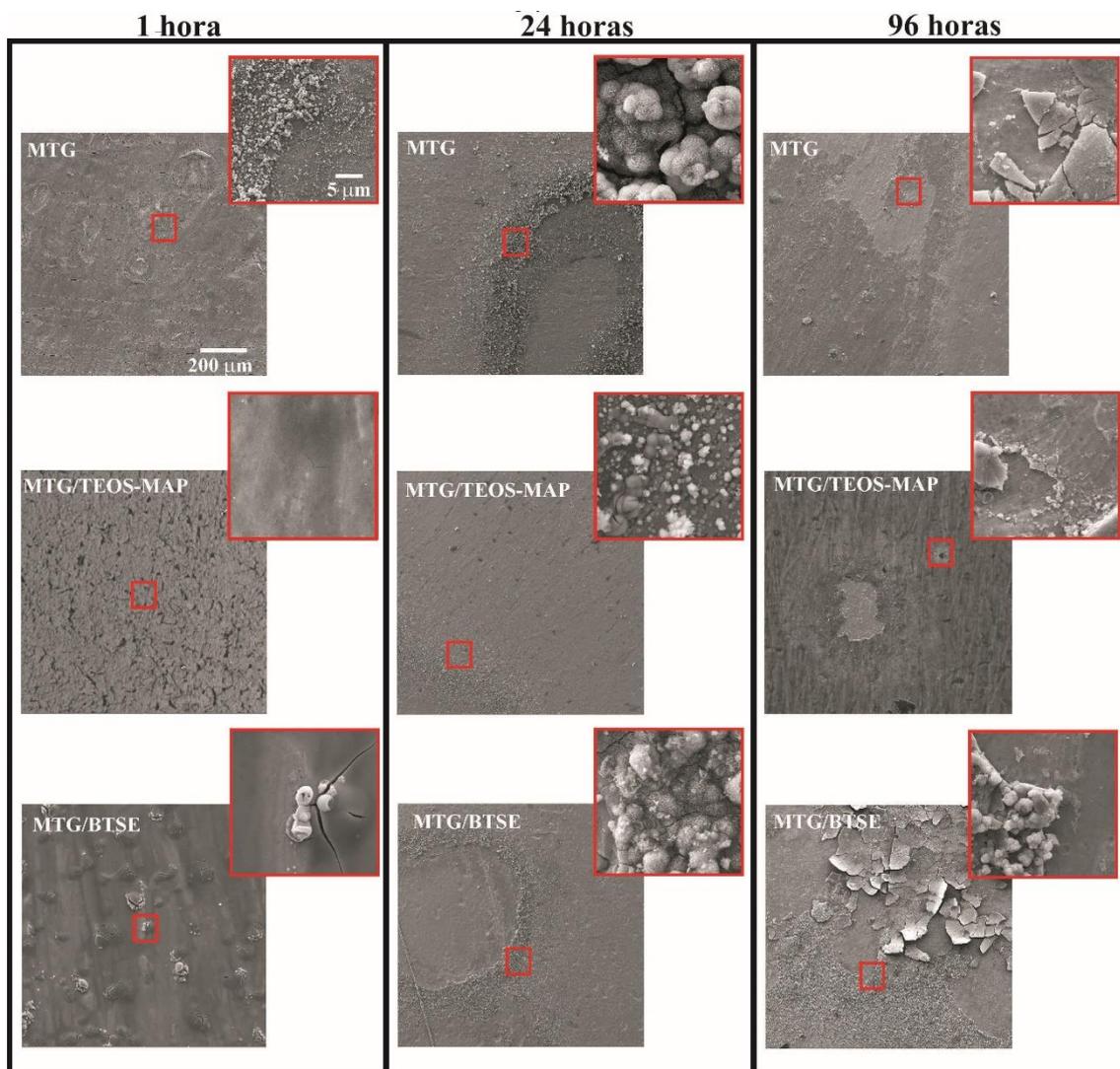
A partir das curvas de polarização (Figura 31-b) é possível observar que a presença dos filmes nas amostras MTG/TEOS-MAP e MTG/BTES promoveu uma elevação no valor do potencial de corrosão e uma diminuição nas densidades de corrente nas regiões anódicas e catódicas, comparativamente à amostra MTG. Estes resultados indicam que os filmes estudados tendem a proteger o substrato de MTG contra a corrosão.

A evolução do comportamento eletroquímico, em solução de NaCl 0,05 M, foi acompanhada por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Os diagramas de Bode para 1, 24 e 96 horas de imersão são apresentados na Figura 32 e na Figura 33 apresenta-se as imagens obtidas por MEV-FEG para as mesmas amostras após o ensaio de EIE.

**Figura 32** - Diagramas de Bode para as amostras estudadas após 1, 24 e 96 horas de imersão em solução de 0,05 M NaCl.



**Figura 33** - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1, 24 e 96 horas de imersão em solução de NaCl 0,05 M no ensaio de EIE.



No diagrama de Bode (Figura 32), para o substrato MTG após 1 hora de imersão, observa-se dois fenômenos acoplados em média e baixa frequências ( $-1 < \log f < 2$  Hz) com ângulo  $\theta$  em torno de  $55^\circ$ . Este resultado pode estar relacionado à permeação do eletrólito através da fina camada de óxido presente na superfície do metal. A ação do eletrólito sobre esta fina camada de óxido provoca a permeação do eletrólito e o início do processo de corrosão do metal. Pelas micrografias das amostras MTG após 1 hora de imersão (Figura 33) pode-se observar a presença de produtos de corrosão na superfície desta amostra.

Após 24 e 96 horas de imersão (Figura 32) pode-se observar a existência dos dois fenômenos acoplados em média e baixa frequências, porém, com a diminuição do valor do ângulo  $\theta$  para aproximadamente  $45^\circ$ . Além disso, com o aumento do tempo de imersão, observa-se nos diagramas de Bode referentes ao  $\log |z|$  (Figura 32), uma diminuição no valor da impedância total, indicando o avanço do processo de corrosão na superfície do metal.

Por meio das micrografias (Figura 33), observa-se claramente o avanço da corrosão sobre a superfície do metal (MTG) com o aumento do tempo de imersão. Após 24 horas de imersão observa-se a presença de produto de corrosão por praticamente toda a superfície da amostra. O produto de corrosão formado é irregular e poroso e, conseqüentemente, altamente permeável.

Estes resultados corroboram com os resultados observados na análise de câmara úmida (Figura 30) e de OCP e polarização (Figura 31), onde a amostra MTG também se apresentou suscetível a ação da corrosão a partir das primeiras horas de ensaio.

Para a amostra MTG/TEOS-MAP observa-se um desempenho eletroquímico superior ao observado para amostra MTG (Figura 32). Após 1 hora de imersão, observa-se dois fenômenos distintos. O primeiro fenômeno, em alta frequência ( $\log f > 2$  Hz), refere-se à presença do revestimento protetivo sobre a superfície do metal. Diversos pesquisadores (SUEGAMA et.al., 2010; SARMENTO et.al., 2010; BALDIN et.al., 2016) indicam em seus estudos que o comportamento encontrado em altas frequências pode ser correlacionado com as propriedades protetivas do revestimento. O segundo fenômeno, observado em baixa frequência ( $\log f < 0$  Hz), está associada aos processos interfaciais entre o revestimento e o eletrólito, como permeação, difusão e transferência de carga (WALTER, 1986; OOIJ et al.; 2001).

As imagens de MEV-FEG (Figura 33) mostraram que a amostra MTG/TEOS-MAP, após 24 horas de imersão, apresentou algumas pequenas fissuras no revestimento, possivelmente devido ao processo de permeação do eletrólito através do revestimento, promovendo a corrosão do metal. De acordo com alguns autores (WALTER, 1986; OOIJ et al.; 2001; WOLYNEC, 2003; PALOMINO, 2008), os altos valores de impedância estão relacionados ao efeito barreira que impede a ação do eletrólito, neste caso associado à presença dos revestimentos híbridos. Após 96 horas de imersão (Figura 33), a amostra MTG/TEOS-MAP apresentou corrosão puntiforme, com pouco produto de corrosão e deslocamento localizado do revestimento.

Estes resultados estão de acordo com os resultados anteriormente apresentados, onde o revestimento da amostra MTG/TEOS-MAP desempenhou um eficiente efeito protetivo, não apresentando corrosão após 24 horas de ensaio em câmara úmida (Figura 30), além de um potencial mais nobre e uma densidade de corrente inferior aos da amostra MTG.

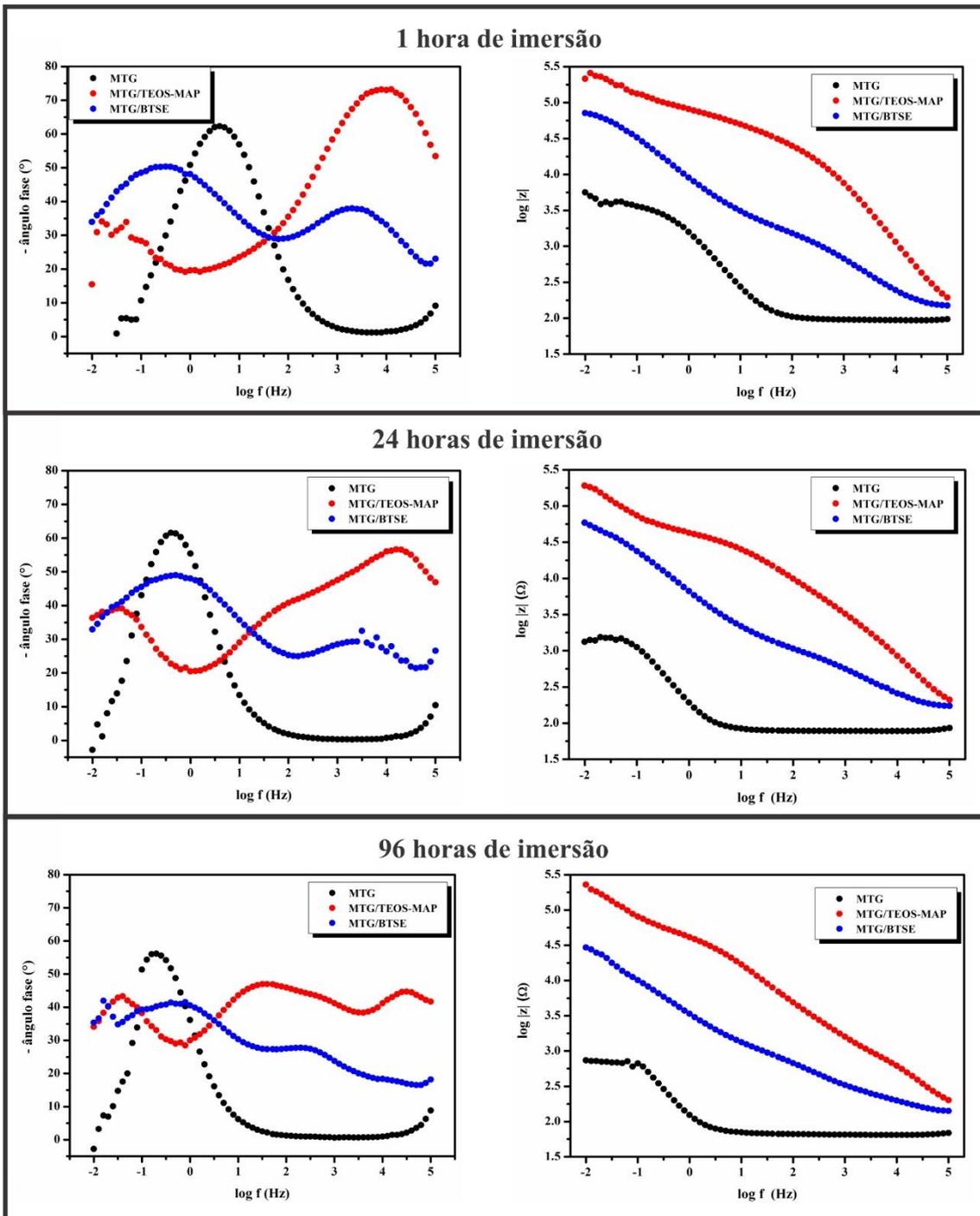
Já a amostra MTG/BTSE (Figura 33), desde 1 hora de imersão, apresentou a formação de fissuras no revestimento, as quais permitem a permeação do eletrólito, provocando a corrosão do substrato e, por consequência a formação de produtos de corrosão. Após 24 e 96 horas de imersão, observa-se a intensa evolução dos produtos de corrosão, o que acarreta o completo deslocamento do revestimento e a corrosão da superfície do substrato metálico (Figura 33). Esse comportamento também foi observado na análise de câmara úmida (Figura 30), onde a amostra MTG/BTSE apresentou pequenos pontos de corrosão após 24 horas de ensaio, indicando a permeabilidade deste revestimento.

O EIE também foi realizado para as amostras imersas em leite desnatado (Figura 34). A Figura 35 apresenta as imagens obtidas por MEV-FEG para as mesmas amostras após 1, 24 e 96 horas de imersão no ensaio de EIE em leite desnatado.

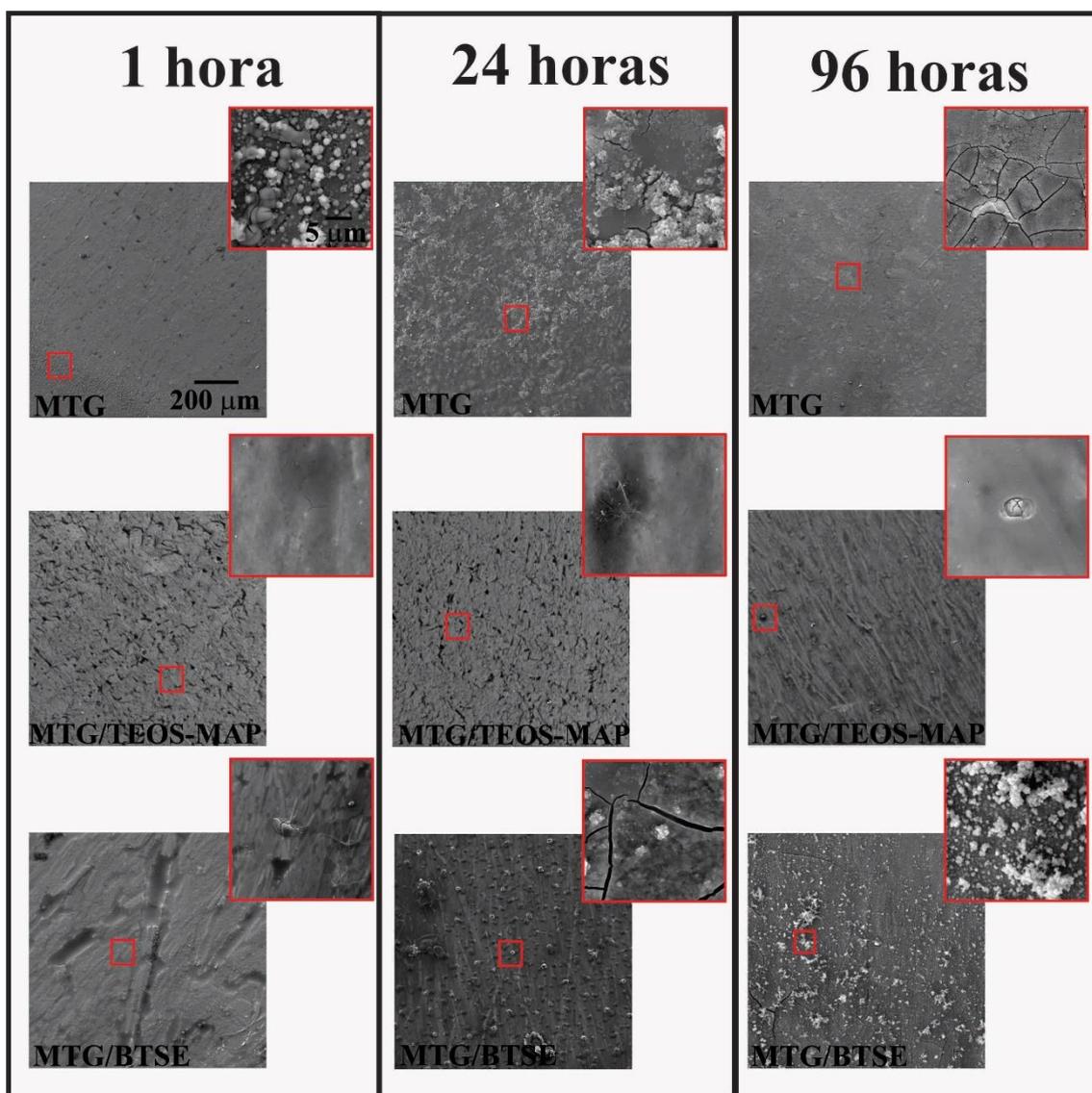
Para a amostra MTG/TEOS-MAP, observa-se um desempenho eletroquímico superior ao observado para as demais amostras (Figura 34). Após 1 hora de imersão em leite, apenas um fenômeno bem definido em alta frequência ( $\log f > 2$ ) com ângulo  $\theta$  em torno de  $75^\circ$  pode ser observado. Este fenômeno está associado à presença do revestimento híbrido protetivo sobre a superfície do metal. É possível observar na micrografia (Figura 35) que a superfície da amostra permaneceu íntegra após o ensaio, denotando a eficácia protetiva deste revestimento híbrido neste eletrólito testado.

Ao final do ensaio (96 horas), para a amostra MTG/TEOS-MAP, observa-se a presença de alguns fenômenos acoplados em média e alta frequências, relacionados a permeação do eletrólito e à ação protetiva do revestimento, que permanece ativa mesmo depois de longos períodos de imersão. As imagens de MEV-FEG (Figura 35) mostraram que esta amostra, após 96 horas de imersão, apresentou pequenas fissuras no revestimento, com pequenos pontos com produto de corrosão aparente.

**Figura 34** - Diagramas de Bode para as amostras estudadas após 1, 24 e 96 horas de imersão em leite desnatado.



**Figura 35** - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1, 24 e 96 horas de imersão em leite desnatado no ensaio de EIE.



Para amostra MTG/BTSE, no ensaio de EIE após 1 hora de imersão (Figura 34), observa-se a presença de dois fenômenos. O primeiro fenômeno observado em alta frequência ( $\log f > 2$  Hz) com ângulo  $\theta$  em torno de  $30^\circ$ . Este comportamento pode estar associado a presença do revestimento permeável e do óxido da superfície do metal. Contudo, é possível observar que este fenômeno tende ao deslocamento para frequências menores, acoplando-se a outros fenômenos. O segundo fenômeno observado em média e baixa frequência ( $\log f < 0$  Hz), está relacionada simultaneamente à permeabilidade do revestimento e à ação do eletrólito sobre o metal e ao processo de corrosão. As imagens

de MEV-FEG (Figura 35) corroboram os resultados mencionados anteriormente, uma vez que, para a amostra MTG/BTSE após 1 hora de imersão, observa-se um revestimento recobrimo completamente a superfície do substrato, porém com a presença de fissuras que permitem a permeação do eletrólito, provocando a corrosão do substrato e, por consequência, a formação de produtos de corrosão.

Por fim, após 96 horas de imersão, para a amostra MTG/BTSE observa-se a permanência de dois eventos acoplados deslocando-se para médias e baixas frequências. Este resultado indica o avanço do processo de difusão do eletrólito através do revestimento, associado ao processo corrosivo da superfície do metal devido a ação direta do eletrólito. As micrografias (Figura 35) evidenciam a formação de fissuras profundas no revestimento e a ação da corrosão sobre a superfície do metal, com a intensa presença de produtos de corrosão.

Os resultados obtidos são muito semelhantes aos relatados anteriormente (Figura 32), porém, observa-se que a corrosão em todos os sistemas estudados é menos intensa ao utilizar-se como eletrólito o leite desnatado, quando comparada ao eletrólito NaCl 0,05 M. Este comportamento pode estar associado as características de cada eletrólito, conforme pode-se observar na Tabela 2. O leite desnatado utilizado pode ser considerado um eletrólito menos agressivo do que o eletrólito NaCl 0,05 M, pois ele possui um pH mais baixo e menos quantidade de íons  $Cl^-$ , que são agente agressivos iniciadores do processo corrosivo.

Com isso, diante dos resultados apresentados, constata-se que o revestimento da amostra MTG/TEOS-MAP apresentou um desempenho protetivo superior em todos os ensaios realizados, quando comparado ao revestimento da amostra MTG/BTSE. Este desempenho protetivo é comprovado pela presença de eventos em alta frequência observados nos diagramas de Bode na análise de EIE (Figura 32) e a ausência de produtos de corrosão ao observar-se as micrografias de MEV-FEG (Figura 33) e após 24 horas de ensaio de câmara úmida (Figura 30). Isso pode estar associado a melhor reticulação e formação de uma rede compacta do revestimento contendo TEOS e MAP, o que conferiu ao revestimento maior regularidade e homogeneidade (Figura 24) quando comparado ao revestimento formado pelo precursor BTSE.

### 5.1.6 Caracterização por frequência de ressonância

Utilizou-se a análise de variação de frequência de ressonância para verificar a qualidade dos revestimentos híbridos aplicados sobre o Metglas. A Figura 36 apresenta os resultados do acompanhamento da frequência de ressonância com relação ao tempo de imersão das amostras estudadas nos eletrólitos: NaCl 0,05 M durante (a) 1 hora e (b) 24 horas; e leite desnatado durante (c) 1 hora e (d) 24 horas.

Na Figura 36 (a) observa-se o comportamento das amostras durante 24 horas de imersão em NaCl 0,05 M. Nota-se que as amostras MTG e MTG/TEOS-MAP apresentaram um  $\Delta f$  em torno de 200 Hz, que se manteve estável ao longo de 60 minutos. Esta variação está relacionada à estabilização do sensor no meio líquido, uma vez que a densidade e a viscosidade do meio afetam diretamente a  $\Delta f$ , gerando um amortecimento às oscilações do sensor. Wen et al. (2010) salientam que, dependendo do meio de análise ao qual o sensor magnetoelástico está exposto, forças de amortecimento afetam a superfície. Essas forças de amortecimento reduzem a frequência de ressonância do sensor magnetoelástico pois impedem as oscilações vibracionais, mudando o comportamento.

Com o passar do tempo de imersão, observa-se que ambas as amostras apresentaram um comportamento instável e variável. Este comportamento pode estar associado ao processo de corrosão, que invariavelmente atinge o substrato e promove a formação de óxidos. Estes óxidos promovem o aumento da massa na superfície da amostra e, com isso, ocorre uma  $\Delta f$ .

As oscilações da  $\Delta f$  observadas podem estar relacionadas ao desprendimento e dissolução dos óxidos (produto de corrosão) formados na superfície das amostras, que ao se formar e se dissolver repetidamente, promove uma variação na frequência de ressonância, resultando em uma instabilidade na  $\Delta f$ . Menti et al. (2016.b), em seu estudo sobre a biocompatibilidade e a degradação de biossensores magnetoelásticos expostos à cultura celular, também observaram uma  $\Delta f$  expressiva do sensor sem recobrimento (Metglas). Segundo esses os autores, a  $\Delta f$  observada indica um aumento líquido na massa e está associado à corrosão do material metálico.

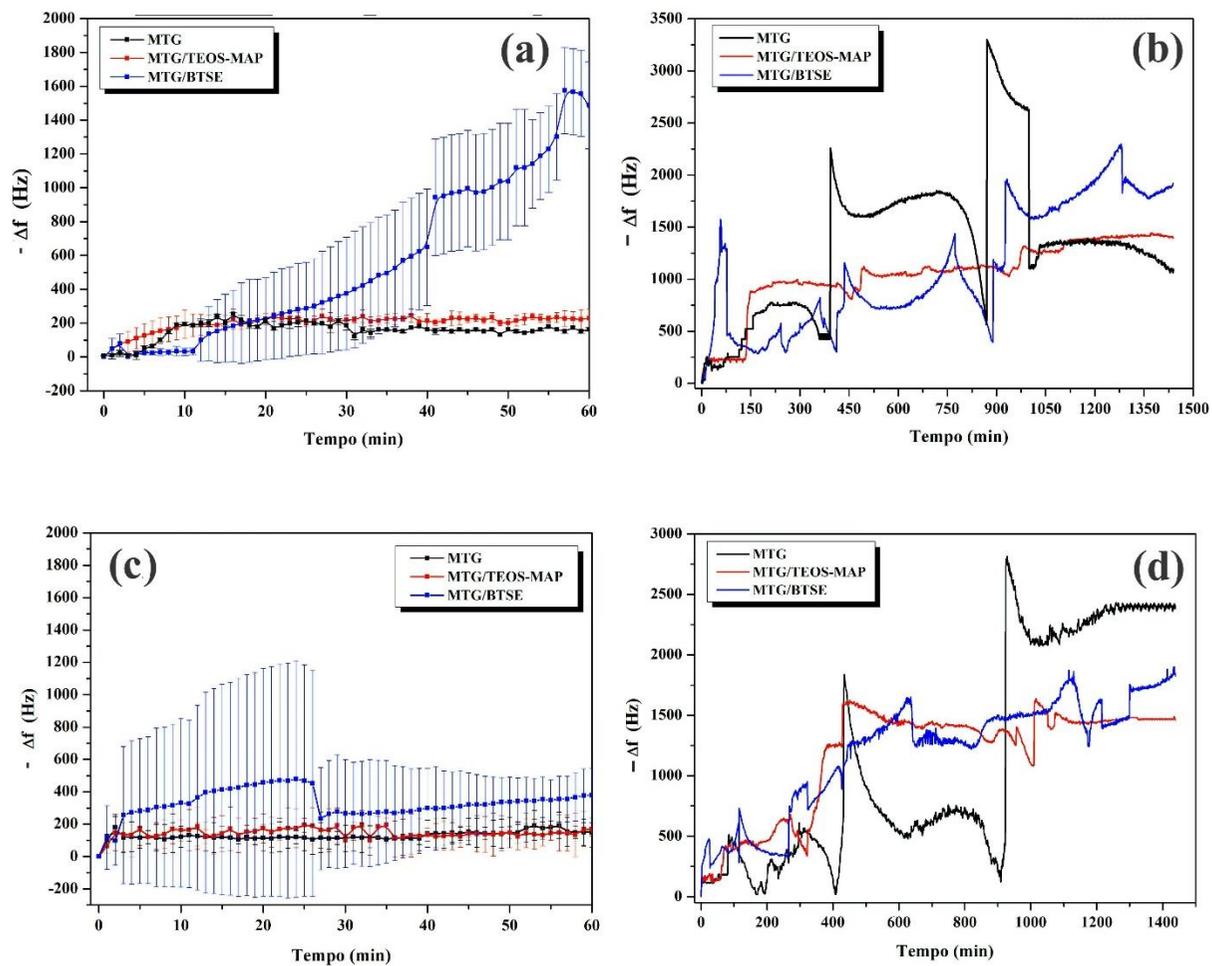
Nas micrografias de MEV-FEG para as amostras MTG e MTG/TEOS-MAP após 1 hora de imersão em NaCl 0,05 M (Figura 37), é possível observar as superfícies íntegras, sem fissuras ou produtos de corrosão visíveis. Porém, após 24 de imersão ambas

as amostras apresentaram produtos de corrosão, decorrente da ação do eletrólito sobre a liga metálica.

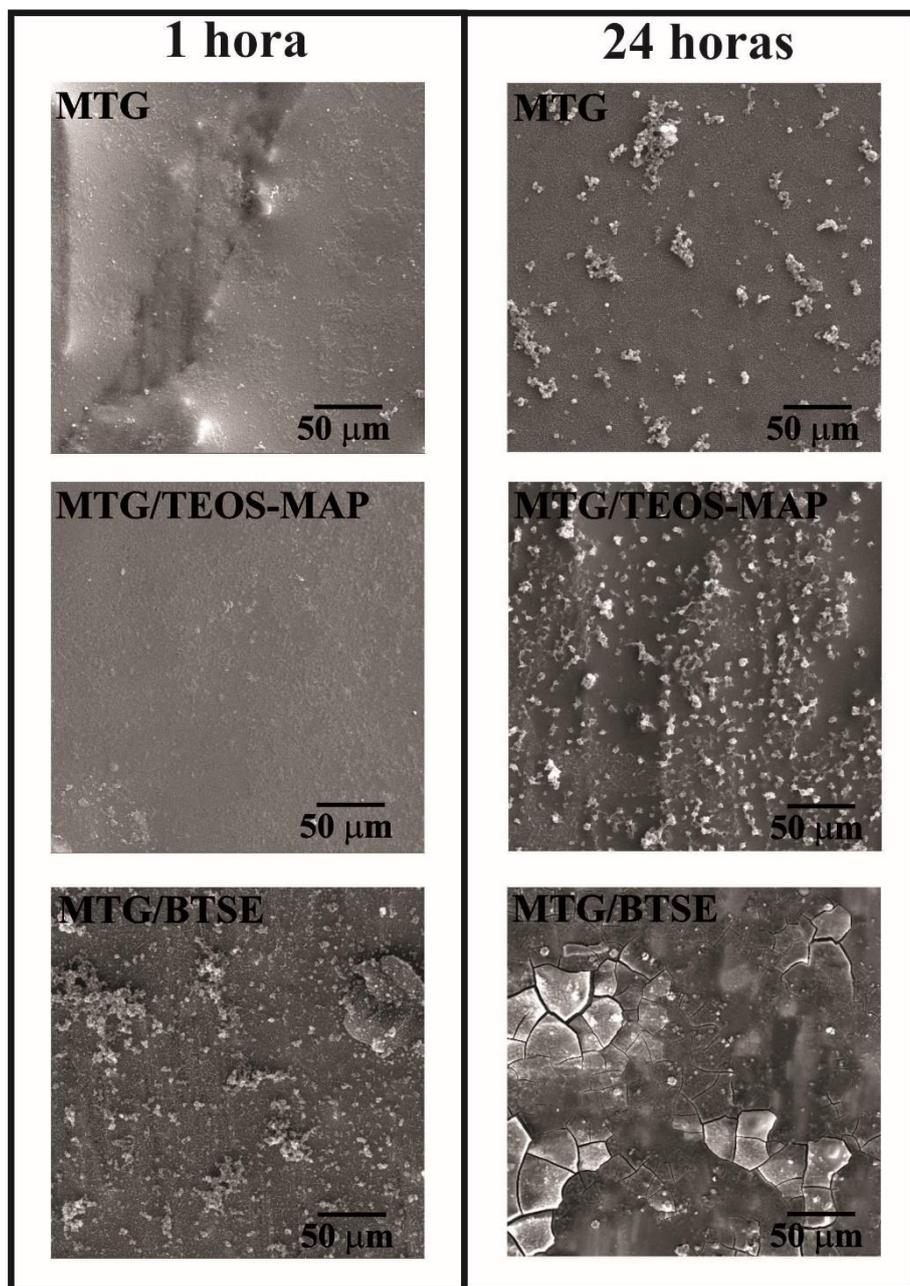
A amostra MTG/BTSE apresentou uma elevação da  $\Delta f$  logo nos primeiros instantes de ensaio. Este resultado pode estar associado à permeabilidade do revestimento, o que permite a absorção de eletrólito, promovendo assim o aumento da massa sobre o sensor e, conseqüentemente, a diminuição da frequência de ressonância.

O avanço do eletrólito através do revestimento promoveu o ataque ao substrato metálico, conforme observa-se na Figura 37, onde a amostra MTG/BTSE após 1 hora de imersão em NaCl apresentou produto de corrosão em sua superfície. Após 24 horas de imersão, a amostra apresentou ruptura e deslocamento do revestimento BTSE, com presença de produto de corrosão disperso por toda a sua superfície.

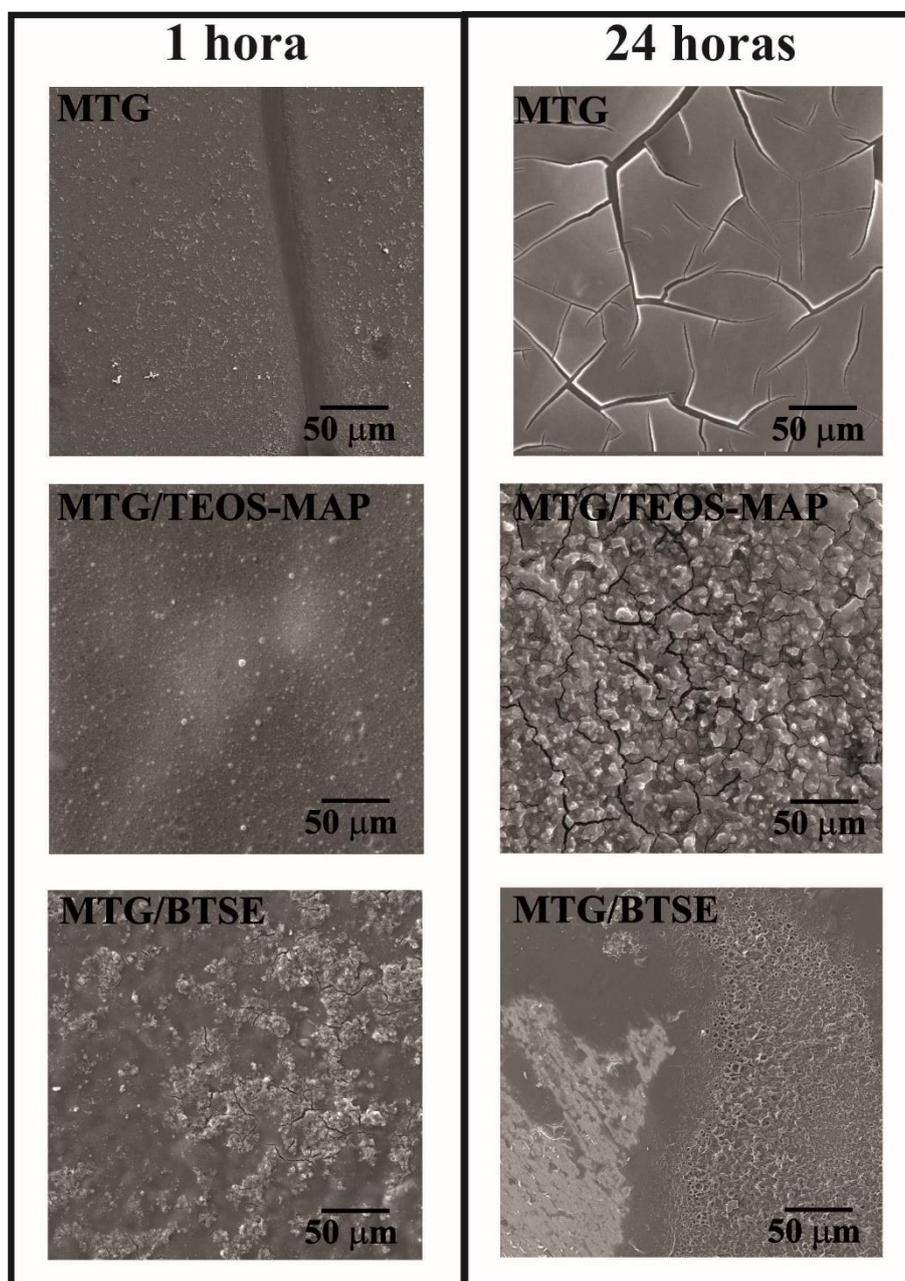
**Figura 36** - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão das amostras estudadas nos eletrólitos: NaCl 0,05 M durante (a) 1 hora e (b) 24 horas; e leite desnatado durante (c) 1 hora e (d) 24 horas .



**Figura 37** - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1 e 24 horas de imersão em NaCl 0,05 M no ensaio de acompanhamento da  $\Delta f$ .



**Figura 38** - Micrografias obtidas por MEV-FEG para as amostras após 1 e 24 horas de imersão em leite desnatado no ensaio de acompanhamento da  $\Delta f$ .



Ao analisarmos a Figura 36(b), verificamos que as amostras quando imersas em leite desnatado apresentaram um comportamento análogo ao observado quando imersas em NaCl. Mais uma vez pode-se constatar que a amostra MTG/BTSE apresentou baixa resistência a permeação do eletrólito, permitindo assim a rápida ação deste sobre a liga metálica. Nas micrografias de MEV-FEG (Figura 38) observa-se que as amostras MTG e MTG/TEOS-MAP apresentaram pequenos pontos de corrosão em sua superfície,

enquanto que a amostra MTG/BTSE apresentou produtos de corrosão por toda a sua superfície.

Considerando-se as propriedades do Metglas 2826MB3 (Tabela 3) e as dimensões do sensor (5 x 1 x 0,03 mm), calculou-se a partir da Equação 6, que a  $S_m$  deste sensor é de  $1,88 \times 10^{-4}$  Hz/pg. Com isso, acredita-se que as pequenas quantidades de produto de corrosão observadas sobre as amostras MTG e MTG/TEOS-MAP não foram suficientes para provocar uma variação detectável na frequência de ressonância das amostras.

Sabendo-se que os processos de corrosão são muito complexos e ocorrem sob diferentes condições, necessitando-se a utilização de diferentes técnicas metodológicas complementares para o seu estudo. A combinação dos resultados deste conjunto de técnicas, obtidos em diversas condições, pode simular o comportamento de amostras frente à meios agressivos, tendo em vista a melhor compreensão dos mecanismos de ação da corrosão. Com isso, diante de todos os resultados apresentados nas análises de câmara úmida (Figura 30), OCP e curvas de polarização (Figura 31), EIE e MEV-FEG (Figura 32-35) e acompanhamento de  $\Delta f$  (Figura 36), pode-se concluir que a amostra MTG/TEOS-MAP apresentou um desempenho eletroquímico superior à amostra MTG/BTSE, proporcionando um desempenho protetivo mais eficaz contra a corrosão do substrato metálico MTG.

### **5.1.7 Caracterização mecânica**

Em um material, a elasticidade é a capacidade se deformar quando submetido a um esforço, e de voltar à forma original quando o esforço é cessado. O módulo de elasticidade indica a rigidez do material (resistência do material à deformação elástica), sendo uma propriedade intrínseca, dependente das forças de ligação atômica, da composição química e das microestrutura e defeitos (poros e trincas) do material (ASHCROFT et al., 1976; CALLISTER, 2007).

Em materiais amorfos, as propriedades físicas independem da direção em que são exigidas (isotropia). Os revestimentos híbridos de precursores alcóxidos de silício são considerados amorfos, pois não possuem estrutura atômica definida. Estudos realizados por Yang et al. (2012) e Kunst et.al. (2015) afirmam, de acordo com resultados obtidos por difração de raios X (DRX), que os revestimentos desenvolvidos a partir de precursores alcóxidos de silício possuem estrutura amorfa.

Os resultados do ensaio de nanoindentação mostraram que o módulo de elasticidade do revestimento TEOS-MAP é de 65 GPa ( $\pm 10$ ) e do revestimento BTES é de 57 GPa ( $\pm 10$ ), com um valor de profundidade de penetração máxima de 360 nm ( $\pm 15$ ).

Conforme apresentado na Tabela 1, o módulo de elasticidade do Metglas (100 GPa) é consideravelmente superior ao dos revestimentos híbridos. Contudo, a deformação sofrida pelo sistema Metglas/revestimento híbrido com a aplicação do campo magnético é extremamente pequeno, cerca de 12 ppm (Tabela 1). Considerando-se as dimensões das amostras estudadas no ensaio de  $\Delta f$  (5 x 1 mm), esta deformação longitudinal equivale à  $12 \times 10^{-9}$  m (12 ppm), representando um estresse na tração muito pequeno, não sendo representativo para o revestimento.

Sabendo-se que os revestimentos híbridos são amorfos e relacionando-se os módulos de elasticidade com as tensões exercidas durante o ensaio de  $\Delta f$ , acredita-se que os revestimentos não tenham sofrido deformações apreciáveis a ponto de ocasionar o fissuramento e/ou deslocamento dos mesmos.

Portanto, mesmo os revestimentos híbridos estudados tendo menor capacidade de transmitir ou resistir aos esforços aplicados, quando comparados ao Metglas, acredita-se que as tensões exercidas sobre eles não foram suficientes para danificá-los.

#### ***5.1.8 Considerações quanto a seleção do revestimento***

Os termogramas de TGA mostraram que ambos os revestimentos testados apresentaram excelente estabilidade térmica. Estes resultados demonstram que estes revestimentos podem ser utilizados em biossensores, visto que, terão sua integridade garantida em todo o processo, mesmo que precisem ser esterilizados em altas temperatura.

O revestimento TEOS-MAP apresentou, comparativamente ao revestimento BTSE um melhor desempenho nos testes eletroquímicos (em NaCl 0,05 M e em leite desnatado), mesmo quando submetido ao ensaio de análise de variação de frequência de ressonância. Este comportamento pode ser associado à morfologia do revestimento TEOS-MAP que apresentou uma cobertura regular, homogênea e sem fissuras evidentes.

O ensaio de nanoindentação indicou que os revestimentos testados, mesmo com capacidade de resistir aos esforços aplicados inferior ao substrato, não devem ser

danificados pelas tensões exercidas durante os ensaios de variação de frequência de ressonância.

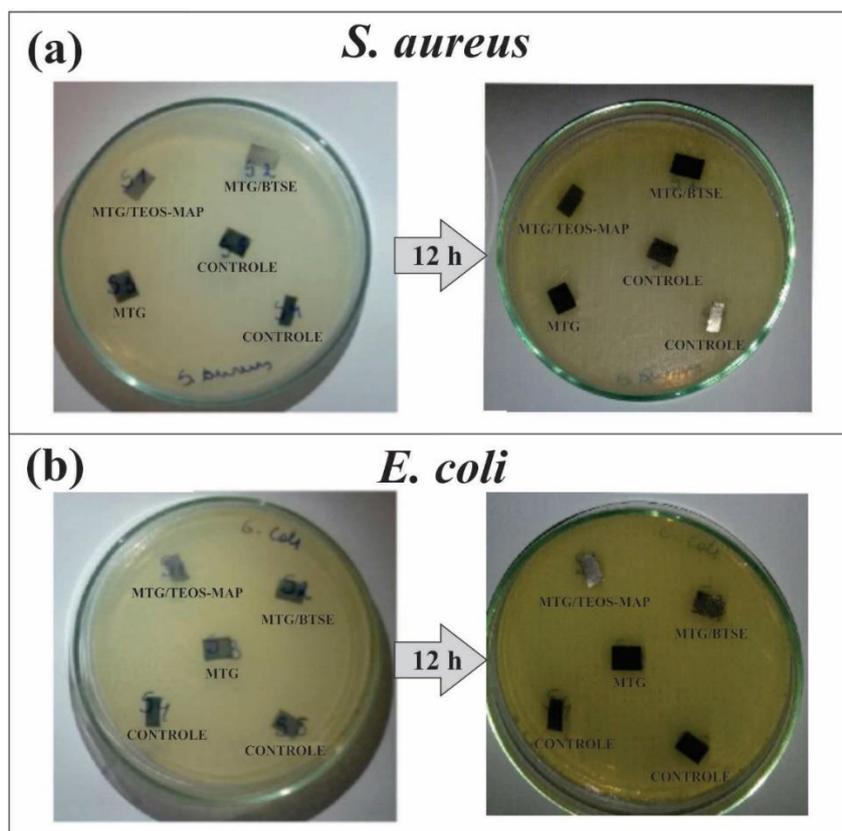
Com base nos resultados apresentados, conclui-se que o revestimento TEOS-MAP é o mais indicado como revestimento protetivo para a liga magnetoelástica Metglas, sendo este foi escolhido para ser utilizado nos sensores de carregamento de massa para os testes de detecção de bactérias em meios líquidos.

## 5.2 Avaliação do revestimento híbrido quanto à detecção de bactérias

### 5.2.1 Avaliação da sensibilidade microbiológica

A Figura 39 apresenta os resultados do teste de sensibilidade microbiológica das amostras estudadas. Observa-se que para as duas espécies de bactérias utilizadas (*E. coli* e *S. aureus*) não houve a formação do halo em torno das amostras testadas. Estes resultados indicam que as amostras MTG e MTG/TEOS-MAP não são tóxicas às bactérias testadas, permitindo o seu crescimento.

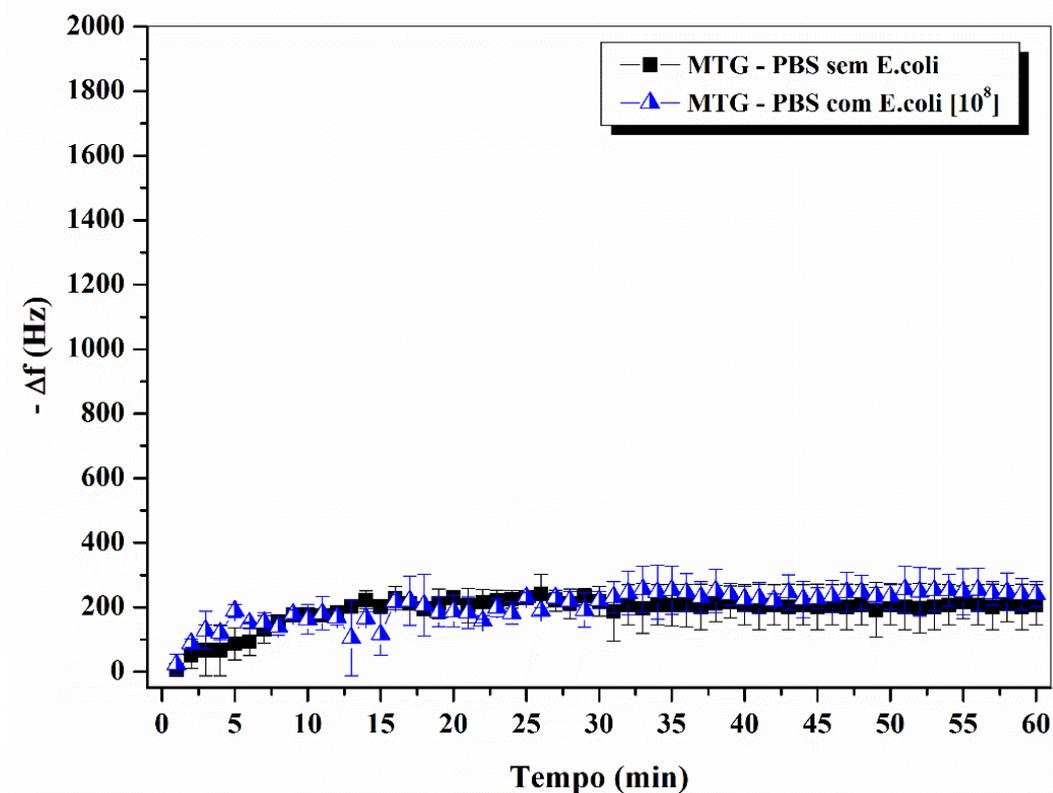
Figura 39 - Ensaio de sensibilidade microbiológica das amostras estudadas.



### 5.2.2 Avaliação quanto à detecção de bactérias

A Figura 40 apresenta a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor sem revestimento híbrido (MTG), quando imerso em PBS puro e com contaminação de *E. coli* na concentração de  $10^8$  UFC/mL. Este teste mostrou que o sensor MTG apresentou  $\Delta f$  em torno de 200 Hz, mesmo com a presença de *E. coli*, e estável ao longo do tempo de análise. Conforme comentado anteriormente, esta variação está relacionada à estabilização do sensor no meio líquido, uma vez que a densidade e a viscosidade do meio afetam diretamente a  $\Delta f$ , gerando um amortecimento às oscilações do sensor.

**Figura 40** - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor sem revestimento híbrido (MTG) imerso em PBS sem e com contaminação de  $10^8$  UFC/mL de *E. coli*.



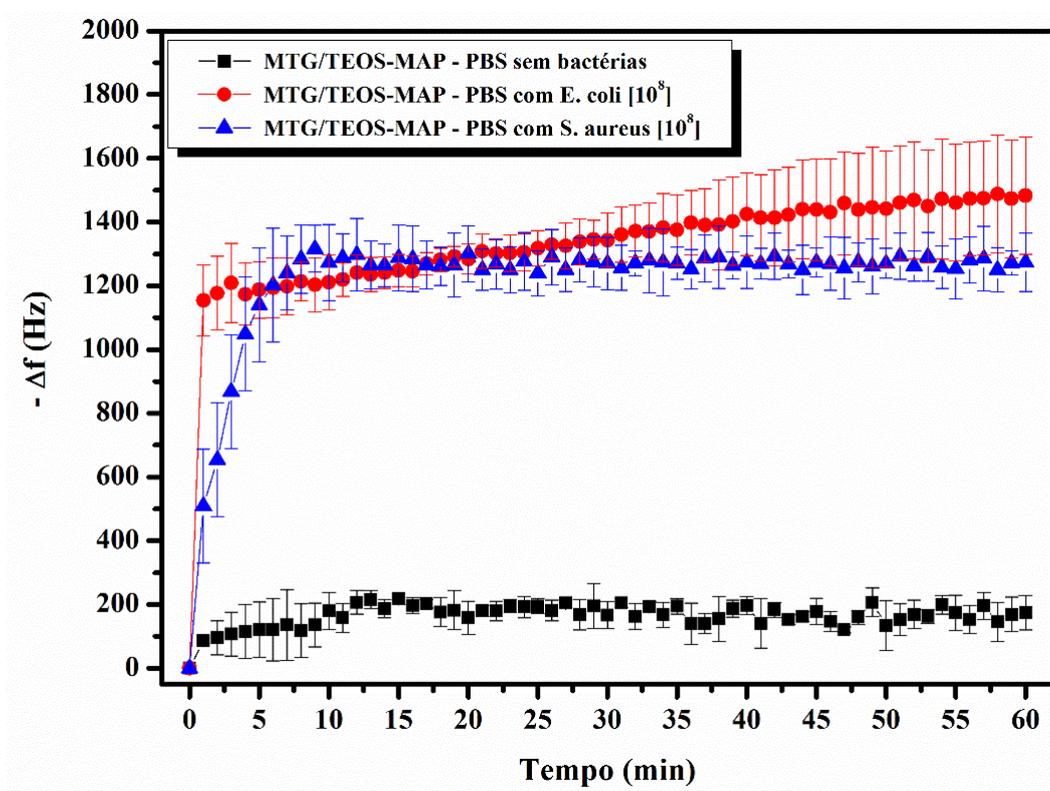
Observa-se que a presença de bactérias no meio não promoveu um aumento da  $\Delta f$ , indicando que não houve um adesão destas na superfície do sensor MTG. Sabe-se que a adesão inicial das bactérias está diretamente relacionada às características físico-químicas

do substrato, bem como à disponibilidade de nutrientes no meio (KUMAR et al., 1998). Logo, a superfície da amostra MTG não favoreceu a adesão da *E. coli* em sua superfície, durante o período de 60 minutos em que o teste foi realizado.

A Figura 41 apresenta a  $\Delta f$  com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro, PBS contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli* e PBS contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *S. aureus*.

Observa-se que o sensor MTG/TEOS-MAP quando exposto ao meio sem bactérias apresentou uma  $\Delta f$  em torno de 200 Hz. Assim como comentado anteriormente, esta variação ocorre devido à estabilização do sensor no meio líquido, assim como observado para as amostras MTG na Figura 40. Além disso, este resultado indica que não ocorre a permeação do eletrólito pelo revestimento híbrido, mantendo constante a massa do sensor e, conseqüentemente, invariável a frequência de ressonância.

**Figura 41** - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro, PBS contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli* e PBS contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *S. aureus*.



Quando o sensor MTG/TEOS-MAP é exposto em PBS contaminado, observa-se uma acentuada  $\Delta f$ , indicando uma variação de massa ( $\Delta m$ ) do sensor. Esta  $\Delta m$  deve estar relacionada à adesão das bactérias sobre a superfície do sensor.

Uma combinação de parâmetros como hidrofobicidade, microtopografia do sensor, acúmulo e deposição de bactérias, pH, entre outros, influenciam diretamente no grau de adesão das bactérias ao sensor (POULSEN, 1999; MEYER, 2003). Após a aplicação do revestimento híbrido, a superfície do sensor apresentou características morfológicas distintas as do substrato, conforme observado na Figura 24. Conforme Ljungh et al. (1985), superfícies hidrofóbicas, com energia de superfície relativamente baixa, são favorecedoras da adesão de microrganismos.

Uma hipótese para explicar o comportamento bacteriano do revestimento híbrido TEOS-MAP pode estar associada a colonização primária das bactérias, que se aderem a uma superfície, geralmente contendo proteínas ou outros compostos orgânicos. Isto pode ser comparado a chamada “camada de hidratação” que ocorre durante a formação da placa bacteriana sobre a superfície de um dente. Segundo Mayhall (1970), quando imerso em um meio líquido, saliva no caso dos dentes, as cargas da superfície do material tendem a ser neutralizadas por uma camada de íons de cargas opostas. Estes íons podem atuar como mediadores de aderência entre as bactérias e a superfície. Em um período posterior, quando a camada inicial foi adsorvida podem ocorrer outras interações, como as ligações de hidrogênio e as interações hidrófobas. Contudo, estas ligações são fracas, com pouco atração eletrostática, podem ser facilmente revertida, permitindo assim a remoção das bactérias da superfície.

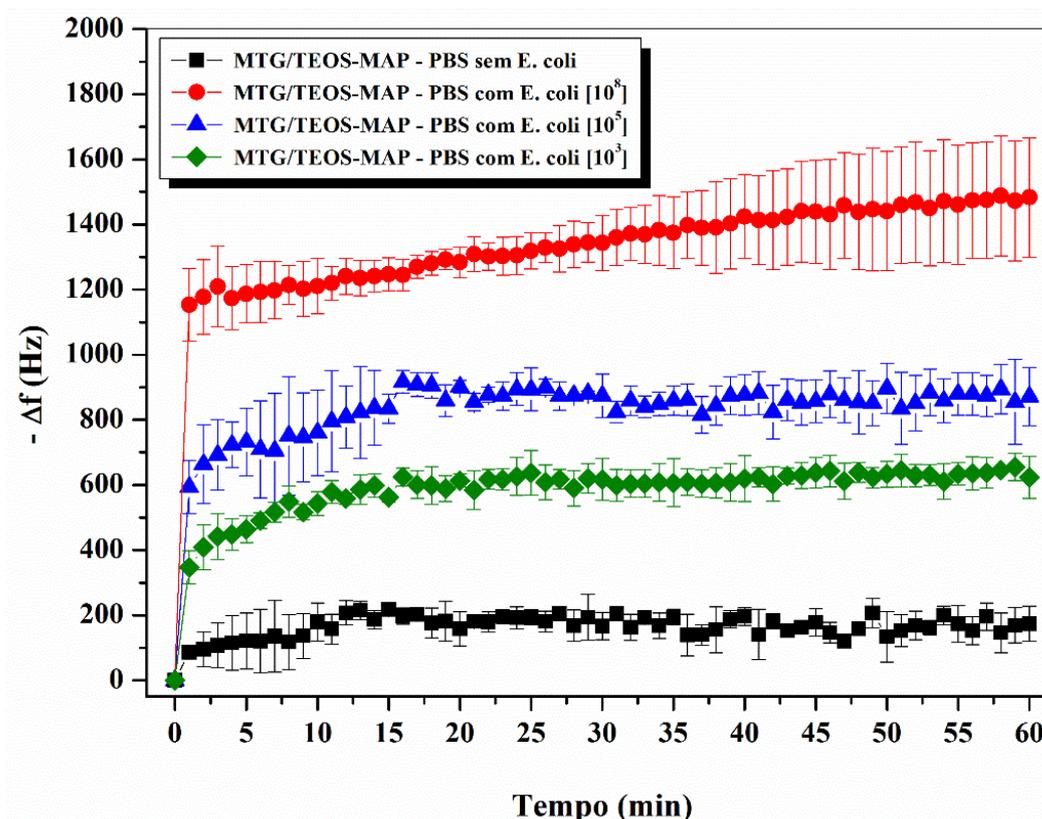
Observa-se que o sensor MTG/TEOS-MAP é eficiente na detecção da presença de bactérias em meio líquido (Figura 41). Contudo, este sensor não apresentou seletividade microbiana, detectando de forma idêntica as duas diferentes espécies de bactérias em uma mesma concentração. Logo, para uma especificidade do sensor MTG/TEOS-MAP indica-se o estudo da imobilização de um EBM que favoreça a ligação de bactérias específicas. Com base nesta hipótese, os testes a seguir foram realizados apenas com as bactérias da espécie *E. coli*.

A Figura 42 apresenta a  $\Delta f$  com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro e em PBS contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*.

Observa-se que a  $\Delta f$  é dependente da concentração de bactérias no meio. Nota-se a elevação da  $\Delta f$  em concentrações crescentes de soluções bacterianas, evidenciando a sensibilidade do sensor à diferentes concentrações do meio.

Considerando o tempo de imersão do sensor no meio líquido, observa-se que a  $\Delta f$  torna-se estável em 20 minutos de ensaio. Contudo, é possível constatar na Figura 42 que em concentrações mais elevadas de *E. coli* ( $10^8$  UFC/mL) há uma maior instabilidade na detecção da  $\Delta f$ , gerando assim maiores desvios nos resultados. Os desvios se originam de variações temporais ou espaciais e ocorrem de forma imprevisível.

**Figura 42** - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em PBS puro e em PBS contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*.

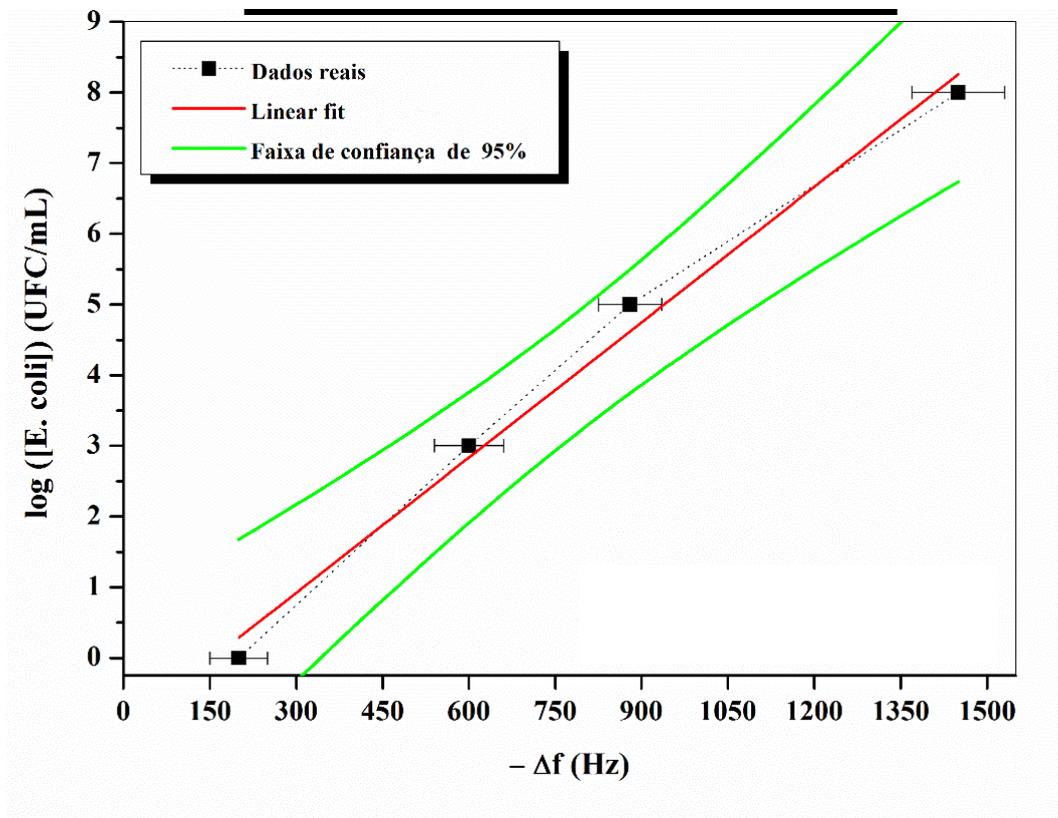


Com base nos resultados obtidos para o sensor MTG/TEOS-MAP exposto ao PBS contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*, pode-se determinar uma curva padrão para modelo empírico (Figura 43). Utilizou-se os valores médios registrados após 20 minutos de ensaios, uma vez que após este período a  $\Delta f$  apresentou pouca alteração.

Para estabelecer uma curva padrão necessita-se fornecer alguma indicação quantitativa da qualidade do resultado, de tal forma que aqueles que utilizam o resultado da medição possam avaliar sua confiabilidade. Logo, adotando-se um nível de confiança de 95%, observa-se que a variável esperada tem relação linear com a variável resposta. Pelo valor do  $R^2$  pode-se ter uma ideia da qualidade do ajuste, visto que, quanto mais próximo do valor 1 mais adequado o ajuste se mostra. Logo, temos indícios de que o modelo linear se ajustou bem ao conjunto de dados analisado, uma vez que o valor de  $R^2$  para este ajuste resultou em 0,998. Com isso e considerando-se as condições, técnicas e equipamentos utilizados neste ensaio, a equação padrão aplicável para a determinação da concentração de *E. coli* em PBS a partir da frequência de ressonância do sensor MTG/TEOS-MAP é expressa pela Equação 10:

$$[E. coli] = 0.0064 (-\Delta f) - 0,99 \quad (10)$$

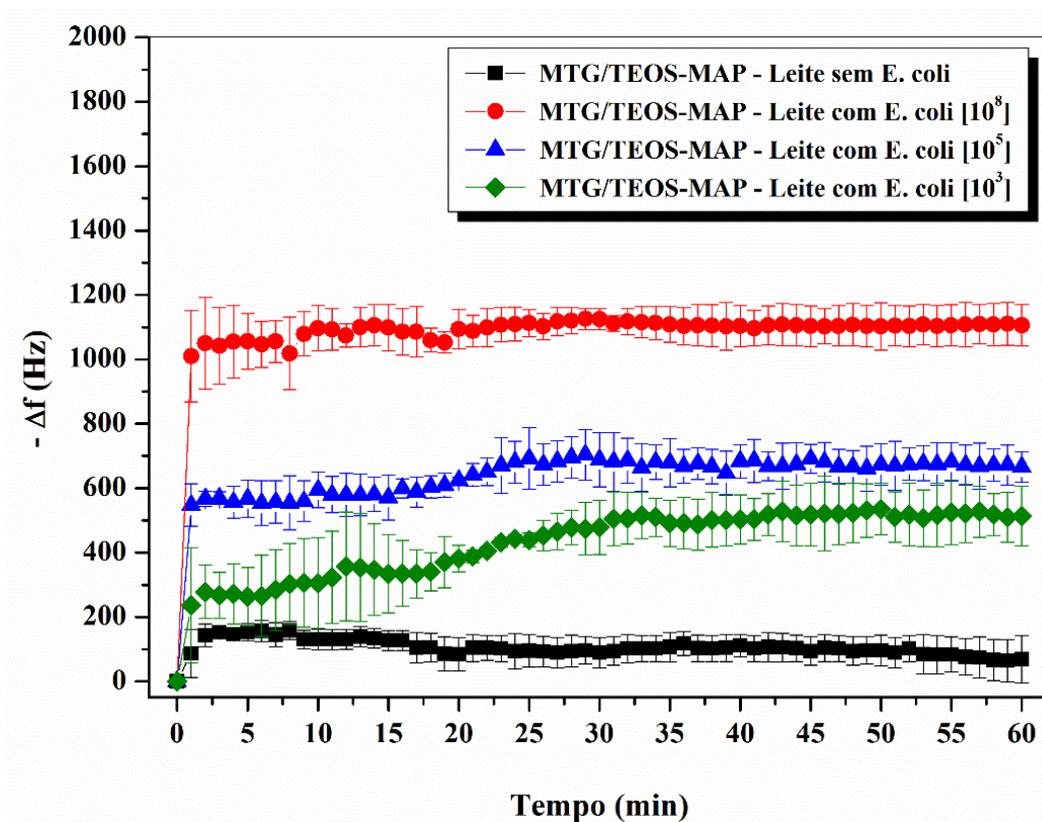
**Figura 43** - Curva de calibração padrão determinada para a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação a concentração de *E. coli* em PBS.



A Figura 44 apresenta a  $\Delta f$  com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em leite puro e em leite contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*. Analogamente ao ensaio anterior, observa-se a elevação da  $\Delta f$  em concentrações crescentes de soluções bacterianas, evidenciando a sensibilidade do sensor a diferentes concentrações do meio.

Contudo, ao compararmos os resultados apresentados nas Figuras 42 e 44, observa-se uma  $\Delta f$  menor em leite do que em PBS, para uma mesma concentração de *E. coli*. Esta diferença da resposta da frequência de ressonância pode estar associada a maior quantidade de nutrientes presente no leite. Segundo Izquierdo (2002) a adesão de *E. coli* é fortemente influenciada pelo ambiente nutricional disponível no meio. Logo, acredita-se que as bactérias presentes no leite permaneceram dispersas em solução por mais tempo do que em PBS.

**Figura 44** - Variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação ao tempo de imersão do sensor com revestimento híbrido (MTG/TEOS-MAP) quando imerso em leite puro e em leite contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*.

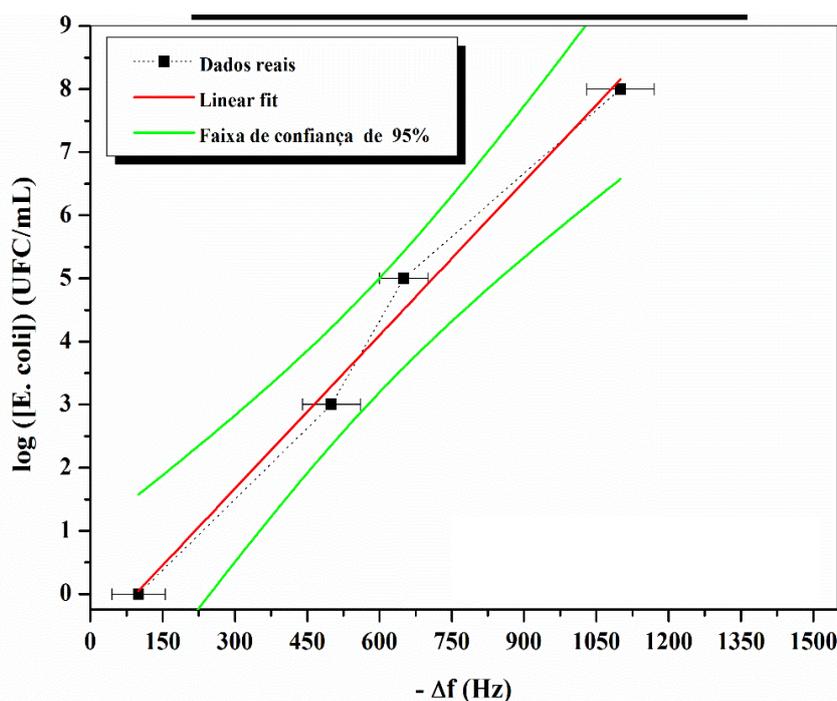


A deterioração de alimentos pode ser causada pelo crescimento de microrganismos que levariam a alterações organolépticas. Neste caso, números elevados são esperados e variam com o tipo de alimento e microrganismo presente. A maioria dos alimentos apresenta, quando essas alterações são detectáveis, números superiores a  $10^6$  UFC/g do alimento (FRANCO et al., 2002).

Com base nos resultados obtidos para o sensor MTG/TEOS-MAP exposto ao leite contaminado com diferentes concentrações de *E. coli*, pode-se determinar uma curva padrão para modelo empírico (Figura 45). Utilizou-se os valores médios registrados após 20 minutos de ensaios, uma vez que após este período a  $\Delta f$  apresentou pouca alteração. Adotando-se um nível de confiança de 95%, observa-se que a variável esperada tem relação linear com a variável resposta, com valor de  $R^2$  para este ajuste de 0,995. Com isso e considerando-se as condições, técnicas e equipamentos utilizados neste ensaio, a equação padrão aplicável para a determinação da concentração de *E. coli* em leite a partir da frequência de ressonância do sensor MTG/TEOS-MAP é expressa pela Equação 11:

$$[E. coli] = 0.00681 (-\Delta f) - 0,76 \quad (11)$$

**Figura 45** - Curva de calibração padrão determinada para a variação da frequência de ressonância ( $\Delta f$ ) com relação a concentração de *E. coli* em leite.



A partir da  $S_m$  do sensor estimada em  $1,88 \times 10^{-4}$  Hz/pg e dos resultados apresentados nas Figuras 42 e 44, aplicando-se a Equação 5, pode-se estimar a quantidade de bactérias *E. coli* aderidas sobre o sensor no momento do ensaio de  $\Delta f$ . Os resultados são apresentados na Tabela 7.

Para os cálculos, considerou-se os valores de  $\Delta f$  após 20 minutos de ensaio para cada concentração de *E. coli* testada, descontando-se o valor de  $\Delta f$  obtido para o sensor quando exposto ao meio sem contaminação. Além disso, estima-se que a massa de cada *E. coli* é de aproximadamente 1 pg.

**Tabela 7** – Quantidade de bactérias detectadas pelo sensor durante o ensaio de  $\Delta f$ .

Meio líquido	[ <i>E. coli</i> ] (UFC/ml)	$\Delta f$ (Hz)	$\Delta m$ (pg)	Quantidade estimada de <i>E. coli</i> (unid.)
PBS	$10^3$	$400 \pm 60$	$2 \times 10^6$	$\approx 2.000.000$
	$10^5$	$700 \pm 55$	$4 \times 10^6$	$\approx 4.000.000$
	$10^8$	$1100 \pm 80$	$6 \times 10^6$	$\approx 6.000.000$
Leite	$10^3$	$300 \pm 60$	$2 \times 10^6$	$\approx 2.000.000$
	$10^5$	$550 \pm 50$	$3 \times 10^6$	$\approx 3.000.000$
	$10^8$	$1000 \pm 70$	$5 \times 10^6$	$\approx 5.000.000$

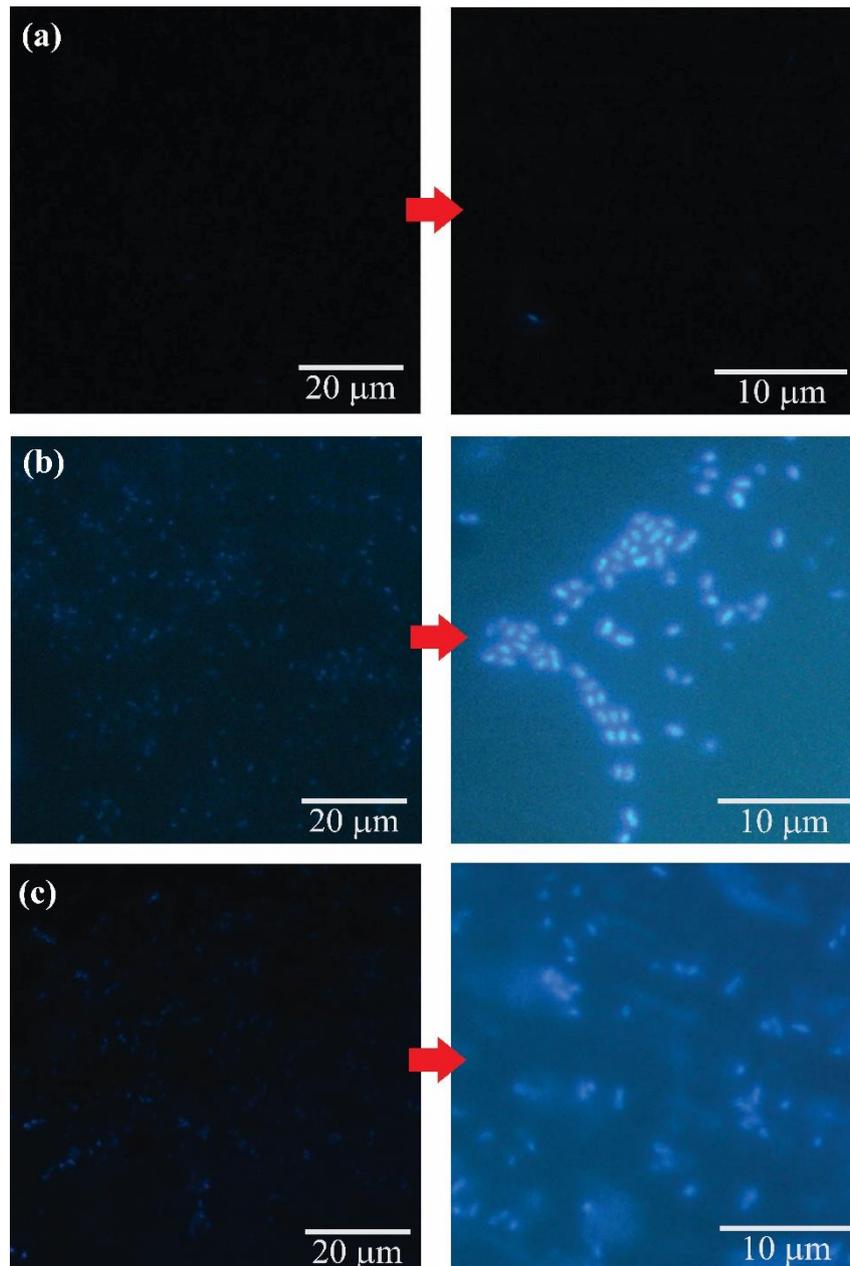
### 5.2.3 Avaliação morfológica

Nas micrografias de fluorescência apresentadas na Figura 46.a observa-se a superfície da amostra MTG após 1 hora de ensaio de frequência em solução de PBS puro e PBS contaminada com  $10^8$  UFC/mL de *E.coli*. Nas imagens é possível observar a presença ínfima de *E. coli* na superfície, corroborando com os resultados apresentados anteriormente.

Já as micrografias de fluorescência da Figura 46.b e 46.c evidenciam a presença de bactérias *E. coli* sobre a superfície dos sensores, imersos em PBS e leite, respectivamente. Este resultado comprova a adesão das bactérias sobre a superfície da amostra MTG/TEOS-MAP. Contudo, a quantidade de bactérias observada é menor do que a detectada pelo sensor, considerando a  $\Delta f$  apresentada. Isto pode estar associado ao fato da interação entre as bactérias e a superfície ocorrer através de ligações fracas

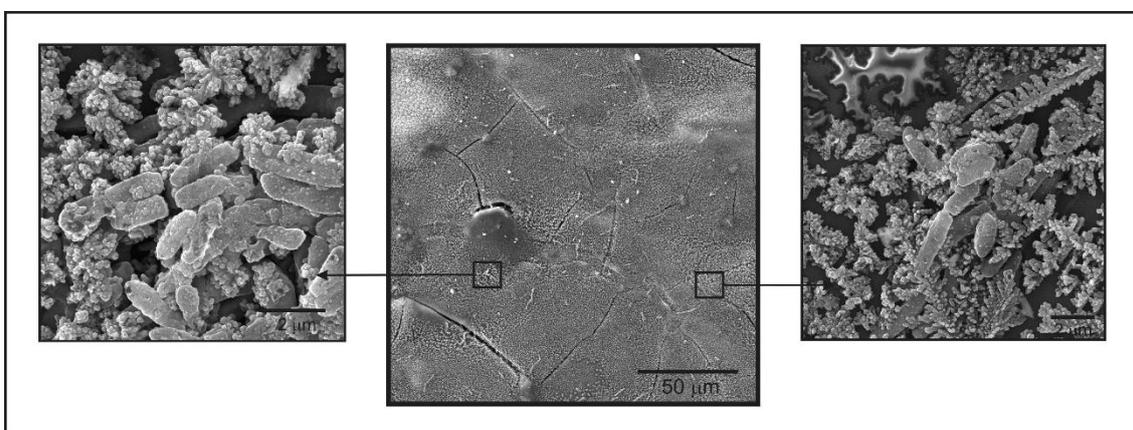
(atração eletrostática e forças de Van der Waals), caracterizando o processo de adesão reversível. Por esse motivo, as bactérias podem ser facilmente desagregadas da superfície com uma simples lavagem (HOOD, 1995; KUMAR 1998).

**Figura 46** - Microscopias de fluorescência das superfícies da amostra (a) MTG e (b) MTG/TEOS-MAP, ambas expostas ao PBS contaminados com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli* e (c) MTG/TEOS-MAP exposta ao leite contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli*.



A Figura 47 apresenta as micrografias obtidas por MEV-FEG para amostra com MTG/TEOS-MAP exposta ao leite contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli*. Observa-se a presença de algumas bactérias distribuídas por toda a superfície da amostra. Nas micrografias de maior magnitude, é possível notar pontos de aglomeração destes microrganismos, confirmando a discussão defendida anteriormente, onde afirmou-se que as bactérias tendem a formar biofilmes, a fim de se manter mais fortemente aderidas sobre uma superfície.

**Figura 47** - Micrografias obtidas por MEV-FEG para amostra MTG/TEOS-MAP exposta ao leite contaminado com  $10^8$  UFC/mL de *E. coli*.



#### 5.2.4 Considerações quanto à detecção de bactérias

Os resultados apresentados indicam que o sensor desenvolvido a partir da liga magnetoelástica Metglas 2826MB3 revestido com revestimento híbrido à base de precursores alcóxidos de silício TEOS e MAP é capaz de detectar a presença de bactérias (*E. coli* e *S. aureus*) em um meio líquido através da variação da frequência de ressonância. Além disso, também que é possível estimar, a partir da a variação da frequência de ressonância, a concentração e a quantidade de *E. coli* presente no meio líquido.

Esta detecção é possível de ser realizada devido à variação do carregamento de massa, pois o sensor, não-funcionalizado, está respondendo a carga de massa devido à adesão bacteriana.

## 6 Conclusões

Os revestimentos híbridos testados apresentaram propriedades compatíveis com as exigidas para sua aplicação em sensores. Estes revestimentos apresentaram-se aderidos ao substrato metálico, sem fissuras aparentes, sendo estáveis térmica e quimicamente.

Os resultados eletroquímicos mostraram que ambos os revestimentos híbridos protegeram o substrato metálico da ação da corrosão quando expostos em solução de NaCl 0,05 M. Contudo, o revestimento à base dos precursores alcóxidos TEOS-MAP mostrou-se mais protetivo, quando comparado ao revestimento à base de BTSE. Por este motivo, o revestimento TEOS-MAP foi escolhido como revestimento para o desenvolvimento do sensor.

O ensaio mecânico de nanoindentação indicou que os revestimentos testados, mesmo possuindo capacidade de resistir aos esforços aplicados inferior à do substrato, estes não devem ser danificados pelas tensões exercidas durante os ensaios de variação de frequência de ressonância, considerando-se que o estresse aplicado é significativamente pequeno.

O sensor elaborado a partir da liga Metglas revestida com o revestimento TEOS-MAP não apresentou toxicidade às bactérias testadas (*E. coli* e *S. aureus*), uma vez que, no ensaio de sensibilidade microbiológica, não inibiram o crescimento destes microrganismos.

Este mesmo sensor, quando exposto aos meios líquidos (PBS e leite) contaminados com *E. coli* foi capaz de detectar a presença destes microrganismos em diferentes concentrações. Os testes foram realizados considerando-se a variação da frequência de ressonância do sensor provocada pelo carregamento de massa exercido pela adesão de bactérias em sua superfície. Acredita-se que a eficiência do sensor quanto a detecção da presença de bactérias em meios líquidos pode estar associado ao fato destes microrganismos apresentarem adesão preferencial com compostos orgânicos, favorecendo a sua aproximação da superfície contendo o revestimento híbrido, quando comparado à superfície metálica.

Com base nos resultados apresentados, concluiu-se que o revestimento híbrido à base dos precursores alcóxidos de silício TEOS e MAP exerce uma proteção eficaz sobre a liga magnetoelástica Metglas 2826MB3, quando exposta em meio corrosivo. Além

disso, o sensor recoberto pelo revestimento TEOS/MAP mostrou-se adequando para detecção da presença de bactérias nos meios líquidos testados. Diante disso os resultados são encorajadores para o desenvolvimento de sensores que possam detectar bactérias em alimentos.

## REFERÊNCIAS

- AIROLDI, C. e FARIAS, R.F. Alkoxide as precursors in the synthesis of new materials through the sol-gel process. **Química Nova**, v. 27, n.1, 2004.
- ALFAYA, A.A.S. e KUBOTA, L.T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 25, p. 835-841, 2002.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D3359**: Standard Test Methods for Measuring Adhesion by Tape Test. 2009
- \_\_\_\_\_. **ASTM D2247**: Standard Practice for Testing Water Resistance of Coatings in 100% Relative Humidity. 2011
- AMES, B. N.; DURSTON, W. E.; YAMASAKI, E.; LEE, F. D. (1973). Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**. v. 70, n. 8, p. 2281-2285, 1973.
- ANUSAVICE, K.J.; SHEN, C.; RAWLS, H. R. **Phillips: materiais dentários**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- ASADI, N.; NADERI, R.; SAREMI, M. Determination of optimum concentration of cloisite in an eco-friendly silane sol-gel film to improve corrosion resistance of mild steel. **Applied Clay Science**, v. 95, p. 243–251, 2014.
- ASHCROFT, N.W. e MERMIN, N.D. **Solid State Physics**. 2 ed., Belmont: Brooks Cole, 1976.
- ATEBA, C.N.; MBEWE, M. Determination of the genetic similarities of fingerprints from *Escherichia coli* O157:H7 isolated from different sources in the North West Province, South Africa using ISR, BOXAIR and REP-PCR analysis. **Microbiological Research**, v. 168, n. 7, p. 438-446, 2013.
- AUSANIO, G.; BARONE, A.C.; HISON, C.; IANNOTTI, V.; MANNARA, G.; LANOTTE, L. Magnetoelastic sensor application in civil buildings monitoring. **Sensors and Actuators A**, v. 123–124, p. 290–295, 2005.
- BALDIN, E.K.K.; KUNST, S.R.; BELTRAMI, L.V.R.; LEMOS, T.M.; QUEVEDO, M.C.; BASTOS, A.C.; FERREIRA, M.G.S.; SANTOS, P.R.R.; SARMENTO, V.H.V.; MALFATTI, C.F. Ammonium molybdate added in hybrid films applied on tinplate: Effect of the concentration in the corrosion inhibition action. **Thin Solid Films**, v. 600, p. 146–156, 2016.
- BEHRISCH, R. e ECKSTEIN, W. **Sputtering by Particle bombardment**. 1 ed., Berlin: Springer, 2007.
- BEHRISCH, J.; JAEGER, J.; HORLOCK, F.; KITA, N.; FRANZ, P.; PREMIER, R. Survival of *Listeria innocua*, *Salmonella salford* and *Escherichia coli* on the surface of fruit with inedible skins. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, n. 3, p. 249–256, 2003.
- BELTRAMI, M. **Desenvolvimento e construção de sensor magnetoelástico de pH com eletrônica portátil**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2016.
- BIANCHI, D.M.; BARBARO, A.; GALLINA, S.; VITALE, N.; CHIAVACCI, L.; CARAMELLI, M.; DECASTELLI, L. Monitoring of foodborne pathogenic bacteria in vending machine raw milk in Piedmont, Italy. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 435–439, 2013.
- BRINKER, C.J. e SCHERER, G.W. **Sol-gel Science, The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**, Academic Press, San Diego, CA, 1990.

- BRINKMAN, K.; FOX, E.; KORINKO, P.; MISSIMER, D.; ADAMS, T.; SU, D. The role of partial crystallinity on hydrogen permeation in Fe–Ni–B–Mo based metallic glass membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 378, p. 301–307, 2011.
- BRUSCIOTTI, F.; SNIHIROVA, D.V.; XUE, H.; MONTEMOR, M.F.; LAMAKA, S.V.; FERREIRA, M.G.S. Hybrid epoxy–silane coatings for improved corrosion protection of Mg alloy. **Corrosion Science**, v. 67, p. 82–90, 2013.
- BUDHANI, R.C.; GOEL, T.C.; CHOPRA, K.L. Melt-spinning technique for preparation of metallic glasses. **Bulletin of Materials Science**, v. 4, n. 5, p. 549-561, 1982.
- CABRAL, A.M.; DUARTE, R.G.; MONTEMOR, M.F.; FERREIRA, M.G.S.A. Comparative study on the corrosion resistance of AA2024-T3 substrates pre-treated with different silane solutions. **Progress Organic Coating**, v. 54, p. 322-331, 2005.
- CALLISTER Jr., W.D. **Materials Science and Engineering**. 7 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2007.
- CAMPANELLA, L.; NUCCILLI, A.; TOMASSETTI, M.; VECCHIO, S. Biosensor analysis for the kinetic study of polyphenols deterioration during the forced thermal oxidation of extra-virgin olive oil. **Talanta**, v. 74, p. 1287-1298, 2008.
- CAPIOTTO, N. **Uso do silano BTSE como protetivo contra a corrosão de laminados de aço carbono**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- CERTHOUX, E.; ANSART, F.; TURQ, V.; BONINO, J.P.; SOBRINO, J.M.; GARCIA, J.; REBY, J. New sol–gel formulations to increase the barrier effect of a protective coating against the corrosion of steels. **Progress in Organic Coatings**, v. 76 p. 165– 172, 2013.
- CHAI, Y.; WIKLE, H.C.; WANG, Z.; HORIKAWA, S.; BEST, S.; CHENG, Z.; DYER, D.F.; CHIN, B.A. Design of a surface-scanning coil detector for direct bacteria detection on food surfaces using a magnetoelastic biosensor. **Journal of Applied Physics**, v. 114, p. 104504, 2013.
- CHAIBENJAWONG, P. e FOSTER, S.J. Desiccation tolerance in *Staphylococcus aureus*. **Archives of Microbiology**, v. 193, p. 125–135, 2011.
- CHOU, T.P.; CHANDRASEKARAN, C.; LIMMER, S.J.; SERAJI, S.; WU, Y.; FORBESS, M. J.; NGUYEN, C.; CAO, G.Z. Organic-inorganic hybrid coatings for corrosion protection. **Journal of Non-Crystalline Solids**. v. 290, p. 153 -162, 2001.
- COAN, T.; BARROSO, G.S.; MOTZ, G.; BOLZÁN, A.; MACHADO, R.A.F. Preparation of PMMA/hBN composite coatings for metal surface protection. **Materials Research**. v. 16, n. 6, p. 1366-1372, 2013.
- CONOVER, D.M. e GIBSON, K.E. Comparison of two plain soap types for removal of bacteria and viruses from hands with specific focus on food service environments. **Food Control**, v. 69, p. 141–146, 2016.
- CORREA, C.B; PIRES, J.R.; FERNANDES-FILHO, R.R.; SARTORI, R.; VAZ, L.G. Fatigue and fluoride corrosion on *Streptococcus mutans* adherence to titanium-based implant/component surfaces. **Journal of Prosthodontics**, v. 18, p. 382-387, 2009.
- CORRIU, R.J.P. The Control of Nanostructured Solids: A Challenge for Molecular Chemistry. **European Journal Inorganic Chemistry**. v. 5, p. 1109-1121, 2001.
- DALMORO, V.; SANTOS, J.H.Z. DOS; AZAMBUJA, D.S. Corrosion behavior of AA2024-T3 alloy treated with phosphonate-containing TEOS. **Journal Solid State Electrochemistry**, v.16, p.403–414, 2012.

- DE ROBERTS, E. e HIB, J. **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, 2010.
- DHHS - Department of Health and Human Services. **Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing** — Current Good Manufacturing Practice, Guidance for Industry. Pharmaceutical CGMPs, 2004.
- DÜRR, J.W. **Como produzir leite de qualidade**. 4. ed. Brasília: SENAR, 2012. 44 p.
- EBC – Agência Brasil. **Cientistas japoneses criam sensor que detecta alimentos estragados**. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/internacional/noticia/2016-04/cientistas-japoneses-criam-sensor-que-detecta-alimentos-estragados>. Acesso em 25 de julho de 2016.
- EMBRAPA. **Gado de leite: Estatísticas do leite**. Juiz de Fora, 2009. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em: 30 de Agosto de 2016.
- FIGUEIRA, R.B.; SILVA, C.J.R.; PEREIRA, E.V. Organic–inorganic hybrid sol–gel coatings for metal corrosion protection: a review of recent progress. **Journal of Coatings Technology and Research**, v. 12, n. 1, p. 1-35, 2015.
- FLINT, S.; WALKER, K.; WATERS, B.; CRAWFORD, R. Description and validation of a rapid (1 h) flow cytometry test for enumerating thermophilic bacteria in milk powders. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 4, p. 909-915, 2007.
- FRANCO, B.D.G. de M. e LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo: Editora Atheneu, 2002.
- FRANQUET, A.; DE LAET, J.; SCHRAM, T.; TERRY, H.; SUBRAMANIAN, V.; VAN OOIJ, W.J.; VEREECKEN, J. Determination of the thickness of thin silane films on aluminium surfaces by means of spectroscopic ellipsometry. **Thin Solid Films**, v. 384, n. 1, p. 37-45, 2001.
- \_\_\_\_\_; PEN, C. L.; TERRY, H.; VEREECKEN, J. Effect of bath concentration and curing time on the structure of non-functional thin organosilane layers on aluminium. **Electrochimica Acta**, v. 48, n. 9, p. 1245-1255, 2003.
- GABBARDO, A.d'Á. **Influência do pH e do envelhecimento da solução precursora na deposição do revestimento à base de silano BTSE com adição de inibidor Ce(III) e estudo do envelhecimento desse revestimento aplicado sobre aço galvanizado**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- GENTIL, V. **Corrosão**. LTC, 2011, 6ª edição.
- GIL, E.S.; KUBOTA, L.T.; YAMAMOTO, Y.I. Alguns aspectos de imunossaios aplicados à química analítica. **Química Nova**, v. 22, n. 6, p. 874-881, 1999.
- GILBERT, P.; MCBAIN, A.J.; RICKARD, A.H. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. **International Biodeterioration and Biodegradation**. v. 51, p. 245-248, 2003.
- GRIMES, C.A.; ROY, S.C.; RANI, S.; CAI, Q. Theory, Instrumentation and Applications of Magnetoelastic Resonance Sensors: A Review. **Sensors**, v. 11, p. 2809-2844, 2011.
- GU, S.; KONDO, T.; KONNO, M. Preparation of silica–polystyrene core–shell particles up to micron sizes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 272, n. 2, p. 314-320, 2004.

- GUI-LONG, X.; CHANGYUN, D.; YUN, L.; PI-HUI, P.; JIAN, H.; ZHUORU, Y. Preparation and Characterization of Raspberry-like SiO<sub>2</sub> Particles by the Sol-gel Method. **Nanomaterials and Nanotechnology**, v. 1, p. 79-83, 2011.
- GUZMAN-HERNANDEZ, R.; CONTRERAS-RODRIGUEZ, A.; HERNANDEZ-VELEZ, R.; PEREZ-MARTINEZ, I.; LOPEZ-MERINO, A.; ZAIDI, M.B.; ESTRADA-GARCIA, T. Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* spp., non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 237, p. 10–16, 2016.
- HAMMER, P.; SANTOS, F.C.; CERRUTTI, B.M.; PULCINELLI, S.H.; SANTILLI, C.V. Highly corrosion resistant siloxane-polymethyl methacrylate hybrid coatings. **Journal of Sol-Gel Science Technology**, v. 63, p. 266–274, 2012.
- HE, B.; LIAO, L.; XIAO, X.; GAO, S.; WU, Y. Monitoring of *Mycoplasma genitalium* growth and evaluation of antibacterial activity of antibiotics tetracycline and levofloxacin using a wireless magnetoelastic sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 1990–1994, 2009.
- HOOD, S.K. e ZOTTOLA, E.A. Biofilms in food processing. **Food Control**, v. 6, n. 1, p. 9-18, 1995.
- HUANG, S.; PANG, P.; XIAO, X.; HE, L.; CAI, Q.; GRIMES, C.A. A wireless, remote-query sensor for real-time detection of *Escherichia coli* O157:H7 concentrations. **Sensors and Actuators B**, v. 131, p. 489–495, 2008-a.
- \_\_\_\_\_; HU, J.; WAN, J.; JOHNSON, M.L.; SHU, H.; CHIN, B.A. The effect of annealing and gold deposition on the performance of magnetoelastic biosensors. **Materials Science and Engineering C**, v. 28, p. 380–386, 2008-b.
- HUMMERJOHANN, J.; NASKOVA, J.; BAUMGARTNER, A.; GRABER, H.U. Enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* genotype B as a major contaminant in Swiss raw milk cheese. **Journal of Dairy Science**. V. 97, n. 3, p. 1305–1312, 2014.
- IBRAHEM, S. e IBRAHEM, H. Synthesis and Study the Effect of H<sub>2</sub>O/TEOS ratio of the Silica xerogel by Sol- Gel method. **International Archive of Applied Sciences & Technology**, v. 5, p. 01-05, 2014.
- IJIMA, M.; TSUKADA, M.; KAMIYA, H. Effect of surface interaction of silica nanoparticles modified by silane coupling agents on viscosity of methylethylketone suspension. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 305, p. 315-323, 2007.
- IN-62 – Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova e oficializa o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 6, 30 dez. 2011. Seção I.
- ISRAEL TRADE. **Novo teste diagnóstico distingue infecções bacterianas e virais**. Publicado em 21 de outubro de 2016. Disponível em <<http://israeltrade.org.br/noticias/saude/novo-teste-diagnostico-distingue-infeccoes-bacterianas-e-virais>>. Acessado em 2 de novembro de 2016.
- IST. Grupo de Ciências Biológicas do Instituto Superior Técnico. Universidade Técnica de Lisboa. **Crescimento microbiano em biofilmes**. Publicado em 18/11/2005, Revisto em 03/04/2008. Disponível em: <http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=354>. Acesso em 20 de abril 2006 de 2016.
- IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. **Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")**. Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, 2nd ed. Oxford, 1997- 2016.
- IZQUIERDO, F.P.C. e HERNANDEZ, J.M. Biofilm formation in *Escherichia coli* is affected by 3-(N-morpholino) propeno sulfonate (MOPS). **Research in Microbiology**, v. 153, p. 181-185, 2002.

- JAIN, M.K.; SCHMIDT, S.; ONG, K.G.; MUNGLE, C.; GRIMES, C.A. Magnetoacoustic remote query temperature and humidity sensors. *Smart Materials and Structures*, v. 9, p. 502–510, 2000.
- JENSEN, D.A.; FRIEDRICH, L.M.; HARRIS, L.J.; DANYLUK, M.D.; SCHAFFNER, D.W. Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 between lettuce and wash water during home-scale washing. *Food Microbiology*, v. 46, p. 428–433, 2015.
- JERMAN, I.; VUK, A.S.; KOZELJ, M.; SVEGL, F.; OREL, B. Influence of amino functionalised POSS additive on the corrosion properties of (3-glycidoxypropyl)trimethoxysilane coatings on AA 2024 alloy. *Progress in Organic Coatings*, v. 72, p. 334–342, 2011.
- JERÓNIMO, P.C.A.; ARAÚJO, A.N.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Optical sensors and biosensors based on sol–gel films. *Talanta*, v. 72, p. 13–27, 2007.
- JIAO, J.; WANG, L.; LV, P.; LIU, P.; CAI, Y. Low dielectric constant nanoporous silica/PMMA nanocomposites with improved thermal and mechanical properties. *Materials Letters*, v. 109, p. 158–162, 2013.
- JOSE, N. M. e PRADO, L.A.S.A. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p. 281–288, 2005.
- JOTHI, J.; PALANIVELU, K. Synergistic effect of silane-modified nanocomposites for active corrosion protection. *Ceramics International*, v. 39, p. 7619–7625, 2013.
- \_\_\_\_\_. Facile fabrication of core–shell Pr6O11-ZnO modified silane coatings for anti-corrosion applications. *Applied Surface Science*, v. 288, p. 60–68, 2014.
- JUNG, Y. C.; BHUSHAN, B. Contact angle, adhesion and friction properties of micro- and nanopatterned polymers for superhydrophobicity. *Nanotechnology*, v. 17, pp. 4970–4980, 2006.
- KATZ, E. e WILLNER, I. Integrated Nanoparticle–Biomolecule Hybrid Systems: Synthesis, Properties, and Applications. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 43, p. 6042–6108, 2004.
- KHRAMOV, A.N.; BALBYSHEV, V.N.; KASTEN, L.S.; MANTZ, R.A. Sol–gel coatings with phosphonate functionalities for surface modification of magnesium alloys. *Thin Solid Films*, v. 514, p. 174–181, 2006.
- KONG, W.; WEI, R.; LOGRIECO, A.F.; WEI, J.; WEN, J.; XIAO, X.; YANG, M. Occurrence of toxigenic fungi and determination of mycotoxins by HPLC-FLD in functional foods and spices in China markets. *Food Chemistry*, v. 146, p. 320–326, 2014.
- KOUZOUDIS, D. e MOUZAKIS, D.E. A 2826MB Metglas ribbon as a strain sensor for remote and dynamic mechanical measurements. *Sensors and Actuators A*, v. 127, p. 355–359, 2006.
- KROS, A.; JANSEN, J.A.; HOLDER, S.J.; NOLTE, R.M.; SOMMERDIJK, N.A.J.M. Silane-based hybrids for biomedical applications. *Journal of Adhesion Science and Technology*, v. 16, n. 2, p. 143–155, 2002.
- KUMAR, C.G. e ANAND, S.K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 42, p. 9–27, 1998.
- KUNST, S.R.; MATOS, J.; ANTONINI, L.; LUDWIG, G.; FUHR, L.; MALFATTI, C.F. Acero galvanizado pre-tratado con películas híbridas Obtenido por recubrimiento por inmersión: influencia de la velocidad de retirada del sustrato del sol. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, v. 4, p. 97–107, 2013.
- \_\_\_\_\_; CARDOSO, H.R.P.; OLIVEIRA, C.T.; SANTANA, J.A.; SARMENTO, V.H.V.; MULLER, I.L.; MALFATTI, C.F. Corrosion resistance of siloxane-poly(methyl methacrylate)

- hybrid films modified with acetic acid on tin plate substrates: Influence of tetraethoxysilane addition. **Applied Surface Science**, v. 298, p. 1-11, 2014-a.
- \_\_\_\_\_; BELTRAMI, L. V. R.; CARDOSO, H. R. P.; VEGA, M. R. O.; MENEZES, T. L.; MALFATTI, C. F. The effects of curing temperature on bilayer and monolayer hybrid films: mechanical and electrochemical properties. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 44, p. 759-771, 2014-b.
- \_\_\_\_\_; BELTRAMI, L. V. R.; CARDOSO, H. R. P.; SANTANA, J. A.; SARMENTO, V.H.V. ; MULLER, I.L. ; MALFATTI, C.F. Characterization of Siloxane-poly(methyl methacrylate) Hybrid Films Obtained on a Tinplate Substrate Modified by the Addition of Organic and Inorganic Acids. **Materials Research**. v. 18, p. 151-163, 2015.
- LAKSHMANAN, R.S.; GUNTUPALLI, R.; HUA, J.; PETRENKO, V.A.; BARBAREE, J.M.; CHIN, B.A. Detection of Salmonella typhimurium in fat free milk using a phage immobilized magnetoelastic sensor. **Sensors and Actuators B**, v. 126, p. 544–550, 2007.
- LAMAKA, S.V.; MONTEMOR, M.F.; GALIO, A.F.; ZHELUDKEVICH, M.L.; TRINDADE, C.; DICK, L.F.; FERREIRA, M.G.S. Novel hybrid sol–gel coatings for corrosion protection of AZ31B magnesium alloy. **Electrochimica Acta**, v. 53, p. 4773–4783, 2008.
- LI, S.; HORIKAWA, S.; PARK, M-K.; CHAI, Y.; VODYANOY, V.J.; CHIN, B.A. Amorphous metallic glass biosensors. **Intermetallics**, v. 30, p. 80-85, 2012.
- LIANG, C.; MORSHED, S.; PROROK, B.C. Correction for longitudinal mode vibration in thin slender beams. **Applied Physics Letters**, v. 90, p. 221912, 2007.
- \_\_\_\_\_; GOONERATNE, C.; CHA, D.; CHEN, L.; GIANCHANDANI, Y.; KOSEL, J. Development of FeNiMoB thin film materials for microfabricated magnetoelastic sensors. **Journal of Applied Physics**, v. 112, p.113912, 2012.
- LIEBERMANN, H. e GRAHAM, C. Production of amorphous alloy ribbons and effects of apparatus parameters on ribbon dimensions. **IEEE Transactions on Magnetics**, v. 12, n.6, p. 921 – 923, 1976.
- LIONTI, K.; SÉVERIN, I.; DAHBI, L.; TOURY, B.; CHAGNON, M.-C. In vitro genotoxicity assessment of MTES, GPTES and TEOS, three precursors intended for use in food contact coatings. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 76–81, 2014.
- LISHA, R.; HYSEN, T.; GEETHA, P.; AVASTHI, D.K.; RAMANUJAN, R.V.; ANANTHARAMAN, M.R. Structural, topographical and magnetic evolution of RF-sputtered Fe-Ni alloy based thin films with thermal annealing. **Materials Research Express**, v. 1, p. 015707, 2014.
- LJUNGH, A.; HJERTEN, S.; WADSTROM, T. High surface hydrophobicityof autoaggregating staphylococcus aureus strains isolated from human infections studied with the salt aggregation test. **Infection and Immunity**, v. 47, p. 522-526, 1985.
- LONGHI, M.; KUNST, S.R.; BELTRAMI, L.V.R.; KERSTNER, E.K.; SILVA FILHO, C.I.; SARMENTO, V.H.V.; MALFATTI, C.F. Effect of Tetraethoxy-silane (TEOS) Amounts on the Corrosion Prevention Properties of Siloxane-PMMA Hybrid Coatings on Galvanized Steel Substrates. **Materials Research**, v. 18, p. 1140-1155, 2015.
- LU, Q.; LIN, H.; GE, S.; LUO, S.; CAI, Q.; GRIMES, C.A. Wireless, Remote-Query, and High Sensitivity *Escherichia coli* O157:H7 Biosensor Based on the Recognition Action of Concanavalin A. **Analytical Chemistry**, v. 81, p. 5846–5850, 2009.
- LUEDTKE, B.E.; BONO, J.L.; BOSILEVAC, J.M. Evaluation of real time PCR assays for the detection and enumeration of enterohemorrhagic *Escherichia coli* directly from cattle feces. **Journal of Microbiological Methods**, v. 105, n. 0, p. 72-79, 2014.

- MAGRINI, M; MATTEAZZI, P.; FRIGNANI, A. Structural characterization and electrochemical behaviour of Fe-Ni-Mo-B amorphous alloys. **Materials Chemistry and Physics**, v. 13, n.7, p. 1-83, 1985.
- MALFATTI, C.F.; MENEZES, T.L.; RADTKE, C.; ESTEBAN, J.; ANSART, F.; BONINO, J.P. The influence of cerium ion concentrations on the characteristics of hybrid films obtained on AA2024-T3 aluminum alloy. **Materials and Corrosion**, v. 63, p. 819-827, 2011.
- MASIÁ, A.; SUAREZ-VARELA, M.M.; LLOPIS-GONZALEZ, A.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 936, p. 40–61, 2016.
- MAYHALL, C. W. Concerning the composition and source of the acquired enamel pellicle of human teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 15, p. 1327-1341, 1970.
- MAYER, H.C. e KRECHETNIKOV, R. Landau-Levich flow visualization: Revealing the flow topology responsible for the film thickening phenomena, **Physics of Fluids**, v. 24, p. 052103, 2012.
- METGLAS COMPANY. Metglas® 2826MB Magnetic Alloy: Technical Bulletin. Disponível em: <http://www.metglas.com/assets/pdf/2826mb.pdf>. Acessado em 05 dezembro de 2013.
- MENTI, C.; HENRIQUES, J.A.P.; MISSELL, F.P.; ROESCH-ELY, M. Antibody-based magneto-elastic biosensors: potential devices for detection of pathogens and associated toxins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v. 100, n. 14, p. 6149–6163, 2016.a.
- \_\_\_\_\_; BELTRAMI, M.; POSSAN, A.L.; MARTINS, S.T.; HENRIQUES, J.A.P.; SANTOS, A.D.; MISSELL, F.P.; ROESCH-ELY, M. Biocompatibility and degradation of gold-covered magneto-elastic biosensors exposed to cell culture. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 143, p. 111–117, 2016.b.
- MEYER, B. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 51, p. 249-253, 2003.
- MINAMIKI, T.; MINAMI, T.; YOKOYAMA, D.; FUKUDA, K.; KUMAKI, D.; TOKITO S. Extended-gate organic field-effect transistor for the detection of histamine in water. **Japanese Journal of Applied Physics**. V. 54, n. 4S, 2015.
- MOHSENI, M.; BASTANI,S.; JANNESARI, A. Influence of silane structure on curing behavior and surface properties of sol–gel based UV-curable organic–inorganic hybrid coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 77, p. 1191–1199, 2014.
- MOTTE, C.; POELMAN, M.; ROOBROECK, A.; FEDEL, M.; DEFLORIAN, F.; OLIVIER, M.-G. Improvement of corrosion protection offered to galvanized steel by incorporation of lanthanide modified nanoclays in silane layer. **Progress in Organic Coatings**, v. 74, p. 326–333, 2012.
- MORGAN, C.L.; NEWMAN, D.J.; PRICE, C.P. Immunosensors: Technology and Opportunities in Laboratory Medicine. **Clinical Chemistry**, v. 42, p. 193-209, 1996.
- MORRISON, D.W.G.; DOKMECI, M.R.; DEMIRCI, U.; KHADEMHOSEINI, A. **Clinical applications of micro and nanoscale biosensors**. Biomedical Nanostructures. 2007. 507p.
- MOSCON, P.S. **Textura magnética, distribuição de anisotropia e efeitos magnetomecânicos em metais amorfos magnetostriictivos obtidos por Melt-Spinning**. Tese de Doutorado em Física - Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2009.
- MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia médica**. 6 ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2009.

- NAHAR, L. e ARACHCHIGE, I.U. Sol-Gel Methods for the Assembly of Metal and Semiconductor Nanoparticles. **JSM Nanotechnol Nanomed**, v. 1, n. 1, p. 1004, 2013.
- NÖRNBERG, M.F.B.L.; TONDO, E.C.; BRANDELLI, A. Psychrotrophic bacteria and proteolytic activity in refrigerated raw milk. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 37, n. 2, p. 157-163, 2009.
- OLYMPUSIMS. **Surface roughness**. Olympus Inspection & Measurement Systems, 2016. Disponível em: <http://www.olympus-ims.com/pt/knowledge/metrology/roughness/>.
- OOIJ, W.J van. Improved service life of coated metals by engineering the polymer–metal interface. Service life prediction of organic coatings. American Chemical Society, p. 354–377, 1999.
- \_\_\_\_\_; ZHU, D.; PRASAD, G.; JAYASEELAN, S.; FU, Y.; TEREDESAI, N. Silane based chromate replacements for corrosion control, paint adhesion, and rubber bonding. **Surface Engineering, London**, v. 16, n. 5, p. 386–396, 2000.
- \_\_\_\_\_. e ZHU, D. Electrochemical Impedance Spectroscopy of Bis-[Triethoxysilylpropyl]Tetrasulfide on AA2024-T3 Substrates, **Corrosion**, v. 57, p. 413-427, 2001.
- \_\_\_\_\_; ZHU, D. Q.; STACY, M.; SETH, A.; MUGADA, T.; GANDHI, J.; PUOMI, P. Corrosion protection properties of organofunctional silanes: an overview. **Tsinghua Science and Technology**, v. 10, n. 6, p. 639-664, 2005.
- OWENS, G. J.; SINGH, R.K.; FOROUTAN, F.; ALQAYSI, M.; HAN, C-M.; MAHAPATRA, C.; KIM, H-W., KNOWLES, J. Sol–gel based materials for biomedical applications. **Progress in Materials Science**, v. 77, n. 1–79, 2016.
- PALOMINO, L.H.M. **Caracterização microestrutural e eletroquímica de revestimentos ambientalmente amigáveis aplicados sobre a liga de Al 2024-T3**. Tese de Doutorado em Engenharia. Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- PALOMINO, L.H.M.; SUEGAMA, P.H.; AOKI, I.V.; MONTEMOR, M.F.; DE MELO, H.G. Electrochemical study of modified non-functional bis-silane layers on Al alloy 2024-T3. **Corrosion Science**, v. 50, p. 1258–1266, 2008.
- PAN G. e SCHAEFER, D. W. Morphology and water-barrier properties of silane films on aluminum and silicone. **Thin Solid Films**, v. 503, p. 259 – 267, 2006.
- PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotóxicas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 645-651, 2006.
- PLATA-TORRES, M.; TORRES-HUERTA, A.M.; DOMINGUEZ-CRESPO, M.A.; ARCE-ESTRADA, E.M.; RAMIREZ-RODRIGUEZ, C. Electrochemical performance of crystalline Ni–Co–Mo–Fe electrodes obtained by mechanical alloying on the oxygen evolution reaction. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 4142 – 4152, 2007.
- PLUDDMANN, E.P. **Silane coupling agents**. 2 ed. New York; Plenum, 1982. 235p.
- POSSAN, A.L.; MENTI, C.; BELTRAMI, M.; SANTOS, A.D.; ROESCH-ELY, M.; MISSELL, F.P. Effect of surface roughness on performance of magnetoelastic biosensors for the detection of *Escherichia coli*. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 541–547, 2016.
- POULSEN, L.V. Microbial biofilm in food processing. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 32, n. 6, p. 321-326, 1999.

- POZZA, M.D. **Avaliação da influência de diferentes tióis no desempenho de biossensores magnetoelásticos para detecção de *Escherichia coli***. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2016.
- PRESCOTT, L.M.; HARLEY, J.P.; KLEIN, D.A. **Microbiology**, 5 ed., Mc GrawHill, 2002.
- PUIG, J.; ANSART, F.; LENORMAND, P.; ANTOINE, L.; DAILLY, J. Sol-gel synthesis and characterization of barium (magnesium) aluminosilicate glass sealants for solid oxide fuel cells. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 357, p. 3490–3494, 2011.
- QUINET, M.; NEVEU, B.; MOUTARLIER, V.; AUDEBERT, P.; RICQ, L. Corrosion protection of sol-gel coatings doped with an organic corrosion inhibitor: Chloranil. **Progress in Organic Coatings**, v. 58, p. 46–53, 2007.
- RAO, A. V.; KALESH, R. R.; PAJONK, G. M. Hydrophobicity and physical properties of TEOS based silica aerogels using phenyltriethoxysilane as a synthesis componente. **Journal of Materials Science**, v. 38, p. 4407 – 4413, 2003.
- REVISTA GALILEU. **Brasileira cria chip que detecta câncer em 15 minutos**. Publicado em 20 de junho de 2016. Disponível em: <http://revistagalileu.globo.com/Ciencia/noticia/2016/06/brasileira-cria-chip-capaz-de-detectar-18-tipos-de-cancer-em-15-minutos.html>. Acessado em 22 de junho de 2016.
- RIOS, P. F.; DODIUK, H.; KENIG, S.; MCCARTHY, S.; DOTAN, A. The effect of polymer surface on the wetting and adhesion of liquid systems. **Journal Adhesion Science Technology**, v. 21, pp. 227-241, 2007.
- ROMANO, A.-P.; FEDELB, M.; DEFLORIANB, F.; OLIVIER, M-G. Silane sol-gel film as pretreatment for improvement of barrier properties and filiform corrosion resistance of 6016 aluminium alloy covered by cathaphoretic coating. **Progress in Organic Coatings**, v. 72, p. 695– 702, 2011.
- ROSKAMS, J. e RODGERS, L. **Lab Ref: A Handbook of Recipes, Reagents, and Other Reference Tools for Use at the Bench**. 1 ed., Spiral-bound: 2001.
- RUAN, C.; ZENG, K.; VARGHESE, O.K.; GRIMES, C.A. A magnetoelastic bioaffinity-based sensor for avidin. **Biosens Bioelectron**, v. 19, p. 1695-1701, 2004.
- RUTALA, W.A. e WEBER, D.J. **Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities**. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, CDC, 2008.
- SAKAI, R.T.; DI, F.M.; DA CRUZ, L.; DE MELO, H.G.; BENEDETTI, A.V.; SANTILLI, C.V.; SUEGAMA, P.H. Electrochemical study of TEOS, TEOS/MPTS, MPTS/MMA and TEOS/MPTS/MMA films on tin coated steel in 3.5% NaCl solution. **Progress in Organic Coatings**, v. 74, p. 288–301, 2012.
- SAMPAIO, V.S.C.; SOUZA, F.N.; SARAIVA, C.J.C.; SANTOS, R.P.; LEITE, M.O.; RESENDE, G.M.; GONÇALVES, N.C.; DIONIZIO, F.L.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Influência de diferentes tipos de micro-organismos na contagem bacteriana total por citometria de fluxo do leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 607-612, 2015.
- SANCHEZ, C.; RIBOT, F.; ROZES, L.; ALONZO, B. Design of hybrid organic-inorganic materials synthesized via sol-gel chemistry. **New Journal of Chemistry**, v. 18, n. 10, p. 1007-1047, 1994.
- SANTOS, A.D.; SEVERINO, A.M.; MISSELL, F.P. Stress dependence of the magnetic properties of amorphous Co-Fe-Si-B alloys. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 60, p.153-160, 1986.

- SANTOS, C.T. **Efeito das adições de boro na magnetostricção de ligas policristalinas dos sistemas Fe-Al e Fe-Ga.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena. Lorena, 2013.
- SARMENTO, V.H.V.; SCHIAVETTO, M.G.; HAMMER, P.; BENEDETTI, A.V.; FUGIVARA, C.S.; SUEGAMA, P.H.; PULCINELLI, S.H.; SANTILLI, C.V. Corrosion protection of stainless steel by polysiloxane hybrid coatings prepared using the sol-gel process. **Surface and Coating Technology**, v. 204, p. 2689–2701, 2010.
- SCHERER, G.W. Aging and drying of gels. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 100, n.1-3, p. 77-92, 1998.
- SCHOTTNER, G. G. Hybrid sol-gel-derived polymers: applications of multifunctional materials. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 10, p. 3422-3435, 2001.
- SETH, A.; OOIJ, W.J.V.; PUOMI, P.; YIN, Z.; ASHIRGADE, A.; BAFNA, S.; SHIVANE, C. Novel, one-step, chromate-free coatings containing anticorrosion pigments for metals - An overview and mechanistic study, **Progress Organic Coating**, v. 58, p. 136, 2007.
- SHEN, W.; MATHISON, L.C.; PETRENKO, V.A.; CHIN, B.A. A pulse system for spectrum analysis of magnetoelastic biosensors. **Applied Physics Letters**, v. 96, p. 163502, 2010.
- SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Situação epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA.** Ministério da Saúde, Brasil, 2016.
- SMITH, J.L. e FRATAMICO, P.M. *Escherichia coli* and Other *Enterobacteriaceae*: Food Poisoning and Health Effects. **Reference Module in Food Science, from Encyclopedia of Food and Health**, p. 539-544, 2016.
- SON, H.; PARK, S.; BEUCHAT, L.R.; KIM, H.; RYU, J.-H. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by antimicrobial biofilms formed by competitive exclusion microorganisms on stainless steel. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 165–171, 2016.
- SONG, X.; WANG, X.; WANG, H.; ZHONG, W.; DU, Q. PMMA/silica hybrid thin films with enhanced thermal properties prepared via a non-hydrolytic sol-gel process. **Materials Chemistry and Physics**, v. 109, p. 143-147, 2008.
- STARK, F.O.; FALENDER, J. R.; WRIGHT, A. P., **Silicones.** In *Comprehensive Organometallic Chemistry*, v. 2, p. 305, Pergamon Press: Oxford, 1982.
- SUEGAMA, P.H.; SARMENTO, V.H.V.; MONTEMOR, M.F.; BENEDETTI, A.V.; MELO, H.G. DE; AOKI, I.V.; SANTILLI, C.V. Effect of cerium (IV) ions on the anticorrosion properties of siloxane-poly(methyl methacrylate) based film applied on tin coated steel. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 5100–5109, 2010.
- TATINENI, S.; SARATH, G.; SEIFERS, D.; FRENCH, R. Immunodetection of Triticum mosaic virus by DAS- and DAC-ELISA using antibodies produced against coat protein expressed in *Escherichia coli*: Potential for high-throughput diagnostic methods. **Journal of Virological Methods**, v. 189, N. 1, p. 196-203, 2013.
- TEIXEIRA, O.P.B. Mecânica dos fluidos: algumas considerações sobre a viscosidade. In: XVI Simpósio Nacional de Ensino de Física, 16, 2005, Rio de Janeiro. Resumos... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Física, 2005. p.171.
- TIAN, Z.; SHI, H.; LIU, F.; XU, S.; HAN, E-H. Inhibiting effect of 8-hydroxyquinoline on the corrosion of silane-based sol-gel coatings on AA 2024-T3. **Progress in Organic Coatings**, v. 82, p. 81–90, 2015.

- TONG, S.Y.; DAVIS, J.S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND T.L.; FOWLER JR, V.G. "Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management." **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.
- TORMES, C.D.; BELTRAMI, M.; CRUZ, R.C.D.; MISSELL, F.P. Characterization of drying stress using magnetoelastic sensors. **NDT & International**, v. 66, p. 67-71, 2014.
- TUMANSKI, S. **Handbook of Magnetic Measurements**. Warsaw University of Technology Poland. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011.
- VAISOCHEROVÁ-LÍŠALOVÁ, H.; VÍŠOVÁ, I.; ERMINI, M.L.; ŠPRINGER, T.; SONG, X.C.; MRÁZEK, J.; LAMAČOVÁ, J.; LYNN Jr., N.S.; ŠEDIVÁK, P.; HOMOLA, J. Low-fouling surface plasmon resonance biosensor for multi-step detection of foodborne bacterial pathogens in complex food samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 80, p. 84–90, 2016.
- VIEIRA, D.A.P. e QUEIROZ, N.C. A. **Microbiologia Geral**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.
- VIGNESH, R.B. e SETHURAMAN, M.G. Corrosion protection behaviour of sol–gel derived N,N-dimethylthiourea doped 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane on aluminium. **Progress in Organic Coatings**, v. 77, p. 136–141, 2014.
- WALTER, G. W. A review of impedance plot methods used for corrosion performance analysis of painted metals. **Corrosion Science**, v. 26, n. 9, p. 681-703, 1986.
- WANG, D. E BIERWAGEN, G.P. Review: Sol–gel coatings on metals for corrosion protection. **Progress in Organic Coatings**, v. 64, p. 327–338, 2009.
- WANG, Z.; XIAO, G.; ZHOU, N.; QI, W.; HAN, L.; RUAN, Y.; GUO, D.; ZHOU, H. Comparison of two methods for detection of fecal indicator bacteria used in water quality monitoring of the Three Gorges Reservoir. **Journal of Environmental Sciences**, v. 38, p. 42–51, 2015.
- WARNER, T.J.; SCHMIDT, M.P.; SOMMER, F.; BELLOT, D. Characterization of corrosion initiation on 2024 aluminium alloy by atomic force microscopy. **Zeitschrift für Metallkunde**, v. 86, n. 7, p. 494-501, 1995.
- WEN, S.; LESLIE, C. M.; VALERY, A. P.; BRYAN, A. C. Design and characterization of a magnetoelastic sensor for the detection of biological agents. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 43, n. 1, p. 015004, 2010.
- WEST, J.M. Basic Corrosion and Oxidation. 1 ed., New York: Halsted Press, 1980.
- WOLYNECK, S. **Técnicas eletroquímicas em corrosão**. 1 ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003.
- WU, L-K.; ZHANG, J-T.; HU, J-M.; ZHANG, J-Q. Improved corrosion performance of electrophoretic coatings by silane addition. **Corrosion Science**, v. 56, p. 58–66, 2012.
- XUE, D.; OOIJ, W.J.V. Corrosion performance improvement of hot-dipped galvanized (HDG) steels by electro-deposition of epoxy-resin-ester modified bis-[tri-ethoxy-silyl] ethane (BTSE) coating. **Progress in Organic Coatings**, v. 76, p. 1095– 1102, 2013.
- YANG, H.; WANG, L.F.C.; ZHAO, W.; LI, X. Confinement effect of SiO<sub>2</sub> framework on phase change of PEG in shape-stabilized PEG/SiO<sub>2</sub> composites. **European Polymer Journal**, v. 48, p. 803–810, 2012.
- YOSHIDA, N., TYLER, K.M., LLEWELLYN, M.S. Invasion mechanisms among emerging food-borne protozoan parasites. **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 10, p. 459-466, 2011.

- YUE, Y-Y.; LIUA, Z-X.; WAN, T-T.; WANG, P-C. Effect of phosphate–silane pretreatment on the corrosion resistance and adhesive-bonded performance of the AZ31 magnesium alloys. **Progress in Organic Coatings**, v. 76, p. 835– 843, 2013.
- ZHEN-XI, W.; MEI-YIN, F.; XIONG-YIAO, S.; ROTH, M.; ZHI-YOU, Z. Magnetic measurements and small-angle neutron scattering (sans) study of some amorphous Fe-Ni-Mo-B alloys. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 28, p. 143-148, 1982.
- ZHU, D. e OOIJ, W.J. Van. Corrosion protection of AA 2024-T3 by bis-[3-(triethoxysilyl)propyl]tetrasulfide in neutral sodium chloride solution. Part 1: corrosion of AA 2024-T3. **Corrosion Science**, v. 45, p. 2177-2197, 2003.
- ZHELUDKEVICH, M. L.; SALVADO, I.M.; FERREIRA, M.G.S. Sol-gel coatings for corrosion protection of metals. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, p. 5099-5111, 2005.