

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS E TECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DE SENSOR
MAGNETOELÁSTICO
DE pH E COM ELETRÔNICA PORTÁTIL

Mateus Beltrami

Orientador: Prof. Dr. Frank Patrick Missell
Co-Orientador: Prof. Dr. Gunther J. L. Gerhardt

Caxias do Sul, junho de 2016

Mateus Beltrami

Desenvolvimento e construção de sensor magnetoelástico de pH com eletrônica portátil, dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processo e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando obtenção de grau de Mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, orientação de Frank P. Missell e co-orientação de Gunther J. L. Gerhardt.

Caxias do Sul 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

B453d Beltrami, Mateus, 1977-

Desenvolvimento e construção de sensor magnetoelástico de pH com eletrônica portátil / Mateus Beltrami. – 2016.

124 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, 2016.

Orientação: Prof. Frank P. Missell ; Coorientação: Prof. Gunther J. L. Gerhardt.

1. Eletromagnetismo. 2. Aparelhos e materiais eletrônicos. 3. Ressonância magnética. 4. pH (Química). I. Título.

CDU 2. ed.: 537

Índice para o catálogo sistemático:

1. Eletromagnetismo	537
2. Aparelhos e materiais eletrônicos	621.38
3. Ressonância magnética	543.429.2
4. pH (Química)	543.554.2

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Paula Fernanda Fedatto Leal – CRB 10/2291

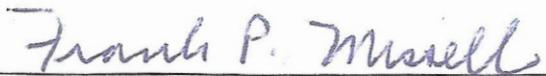
**“DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DE SENSOR MAGNETOELÁSTICO DE PH E
COM ELETRÔNICA PORTÁTIL.”**

Mateus Beltrami

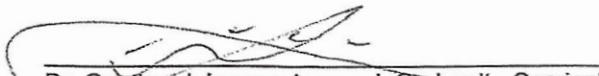
Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos e Produtos Industriais.

Caxias do Sul, 27 de junho de 2016.

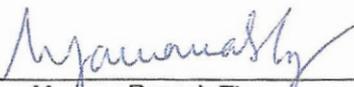
Banca Examinadora:



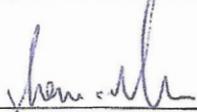
Dr. Frank Patrick Missell - Orientador
Universidade de Caxias do Sul



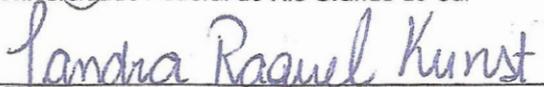
Dr. Gunther Johannes Lewczuk Gerhardt - Coorientador
Universidade de Caxias do Sul



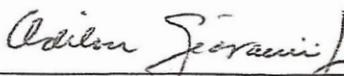
Dra. Mariana Roesch Ely
Universidade de Caxias do Sul



Dr. Thomas Gabriel Rosauro Clarke
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Dra. Sandra Raquel Kunst
Universidade de Caxias do Sul



Dr. Odilon Giovannini junior
Universidade de Caxias do Sul

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Lílian V. Rossa Beltrami por me apoiar e incentivar todos os dias, com muito carinho e amor.

Aos meus pais Oly Beltrami e Cecília T. Beltrami juntamente aos meus sogros Ivo Rossa e Jurema C. Rossa pelo apoio e incentivo

Ao orientador Dr. Frank P. Missell por estar sempre presente e não medir esforços nas orientações e acompanhamento das atividades no laboratório. Seu conhecimento, experiência e dedicação foram essenciais para que mais esse objetivo fosse atingido.

Ao co-orientador Dr. Günther J. L. Gerhardt pela amizade e pela transmissão de seu conhecimento dando suporte ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao bolsista de iniciação científica Pablo Berwig pela ajuda no desenvolvimento de *software* pertinente para o estudo.

Aos colegas do Laboratório de Caracterização Magnética, André L. Possan Alessandro Dalponte, Eduardo Bastos, Márcia Dalla Pozza, Lucas Ramos Vieira e Joana Meneguzzo Pasquali, pela amizade construída e pelo aprendizado. A troca de ideias e o conhecimento, somados aos momentos de descontração foram imprescindíveis para o êxito desse trabalho.

A Universidade de Caxias do Sul pela qualidade na formação de seus alunos e a infraestrutura.

Ao Laboratório de Proteômica, Genômica e Reparo de DNA (LPGRD), especialmente para Mariana Roesch Ely e Caroline Menti que contribuíram com seu conhecimento.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do projeto e de minha vida acadêmica.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS, TECNOLÓGICAS OU DE INOVAÇÃO DA PROPOSTA.....	17
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
4.1	SENSORES MAGNETOELÁSTICOS.....	18
4.1.1	FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DO SENSOR.....	19
4.1.2	SENSIBILIDADE DE MASSA.....	20
4.1.3	TAMANHO DO SENSOR.....	21
4.1.4	FATOR Q.....	22
4.1.5	EFEITO ΔE	23
4.2	SENSORES COM MATERIAL MAGNETOELÁSTICO.....	26
4.2.1	BIOSSENSORES.....	26
4.2.2	SENSORES DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH.....	28
4.2.3	SENSORES DE DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS.....	34
4.3	RUGOSIDADE DO MATERIAL MAGNETOELÁSTICO.....	35
4.4	SISTEMAS DE DETECÇÃO E INSTRUMENTAÇÃO DE SENSORES MAGNETOELÁSTICOS.....	35
4.4.1	MEDIDAS NO DOMÍNIO DO TEMPO.....	35
4.4.2	MEDIDAS NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA.....	37
4.4.3	MEDIDAS DE IMPEDÂNCIA.....	38
4.4.4	DISPOSITIVO PORTÁTIL.....	39
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
5.1	MATERIAL MAGNETOELÁSTICO.....	42
5.2	PREPARAÇÃO DO SENSOR.....	42
5.2.1	CORTE DO MATERIAL.....	42
5.2.2	ESTRUTURA DO SENSOR (BIOSSENSOR).....	44
5.3	PREPARAÇÃO DO ORGANISMO MODELO.....	44
5.4	CONTAGEM DIRETA DE <i>S. CEREVISIAE</i>	45
5.5	SENSOR DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH.....	46
5.5.1	PRODUÇÃO DO POLÍMERO SENSÍVEL AO pH.....	46

5.5.2 APLICAÇÃO DO POLÍMERO SENSÍVEL AO pH AO MATERIAL MAGNETOELÁSTICO.....	47
5.6 SISTEMA DE DETECÇÃO ATRAVÉS DE BOBINA DE HELMHOLTZ	47
5.7 SISTEMA DE AQUISIÇÃO ATRAVÉS DE ANALISADOR DE REDE.....	50
5.8 DISPOSITIVO PORTÁTIL.....	52
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	58
6.1 INTERFERÊNCIAS NAS MEDIDAS DO ANALISADOR DE REDE	58
6.2 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE OPERAÇÃO NO ANALISADOR DE REDE ..	59
6.3 ESTABILIDADE DO SISTEMA DE LEITURA: ANALISADOR DE REDE.....	62
6.3.1 PRIMEIRO CASO	62
6.3.2 SEGUNDO CASO	63
6.3.3 TERCEIRO CASO	63
6.4 VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA PARA <i>S. CEREVISIAE</i> E SENSIBILIDADE DE MASSA	64
6.4.1 VARIAÇÃO TEÓRICA.....	65
6.4.2 TESTES COM <i>S. CEREVISIAE</i>	66
6.5 MEDIDAS COM DISPOSITIVO PORTÁTIL	68
6.5.1 MEDIDAS COM SENSORES DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH.....	71
7 CONCLUSÕES.....	74
8 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	75
9 APOIO FINANCEIRO PARA O PROJETO	76
10 REFERÊNCIAS	77
Apêndice 1: Software de gerenciamento Lock-In	83
Apêndice 2: Programa em linguagem “C” de comando do analisador de rede.....	92
Apêndice 3: Software de controle do dispositivo portátil	108
Apêndice 4: Software para computador gerenciar dispositivo portátil	119
Apêndice 5: Esquema eletrônico utilizado no dispositivo portátil	124

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE MASSA VARIANDO O COMPRIMENTO DO SENSOR, MANTENDO A ESPESSURA EM 29 μM , MOSTRANDO JUNTAMENTE A FREQUÊNCIA FUNDAMENTAL (EQUAÇÕES 1 E 5).....	22
TABELA 2: PROPRIEDADES DO METGLAS [®] 2826MB3:	42
TABELA 3: PROPRIEDADES DA <i>S. CEREVISIAE</i>	45
TABELA 4: CARACTERÍSTICAS DO MICROCONTROLADOR PIC18F4550	54
TABELA 5: CÁLCULO DO CAMPO MAGNÉTICO (DC BIAS):	60
TABELA 6: FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA EM QUATRO COMPRIMENTOS DISTINTOS.	70

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO DE OPERAÇÃO DO SENSOR MAGNETOELÁSTICO (ADAPTADO DE GRIMES ET AL., 2011).	18
FIGURA 2: FABRICAÇÃO DE FITAS AMORFAS ATRAVÉS DO PROCESSO DE <i>MELT SPINNING</i> . ADAPTADO DE HANDBOOK (2011).....	19
FIGURA 3: VARIAÇÃO DO FATOR Q (LI ET AL., 2012).	23
FIGURA 4: EVOLUÇÃO DA ESTRUTURA DE DOMÍNIOS E DO MÓDULO DE YOUNG E COM A APLICAÇÃO DE UM CAMPO MAGNÉTICO H (ADAPTADO DE COEY, 2009).....	24
FIGURA 5: DEFORMAÇÃO VERSUS TENSÃO DE MATERIAL MAGNÉTICO EM REGIME ELÁSTICO (ADAPTADO DE O'HANDLEY, 2000).....	25
FIGURA 6: FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA (MARCADORES SÓLIDOS) E AMPLITUDE DO SINAL (MARCADORES VAZADOS) VERSUS O CAMPO MAGNÉTICO DC PARA UMA FITA METGLA [®] 2826MB3 (TORMES ET AL., 2014).	25
FIGURA 7: PRINCÍPIO DE OPERAÇÃO DO SISTEMA DE DETECÇÃO DE PATÓGENOS (ADAPTADO DE XIE ET AL., 2009).	27
FIGURA 8: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DE UM BIOSSENSOR EXPOSTO A UM MICRORGANISMO (CHAI ET AL., 2013C).	28
FIGURA 9: REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DO POLÍMERO SENSÍVEL AO pH (ADAPTADO DE CAI E GRIMES, 2000)	30
FIGURA 10: REPRESENTAÇÃO DO POLÍMERO DE pH EM MEIO ÁCIDO, NEUTRO E ALCALINO. ...	31
FIGURA 11: REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DA SAM SOBRE SUPERFÍCIE DO AU DEVIDO A QUEBRA DA LIGAÇÃO ENTRE OS ÁTOMOS DE ENXOFRE (S) (ADAPTADO DE MOSSANHA, 2011).	32
FIGURA 12: APRESENTAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O SENSOR DE pH. A RESPOSTA EM FREQUÊNCIA É NORMALIZADA PARA O VALOR DO pH 1,3 MEDIDO (ADAPTADO DE MAHAVEER ET AL., 2001).	33
FIGURA 13: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO PROCEDIMENTOS PARA A IMOBILIZAÇÃO DE PENICILINASE SOBRE O POLÍMERO SENSÍVEL AO pH NO SENSOR MAGNETOELÁSTICO (E: PENICILINASE). (ADAPTADO DE GAO ET AL. 2009).....	34
FIGURA 14: REPRESENTAÇÃO DO PROCESSO DE DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DE UM SENSOR (ADAPTADO DE GRIMES ET AL., 2002 E ZENG E GRIMES, 2007).....	36
FIGURA 15: SISTEMA DE DETECÇÃO NO DOMÍNIO DO TEMPO (ADAPTADO DE GRIMES ET AL., 2002).	36

FIGURA 16: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA DE MEDIDA DO SENSOR COM AMPLIFICADOR SINTONIZADO <i>LOCK-IN</i> (ADAPTADO DE TORMES, 2014).	38
FIGURA 17: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE LIGAÇÃO DE ANALISADOR DE REDE	39
FIGURA 18: DIAGRAMA DE BLOCOS DO CIRCUITO BASEADO EM MICROCONTROLADOR PARA DETERMINAR A FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DE SENSORES MAGNETOELÁSTICOS (ADAPTADO DE ZENG ET AL. 2002).	40
FIGURA 19: ESPECTRO RBS DAS CAMADAS DE Cr E Au DEPOSITADAS SOBRE A SUPERFÍCIE DE SILÍCIO. FONTE: PROF. AD SANTOS, INSTITUTO DE FÍSICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (IFUSP)	43
FIGURA 20: CÂMARA DE NEUBAUER.....	46
FIGURA 21: (A) IMAGEM DE MICROSCÓPIO DAS CÉLULAS DE <i>S. CEREVISIAE</i> SOBRE CÂMERA NEUBAUER; (B) CONTAGEM EXECUTADA PELO SOFTWARE IMAGEJ 1.48.	46
FIGURA 22: CONJUNTO DE DOIS PARES DE DIÂMETROS DIFERENTES DE BOBINA DE HELMHOLTZ, EM ARRANJO CONCÊNTRICO	48
FIGURA 23 :INSTRUMENTAÇÃO PARA UTILIZAR BOBINA DE HELMHOLTZ, COMPOSTO POR AMPLIFICADOR <i>LOCK-IN</i> , FONTE DC E GERADOR DE FUNÇÃO.....	49
FIGURA 24: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA DE MEDIDA DO SENSOR.	49
FIGURA 25: ANALISADOR DE REDE.	50
FIGURA 26: DIAGRAMA DE BLOCOS ANALISADOR DE REDE (ADAPTADO AGILENT TECHNOLOGIES).....	51
FIGURA 27: ESQUEMA DE LIGAÇÃO DE ANALISADOR DE REDE. A) MÉTODO GANHO E FASE; B) PARÂMETRO S_{11}	51
FIGURA 28: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO FUNCIONAMENTO DO APARELHO	53
FIGURA 29 : PINAGEM DO MICROCONTROLADOR PIC18F4550 (<i>MICROCHIP TECHNOLOGY INC.</i>)	53
FIGURA 30: (A) TECLADO NUMÉRICO MATRICIAL; (B) DISPLAY DE LCD ALFANUMÉRICO.	55
FIGURA 31: (A) REPRESENTAÇÃO DA ONDA SENOIDAL EM MAGNITUDE. (B) REPRESENTAÇÃO DA ONDA SENOIDAL EM FUNÇÃO DA FASE. (ADAPTADO ANALOG DEVICES)	56
FIGURA 32: DISPOSITIVO PORTÁTIL.	57
FIGURA 33: CAIXA DE BLINDAGEM PARA BOBINA DE LEITURA DE FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA	58
FIGURA 34: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA COM A TEMPERATURA APLICANDO VALORES DIFERENTES DE CAMPOS ATRAVÉS DA DC (<i>BIAS</i>).	59

FIGURA 35: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA E AMPLITUDE EM FUNÇÃO DE CAMPO MAGNÉTICO DC APLICADO, ONDE A LINHA VERMELHA REPRESENTA O PONTO DE MAIOR AMPLITUDE E FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA MÍNIMA.	61
FIGURA 36: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA O SENSOR EXPOSTO AO LABORATÓRIO.	62
FIGURA 37: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA O SENSOR EM CAIXA DE POLIESTIRENO.	63
FIGURA 38: VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DO SENSOR IMERSO EM ÁGUA DESTILADA EM FUNÇÃO DO TEMPO.	64
FIGURA 39: VARIAÇÃO RELATIVA DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA COM IMERSÃO EM <i>S. CEREVISIAE</i>	67
FIGURA 40: (A) MICROSCOPIA DO SENSOR MAGNETOELÁSTICO SEM RECOBRIMENTO. (B) FUNCIONALIZADO COM POLI-L-LISINA, AMBOS EM AMPLIAÇÃO DE 10.000 VEZES. (C) MICROSCOPIA DO SENSOR FUNCIONALIZADO COM POLI-L-LISINA E CÉLULAS DE <i>S. CEREVISIAE</i> , CAPTURADAS AMPLIAÇÃO DE 20.000 VEZES.	68
FIGURA 41: COMPARAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA NOS DISPOSITIVOS	69
FIGURA 42: FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA PARA 4 TAMANHOS DIFERENTES DE FITAS DE UM CONJUNTO.	70
FIGURA 43: DECREMENTO E INCREMENTO DE pH EM SENSOR SENSÍVEL AO pH (30 x 5 x 0,03 mm) UTILIZANDO ANALISADOR DE REDE.	71
FIGURA 44: DECREMENTO E INCREMENTO DE pH EM SENSOR SENSÍVEL AO pH (30 x 5 x 0,03 mm) UTILIZANDO DISPOSITIVO PORTÁTIL.	72
FIGURA 45: DECREMENTO E INCREMENTO DE pH EM SENSOR SENSÍVEL AO pH (5 x 1 x 0,03 mm) UTILIZANDO ANALISADOR DE REDE.	73

NOMENCLATURAS

AC – Corrente alternada

AIBN – 2,2-azobis (isobutironitrilo)

Au – Ouro

°C – Graus Celsius

CCD – *Charge-coupled device*

Cr – Cromo

CTI – Centro de Tecnologia da Informação

CYS – Cistamina

DC – Corrente contínua

DDS – Síntese digital direta

DMF – Dimetilformamida

FFT – Transformada rápida de Fourier

H – Hidrogênio

Hz – Hertz

IB – Instituto de Biotecnologia

IFUSP – Instituto de Física da Universidade de São Paulo

K – Potássio

KHz – Quilohertz

LCD – Display de cristal líquido

LCM – Laboratório de Caracterização Magnética

LPGRD – Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA

LPQM – Laboratório de Pesquisa de Química de Materiais

ml – Mililitros

mm – Milímetros

N – Nitrogênio

Oe – Orsted

PBS – *Phosphate Buffer Saline*

P-COOH – parte sensível do polímero

PEGD – Poli (etileno-glicol) diacrilato

pg – Picograma

pH – Potencial hidrogênico

RBS - *Rutherford Backscattering Spectroscopy*

RF – Radiofrequência

RMS – valor quadrático médio)

SAM – *Self Assembled Monolayers*

Torr – Torricelli

UCS – Universidade de Caxias do Sul

µm – Micrometros

V – Volts

YEPD – *Yeast Extract Peptone Dextrose*

RESUMO

Sensores com material magnetoelástico vêm sendo desenvolvidos pois possibilitam medidas sem contato de fios (*wireless*). Apresentam variação da frequência de ressonância (redução) quando submetidos a um carregamento de massa. Podem ser empregados para detecção e determinação de grandezas físicas através de instrumentação remota que vem se tornando cada vez mais importante. As grandezas podem ser desde a quantificação de pH até a detecção da presença de microrganismos. Neste trabalho descrevemos um sistema de detecção rápida e *wireless* de grandezas físicas como pH e a presença de microrganismos. São utilizados como substrato tiras de material magnetoelástico amorfo Metglas 2826MB3. O material foi cortado em tamanhos de 30 mm x 6 mm e 5 mm x 1 mm, através de uma serra de micro corte, sendo parte destas logo em seguida foram revestidas com finas camadas de Cr e Au através de *sputtering*. Foi desenvolvido um dispositivo portátil com a função de análise de frequência de ressonância das fitas magnetoelásticas. Este dispositivo pode operar completamente de forma autônomo ou em conjunto com computador. Ele é composto de um central de processamento, circuitos auxiliares e interface de entrada e saída de dados. A operação do dispositivo portátil está em expor o material magnetoelástico (transdutor/sensor) a um campo magnético variável com o tempo, que por sua vez responde com uma onda elástica longitudinal que é detectada de forma magnética. Foram realizados ensaios com o transdutor (superfície livre) e também após a aplicação de camadas sensíveis ao pH e bem como a captura de microrganismo. Para os sensores detectores de pH foram utilizadas tiras do transdutor revestidas com Cr e Au sendo nestas aplicada uma camada de cistamina (CYS) para gerar aderência do polímero de pH sintetizado a partir de monómeros de ácido acrílico e acrilato de isooctilo. O sensor de pH foi exposto a uma faixa de pH (1,5 a 7,5) sendo analisado através do dispositivo portátil e comparado com analisador de rede Agilent E5061B. As medidas da frequência de ressonância do sensor de pH apresentaram uma variação de 70 Hz/pH para sensores 30 mm x 5 mm e para sensores de 5 mm x 1 mm foi de 1000 Hz/pH. Também foram realizadas medidas com o transdutor funcionalizado com Poli-L-Lisina para captura de *S. cerevisiae*. Com a aderência da *S. cerevisiae* à superfície do sensor, houve uma redução da frequência de ressonância em 531 Hz, que concorda quantitativamente com valores calculados para este carregamento de massa.

Palavras-chave: Magnetoelástico, pH, cistamina, dispositivo portátil.

ABSTRACT

Sensors with magnetoelastic materials are being developed for possible wireless measurements. They show variation of the resonance frequency (decrease) when subjected to a loading mass. May be employed for detection and determination of physical quantities via remote instrumentation that is becoming increasingly important. These quantities could be the pH of a solution or the detection of the presence of microorganisms. In this work, we describe a rapid and wireless detection system for physical quantities such as pH and the presence of microorganisms. We used as substrates strips of amorphous magnetoelastic material Metglas 2826MB3. The material was cut into strips with sizes of 30 mm x 6 mm and 5 mm x 1 mm, using a micro-dicing saw. Part of these were coated with thin layers of Cr and Au through sputtering. We developed a portable electronic device with the function of determining the resonance frequency of the magnetoelastic strips. This device can operate completely standalone or in conjunction with a computer. It is composed of a central processing, auxiliary circuits and input and output interface of data. The portable device produces a variable magnetic field, which in turn produces a longitudinal elastic wave which is detected magnetically. Tests were carried out with the bare transducer as well as after the application of pH-sensitive layers or material for the capture of microorganisms. For pH sensors we used transducer strips coated with Cr and Au and then applied a layer of cystamine (CYS) to promote adherence to the copolymer of acrylic acid and iso-octyl acrylate. The pH sensor was exposed to a range of pH (1.5 to 7.5) and was measured using the portable device and compared with results from an Agilent E5061B Network Analyzer. The measurements of the resonance frequency of the pH sensor showed a 70 Hz/pH variation for strips of 30 mm x 6 mm and 1000 Hz/pH for strips measuring 5 mm x 1 mm. Measurements were also carried out with the transducer functionalized using poly-l-lysine to capture *S. cerevisiae*. With the adherence of *S. cerevisiae* on the sensor surface, there was a reduction of the resonance frequency 531 Hz, which agrees quantitatively with values calculated for mass loading.

Keywords: magnetoelastic, pH, cysteine, portable device.

1 INTRODUÇÃO

A detecção de microrganismos entre outros parâmetros prejudiciais aos seres humanos vem sendo amplamente estudado, sendo uma área vital para a sobrevivência e a evolução de qualquer sociedade organizada. No mundo estima-se que 600 milhões de pessoas ficam doentes após ingerir alimentos contaminados, representando quase 1 em cada 10 pessoas e 420.000 morrem a cada ano, segundo a World Health Organization (2016). No Brasil dados oficiais apresentados no IDB-2012 (Indicadores e Dados Básicos – Brasil – 2012) encontrados na Biblioteca Virtual em Saúde – Ministério da Saúde (2015) apontam que no ano de 2011 aconteceram 49.175 mortes ocasionadas por doenças infecciosas e parasitárias.

Assim, a detecção de forma rápida, precisa e com alta seletividade se torna um fator importante no controle desses organismos patogênicos (HOBSON *et al.*, 1996). Uma alternativa tecnológica na detecção de patógenos em tempo real é a utilização de biossensores magnetoelásticos. Este sistema consiste em um transdutor (ressonador), formado por uma liga magnetoelástica amorfa, revestido por um elemento de reconhecimento biomolecular, que apresenta ligação de captura específica ao patógeno alvo (CAI *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2010a e CHAI *et al.*, 2013a).

O princípio de detecção deste biossensor baseia-se na propriedade de magnetostricção Joule do material amorfo. Quando o material é submetido a um campo magnético variável no tempo, ocorre uma vibração longitudinal, com frequência característica, que altera suas dimensões (LI *et al.*, 2012). Uma pequena massa aderida à superfície do sensor provoca uma variação na frequência (GRIMES *et al.*, 2011). A grande vantagem na utilização deste método de detecção está no fato de que o sensoriamento pode ser promovido sem a utilização de conexões físicas diretas (considerado, portanto, um monitoramento *wireless*).

Análises da resposta magnética consideram as interações do campo magnético com a magnetização do sensor. Uma propriedade física que se relaciona fortemente com a capacidade de detecção desse sistema é a magnetoestricção (O' HANDLEY, 2000), o qual relaciona a deformação do material com a magnetização do material. O efeito ΔE que é resultado da magnetostricção, determina o ponto de operação do sensor e sua sensibilidade. Outro parâmetro observado na resposta da ressonância é o “fator Q”, que expressa a qualidade da resposta do sensor em estudo, juntamente com todo o sistema

(sensor, bobina e aparelho de leitura). A qualidade é determinada dividindo a altura do pico pela sua largura a meia altura, sendo assim quanto maior o valor de Q, mais nítido o pico de ressonância (LI *et al.*, 2012).

A determinação de pH está presente nos processos industriais onde se controla desde a qualidade da matéria prima ao produto final e em muitos casos o próprio processo produtivo. A grandeza aparece também na gestão de várias doenças incluindo bacteriúria, cálculo renal e terapia de drogas (PANG *et al.*, 2007).

O presente estudo pretende criar um sistema de monitoramento remoto em tempo real, com fitas magnetoelásticas, identificando as condições para ser aplicado no desenvolvimento de sensores que detectam variações de pH e biossensores. Este dispositivo poderia facilitar o uso de uma tecnologia nacional importante, com a simplificação da infraestrutura necessária quando comparado ao processo atualmente empregado no laboratório. Serão realizadas medidas de pH com soluções pH padronizadas. Juntamente serão realizadas medidas com um patógeno alvo como microrganismo modelo a *Saccharomyces cerevisiae*, por ser um organismo amplamente conhecido e de fácil manipulação.

Trabalhos anteriormente realizados no Laboratório de Caracterização Magnética (LCM) da Universidade de Caxias do Sul sobre secagem de material cerâmico realizado por Tormes (2014) e quantificação de *Escherichia coli* com a utilização de um biosensor empregando o material magnetoelástico realizado por Possan (2015), utilizaram equipamentos comerciais como amplificador sintonizado Lock-In e o analisador de rede. Neste trabalho, um sistema portátil, construído no LCM, será caracterizado e comparado ao analisador de rede.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um dispositivo portátil para a detecção remota da frequência de ressonância usando uma plataforma de sensoriamento magnético.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Projetar e construir o dispositivo portátil;
- Validar o sistema de leitura do dispositivo portátil através da quantificação remota, comparando com sistema convencional (analisador de rede), através de medidas de frequência de ressonância.
- Desenvolver e construir um sensor de detecção de variação de pH;

3 PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS, TECNOLÓGICAS OU DE INOVAÇÃO DA PROPOSTA

Desenvolvimento de um dispositivo portátil para sistema de monitoramento remoto em tempo real com material magnetoelástico (Metglas®2826MB3), identificando as condições ideais de utilização, para o desenvolvimento de sensores e biossensores. O dispositivo é uma simplificação da infraestrutura necessária quando comparado ao processo atual empregado.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 SENSORES MAGNETOELÁSTICOS

Sensores magnetoelásticos são dispositivos que utilizam como base materiais com propriedade magnetoelástica que respondem a excitação magnética variável com o tempo. Quando expostos a excitação magnética é produzida uma onda elástica longitudinal no sensor que pode ser detectada através de técnicas ópticas, acústicas ou magnéticas (Figura 1) (GRIMES *et al.*, 2011).

Segundo Grimes *et al.* (2011), se for colocado sobre o sensor uma fina camada de uma substância química sensível, a massa do sensor pode mudar através de uma interação com o meio ambiente e detectar na fase gasosa umidade, dióxido de carbono, amoníaco, e no líquido pode ser utilizado para medir o pH de soluções, bem como glucose, avidina, ricina, endotoxina B e microorganismos.

Este sensor consiste basicamente de uma tira (lâmina com pouca espessura) produzida a partir de uma liga de material ferromagnético amorfo. É fabricado pelo processo de *Melt Spinning* (Figura 2), onde o material metálico fundido é derramado em um disco de resfriamento com rotação controlada (MOSCON, 2009).

Os sensores magnetoelásticos são popularmente utilizados como sensores antirroubo, por isso são facilmente encontrados junto a produtos em supermercados, farmácias, etc.

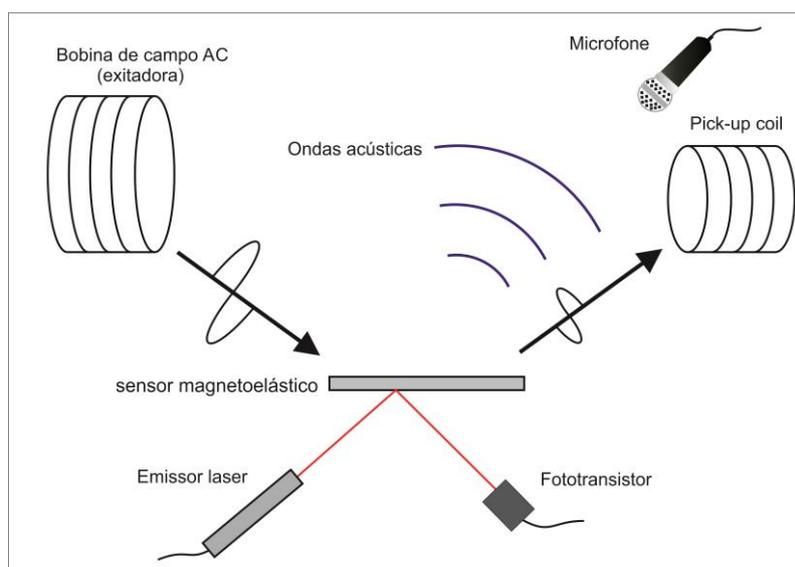


Figura 1: Representação de operação do sensor magnetoelástico (adaptado de GRIMES *et al.*, 2011).

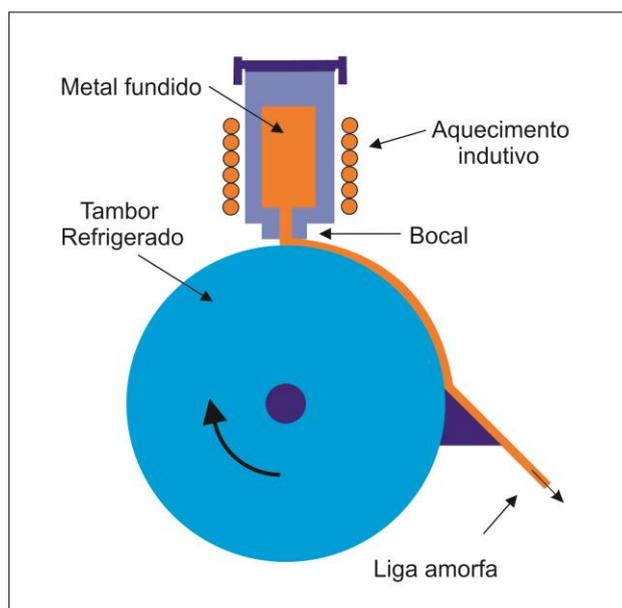


Figura 2: Fabricação de fitas amorfas através do processo de *Melt Spinning*. Adaptado de Handbook (2011).

4.1.1 FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA DO SENSOR

A frequência de ressonância do sensor está relacionada com a vibração elástica do material e está intimamente ligada as suas dimensões. Conforme Liang *et al.* (2007) a espessura do material deve ser muito menor que seu comprimento e largura para garantir módulos vibracionais no sentido longitudinal.

De acordo com Liang *et al.* (2007), para uma fita de comprimento L , largura w e espessura t , vibrando longitudinalmente, sua frequência de ressonância fundamental f_0 é descrita pela Equação 1, onde E é o módulo de Young, ρ é a densidade de massa da fita e ν é o coeficiente de Poisson.

$$f_0 = \frac{1}{2L} \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\nu)}} \quad (1)$$

O sistema tem seu funcionamento baseado no efeito magnetostrictivo e magnetoelástico do material amorfo. A excitação das ondas longitudinais é efetuada através de um campo magnético aplicado por uma bobina e a resposta é captada pela

mesma bobina. Pode-se usar bobinas diferentes para excitar e captar, dependendo da montagem e do que está sendo medido.

O efeito magnetostrictivo se manifesta na movimentação das paredes de domínio, fazendo com que o corpo expanda ou encolha em função do campo magnético aplicado (LACHEISSERIE 1994 apud HRISTOFOROU e KTENA 2007). O efeito magnetoelástico é o responsável pela resposta do sensor, que transforma as vibrações físicas do material em um sinal eletromagnético que é captado pela bobina (RUAN *et al.*, 2003).

Outro fator que deve ser considerado é aplicação de um campo DC uniforme na direção do sensor. Obtem-se um viés no alinhamento dos domínios que se relaciona com o módulo de elasticidade, permitindo uma melhora no sinal de resposta. Existe um ponto ótimo de operação, que depende do material que o sensor é feito e das dimensões (comprimento) envolvidas. Conseqüentemente, pode-se utilizar o campo DC para sintonizar o sensor em um ponto ótimo de operação, sendo que este campo DC uniforme também influencia o efeito ΔE (CULLITY, 2011; GRIMES *et al.*, 2011).

De acordo com Wen *et al.* (2010b), a frequência de ressonância também pode variar dependendo do meio em que o sensor magnetoelástico está exposto. Isso se deve as forças de amortecimento que afetam a sua superfície, impedindo as oscilações vibracionais.

4.1.2 SENSIBILIDADE DE MASSA

De acordo com Grimes *et al.* (1999) e Shen *et al.* (2010b), um pequeno carregamento de massa Δm , uniformemente distribuídos sobre o sensor, por exemplo células de patógenos alvo depositadas na superfície, resultará em uma diminuição da frequência de ressonância inicial f_0 para uma frequência de ressonância final f_c em um montante Δf . Para um sensor de massa m_0 e frequência de ressonância f_0 , a variação esperada da frequência de ressonância causada pelo aumento de massa na superfície do sensor é dado por (Equação 2):

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

onde m_0 é expressa na Equação 3:

$$m_0 = L * w * t * \rho \quad (3)$$

A relação entre a massa depositada e a frequência de ressonância é chamada de sensibilidade de massa S_m , que é expressa pela equação 4.

$$S_m = -\frac{\Delta f}{\Delta m} = -\frac{1}{2\rho L^2 w t} \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\nu)}} \quad (4)$$

Para sensores onde $w = L/5$ (relação 5:1) (GRIMES *et al.*, 2011) a equação pode ser simplificada (Equação 5):

$$S_m = -\frac{5}{2\rho L^3 t} \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\nu)}} \quad (5)$$

4.1.3 TAMANHO DO SENSOR

O tamanho do sensor é um parâmetro muito importante a ser considerado, uma vez que influencia diretamente na sensibilidade final do sensor, conforme observado na Equação 4. Em um estudo prévio, realizado por Tormes *et al.*, (2014) no Laboratório de Caracterização Magnética (LCM-UCS), observou-se que a aplicação de uma fina camada de argila em fitas de material magnetoelástico, com dimensões de 30 x 6 x 0,029 mm, promoveu uma variação na frequência de ressonância na ordem de 10%. Observando-se a Equação 5, nota-se que a S_m é determinada pela espessura e especialmente pelo comprimento do sensor (Tabela 1). Conclui-se que para a detecção de bactérias, com massa em torno de 1 pg, os biossensores devem ter suas dimensões reduzidas, conforme estudos realizados por Possan (2015).

Tabela 1: Variação da sensibilidade de massa variando o comprimento do sensor, mantendo a espessura em 29 μm , mostrando juntamente a frequência fundamental (Equações 1 e 5).

Dimensão			Frequência Fundamental	Sensibilidade de massa
L (m)	w (m)	t (m)	F_0 (kHz)	S_m (Hz.pg ⁻¹)
0,03	0,006	0,029	74,2322	1,74E-6
0,025	0,005	0,029	89,0786	3,00E-6
0,02	0,004	0,029	111,3483	5,87E-6
0,015	0,003	0,029	148,4644	1,39E-5
0,01	0,002	0,029	222,6966	4,69E-5
0,005	0,001	0,029	445,3933	3,75E-4

Sensores de tamanho reduzido apresentam amplitude de sinal de resposta reduzidos, influenciando na recepção do sinal, efeito ΔE e no fator Q. Afim de garantir uma melhora desses fatores, há uma necessidade de melhorar o sistema dispositivo de leitura/bobina/sensor para garantir uma maior certeza na leitura dos resultados.

4.1.4 FATOR Q

O fator Q é uma medida que expressa a qualidade da ressonância. Considera-se que um baixo valor de Q representa uma alta dispersão da frequência central sobre as frequências vizinhas; enquanto que, um alto valor de Q representa uma baixa dispersão da frequência central sobre as frequências vizinhas.

O fator Q é expresso pela Equação 6, onde o termo Δf_m é a largura da curva de ressonância (pico) a meia altura. Logo, um fator Q maior significa um pico de ressonância mais nítido, o que resulta em uma resolução maior na determinação da frequência de ressonância (Figura 3) (LI *et al.*, 2012).

$$Q = \frac{f_0}{\Delta f_m} \quad (6)$$

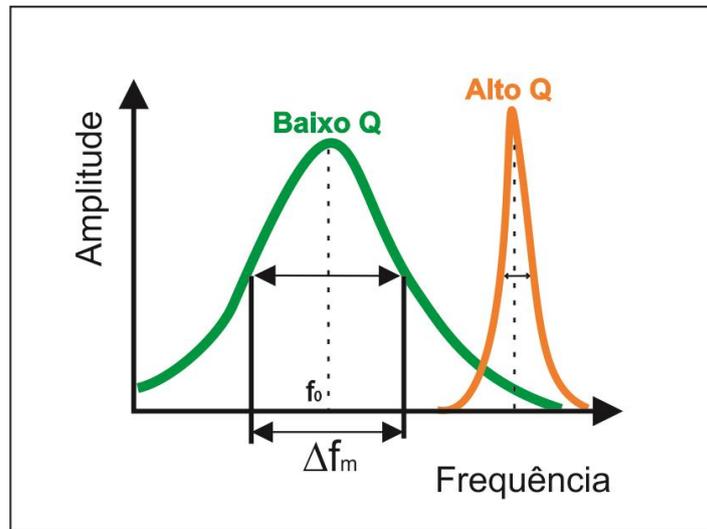


Figura 3: Variação do fator Q (LI et al., 2012).

4.1.5 EFEITO ΔE

O efeito ΔE está relacionado à variação do módulo de elasticidade quando ocorre a magnetização do material (O' HANDLEY, 2000 e SCHMIDT *et al.*, 2001). A magnetostricção é uma deformação induzida magneticamente e corresponde a uma variação fracional do comprimento $\lambda = \Delta l / l$ (COEY, 2009).

Independente do sinal, o efeito é sempre de reduzir E , definido como a razão entre a tensão linear e a deformação (σ / e). Se uma tensão é aplicada a um material com λ positivo, a magnetização se alinha paralela à tensão produzindo um alongamento que aumenta a deformação (e) e reduz E (módulo de Young). Se a tensão for aplicada a um material com magnetostricção negativa, a magnetização se alinha perpendicular à tensão produzindo um alongamento que é a metade do alongamento na direção da magnetização, e novamente reduzindo E . O efeito desaparece quando a magnetização é saturada, ao longo ou perpendicular à direção da tensão (COEY, 2009).

O comportamento detalhado do módulo de elasticidade depende da estrutura de domínios, da anisotropia e das dispersões do eixo fácil do material magnetoelástico (COEY, 2009). A Figura 4 apresenta a relação do efeito ΔE para um material ferromagneto magnetostrictivo mole. Verifica-se que o módulo de elasticidade tem

dependência com a estrutura dos domínios, e observa-se que a anisotropia transversal ao eixo longitudinal de uma fita amorfa é a condição ideal para aumentar a resposta magnética.

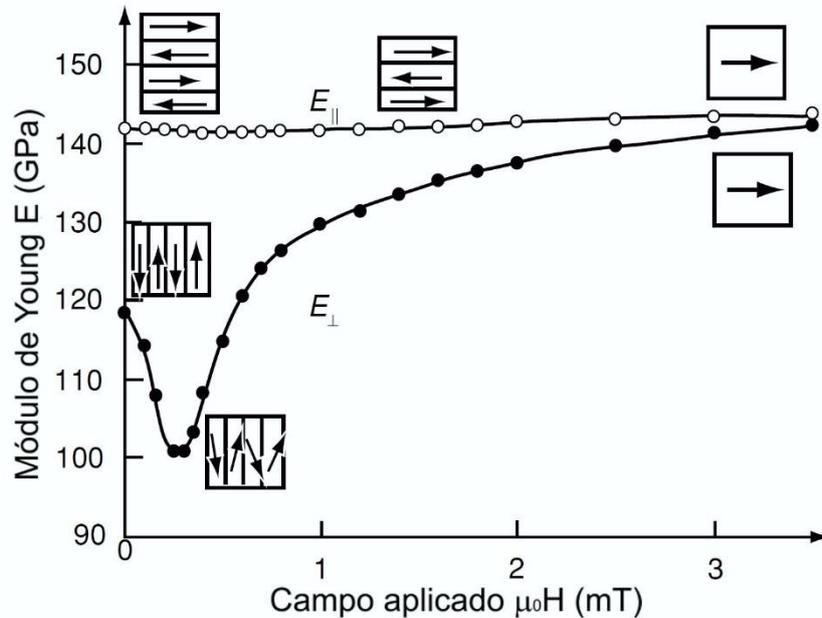


Figura 4: Evolução da estrutura de domínios e do módulo de Young E com a aplicação de um campo magnético H (adaptado de COEY, 2009).

Na Figura 5 observa-se que a aplicação de uma tensão sobre o material magnetostrictivo induz uma tensão que tende rodar a magnetização (M) (M move-se em direção a tensão de tração $\lambda > 0$, $B < 0$). Também pode-se observar que a rotação de M, induzida pela tensão, gera uma tensão magnetostrictiva adicional. Este efeito é somado a deformação puramente mecânica. A deformação magnetostrictiva θ_M é geralmente insignificante quando comparada a deformação elástica em elevadas tensões, logo o efeito ΔE é importante para ondas acústicas, vibrações e amortecimentos (O'HANDLEY, 2000).

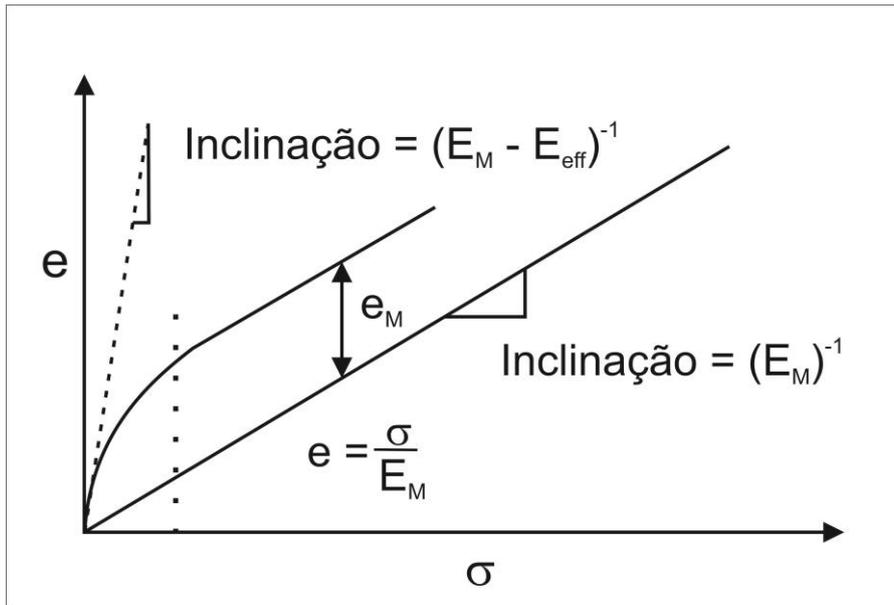


Figura 5: Deformação versus tensão de material magnético em regime elástico (adaptado de O'HANDLEY, 2000).

Pode-se observar que quando uma fita de material magnetostrictivo é exposta a um campo DC, ela sofre influência na resposta de frequência de ressonância, conforme figura 6.

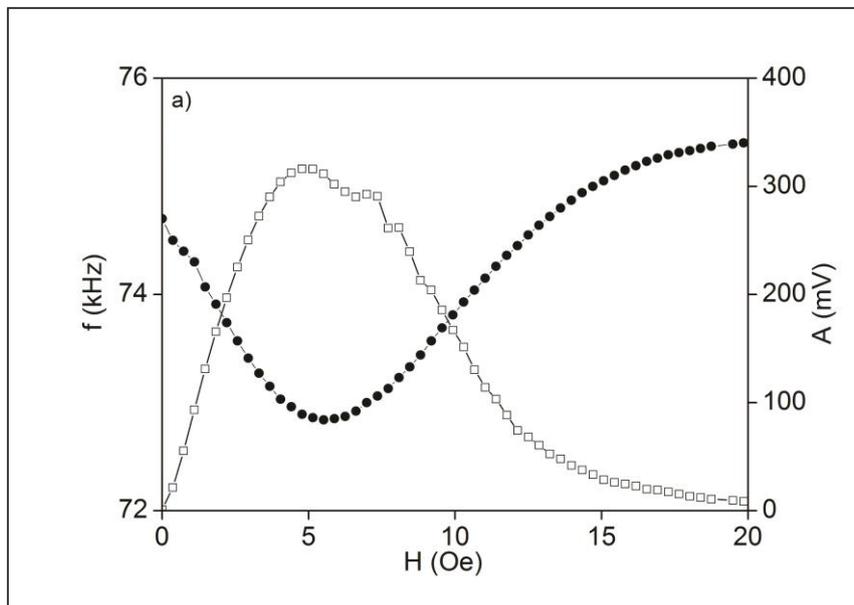


Figura 6: Frequência de ressonância (marcadores sólidos) e amplitude do sinal (marcadores vazados) versus o campo magnético DC para uma fita Metgla®2826MB3 (TORMES et al., 2014).

Esta mudança na frequência de ressonância gerada por um campo aplicado é geralmente designada como efeito ΔE . Nota-se que a frequência de ressonância mínima ocorre quando o campo de polarização DC aplicado fica próximo do campo de anisotropia, conseqüentemente o coeficiente de acoplamento magnetoelástico atinge um máximo, assim obtendo uma maior amplitude de ressonância. Quando são aplicados campos DC de amplitudes maiores, o material torna-se magneticamente saturado, diminuindo a amplitude e vibração do material (GRIMES *et al.*, 2011).

Atavés do efeito ΔE pode-se achar o ponto ideal de trabalho com o material magnetoelástico utilizando-o como transdutor.

4.2 SENSORES COM MATERIAL MAGNETOELÁSTICO

Conforme Grimes *et al.* (2011), o material magnetoelástico pode ser utilizado como plataforma base para o desenvolvimento de uma gama de sensores. A seguir são explanados alguns destes modelos.

4.2.1 BIOSSENSORES

Biossensores são dispositivos que utilizam reações bioquímicas específicas mediadas por enzimas isoladas, imunossistemas, tecidos, orgânulos ou células intactas para a detecção de compostos químicos, geralmente por meio de sinais elétricos, óticos ou térmicos (IUPAC, 2006).

Estes dispositivos incorporam um elemento analítico de detecção biológica (sonda/receptor) em uma base tradutora de sinal (plataforma). A reação biológica específica entre o elemento sensor e o espécime de interesse provoca uma mudança físico-química na bio-interface. O transdutor converte a mudança detectada (física/química) em um sinal mensurável que poderá ser detectado (LEONARD *et al.*, 2003).

De acordo com o elemento biológico utilizado para a sua construção, os biossensores podem ser divididos em várias classes. Dentre elas, as classes mais desenvolvidas são: biossensores enzimáticos, microbiológicos, os quimiorreceptores e imunossensores (KATZ e WILLNER, 2004; CAMPANELLA *et al.*, 2008).

Dentro os inúmeros modelos, estudos vêm sendo realizados sobre biossensores que utilizam como suporte um material magnetoelástico (ME) recoberto com elemento

de bio-reconhecimento (anticorpo, fagos, enzimas, etc.) (ZENG e GRIMES, 2007; XIE *et al.*, 2009 e CHAI *et al.*, 2013b).

Neste tipo de biossensor, a presença dos microrganismos é detectada por uma variação gradual na frequência de ressonância na medida que a massa sobre o sensor aumenta (patógeno alvo se ligando ao elemento de bio-reconhecimento molecular) conforme pode ser observado na Figura 7 (XIE *et al.*, e GRIMES *et al.*, 2011).

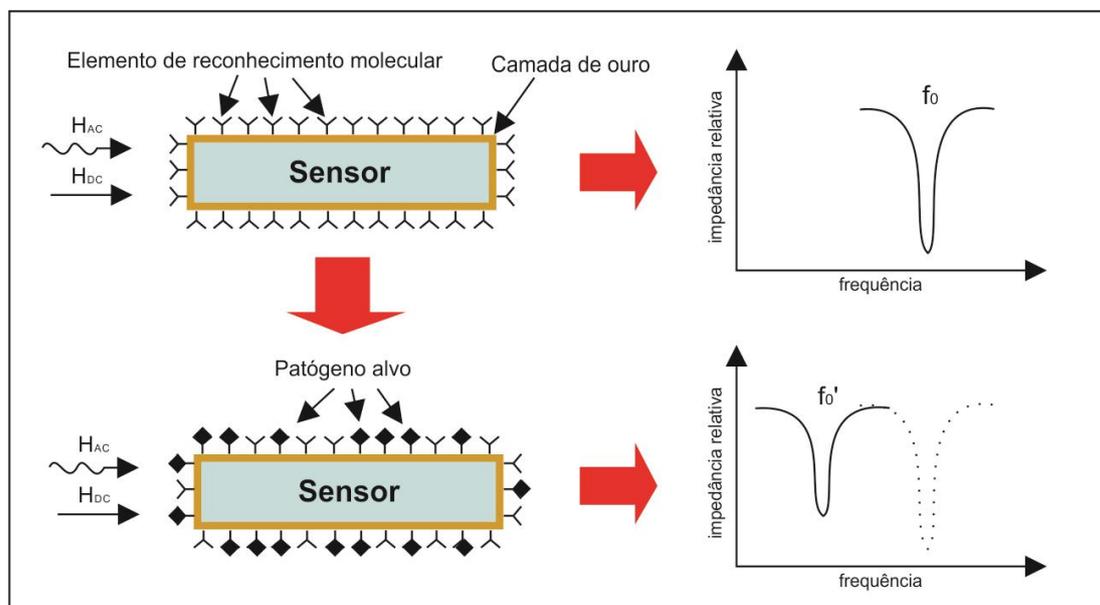


Figura 7: Princípio de operação do sistema de detecção de patógenos (adaptado de XIE *et al.*, 2009).

Diversas pesquisas foram realizadas a partir deste princípio de operação, onde é verificada a variação de massa através da variação da frequência de ressonância (YI *et al.*, 2003; SHEN *et al.*, 2009; Chai *et al.*, 2013c). O estudo realizado por Chai *et al.* (2013c) comprovou que a frequência de ressonância de um biossensor ME é alterada quando exposto a *Salmonella typhimurium*, onde diferentes variações de frequência foram registradas em função do tempo de exposição e da concentração utilizada, conforme mostrado na Figura 8.

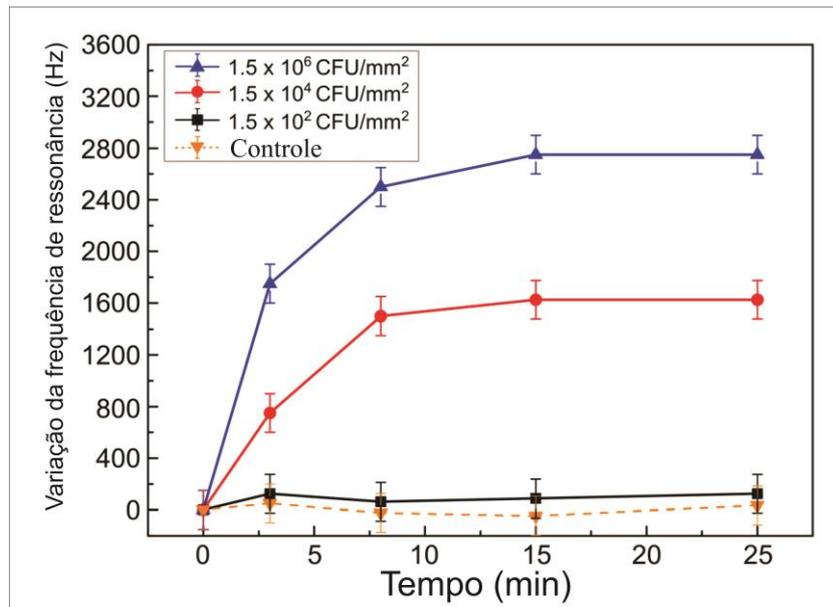


Figura 8: Variação da frequência de ressonância de um biossensor exposto a um microrganismo (Chai et al., 2013c).

Sendo realizado pelo grupo de pesquisa o desenvolvimento de uma patente de número BR 102016009471-2, onde é descrito o sistema de detecção de analitos sob a superfície de material magnetoelástico utilizando técnica de imobilização orientada, utilizando o princípio de detecção de massa para variar a frequência de ressonância.

4.2.2 SENSORES DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH

Uma medida de pH consiste em determinar um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio. Uma solução em geral pode ser caracterizada pelo seu valor de pH, sendo que este é determinado pela concentração de íons de hidrogênio (H^+). É medida com instrumento denominado phmetro, que consiste em um dispositivo eletrônico em conjunto com a sonda de pH na qual geralmente é um eletrodo de calomelano, que converte a diferença de potencial gerada no eletrodo quando inserido em uma amostra em um medida de pH. O valor de pH é apresentado numa escala logarítmica que vai de 0 a 14. O controle do potencial hidrogeniônico (pH) é importante na indústria no controle de processos envolvendo a qualidade da matéria prima e do produto final. A medida da variação de pH aparece também na gestão de várias doenças incluindo bacteriúria, cálculo renal e terapia de drogas (PANG *et al.*, 2007).

Para realizar medidas de pH sem conexões com fios com um baixo valor associado em locais onde a necessidade do eletrodo de pH inviabiliza a medida por necessitar de

cabos, pode-se utilizar o material magnetoelástico em conjunto com revestimento de polímero sensível ao pH (RUAN *et al.*, 2003b). Uma potencial aplicação desta tecnologia seria no monitoramento do pH gástrico se utilizando, do sensor em uma pílula descartável, como diagnóstico de doenças de refluxo gastroesofágico (MAHAVEER *et al.*, 2001 e RUAN *et al.*, 2003a). Estes sensores detectores de variação de pH podem operar em conjunto com outros materiais e conseqüentemente detectar outros parâmetros como glicose ou penicilina em leite.

4.2.2.1 DESENVOLVIMENTO DE POLÍMERO SENSÍVEL AO pH

Desenvolvimento de um polímero com resposta a variação do pH consiste em utilizar um copolímero de ácido acrílico e acrilato de isooctilo que se expande ou se contrai em resposta ao aumento ou diminuição do pH, devido a dissociação do grupo carboxílico (GAO *et al.*, 2009). Um método de obtenção de um polímero sensível a pH foi discutido no trabalho de Cai *et al.* (2004). Aqueles autores sintetizaram um copolímero por copolimerização de radicais livres do ácido acrílico e acrilato de isobutila em dimetilformamida, tendo como proporção molar inicial de 4:1, onde foi adicionado 0,02% molar de poli (etileno-glicol) diacrilato (PEGD) como agente de reticulação e 0,4% molar de 2,2-azobis (isobutironitrilo) (AIBN) como iniciador da reação.

O procedimento de preparação do polímero foi em borbulhar com azoto durante uma hora a solução de ácido acrílico e acrilato de isobutila em dimetilformamida para desoxigenar. Após, mantendo a atmosfera de azoto, a temperatura foi aumentada lentamente até 65 °C para iniciar a polimerização, sendo mantida durante 2 horas. O produto obtido foi lavado com tolueno várias vezes para remover os componentes que não reagiram e depois seco em forno a vácuo a 80 °C, sob pressão reduzida (10 Torr) durante 12 horas. Depois, o polímero resultante se dissolve em etanol e não se dissolve em água. De acordo com Cai e Grimes, (2000) o polímero apresenta uma estrutura conforme Figura 9.

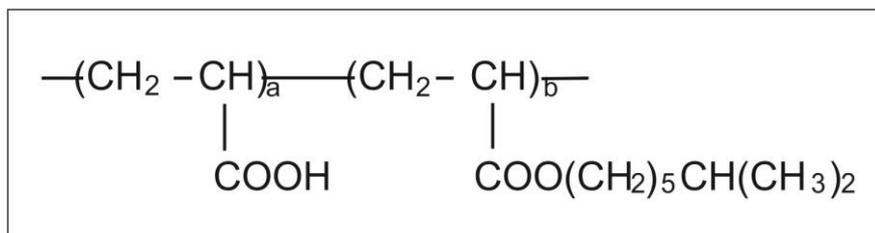
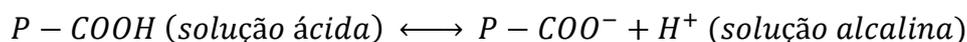


Figura 9: Representação da estrutura do polímero sensível ao pH (adaptado de CAI e GRIMES, 2000)

O princípio de operação é descrito por Cai *et al.* (2004) onde apresenta que o polímero em resposta a alterações de pH, o ácido acrílico dissocia-se de acordo com o seguinte equilíbrio:



Observa-se que o radical (P-COOH) é a parte sensível do polímero de pH, o qual é electricamente neutro em solução ácida. Em solução alcalina é eletricamente carregado devido a dissociação do ácido acrílico na qual proporciona o inchaço adicional, devido a pressão osmótica exercida pelo grupo carboxílico carregado eletricamente, onde a água entra no polímero para diminuir a concentração de íons da rede (CAI *et al.* 2004).

A interação do polímero com o solvente (água) provoca um grau de inchaço no polímero, que depende da hidrofiliicidade e do grau de reticulação do mesmo, sendo que polímeros lineares apresentam inchaço elevado enquanto que polímeros reticulados apresentam um inchaço mínimo devido as ligações cruzadas (CAI *et al.* 2004).

O sinal do sensor é captada pela diferença de massa do polímero, quando exposto em solução ácida que se apresenta encolhido e quando exposto a solução alcalina se encontra inchado (CAI *et al.* 2004), conforme apresentado na Figura 10, onde é representado o polímero em meio ácido, neutro e alcalino, demonstrando o inchaço com o aumento do pH e a diminuição da frequência de ressonância.

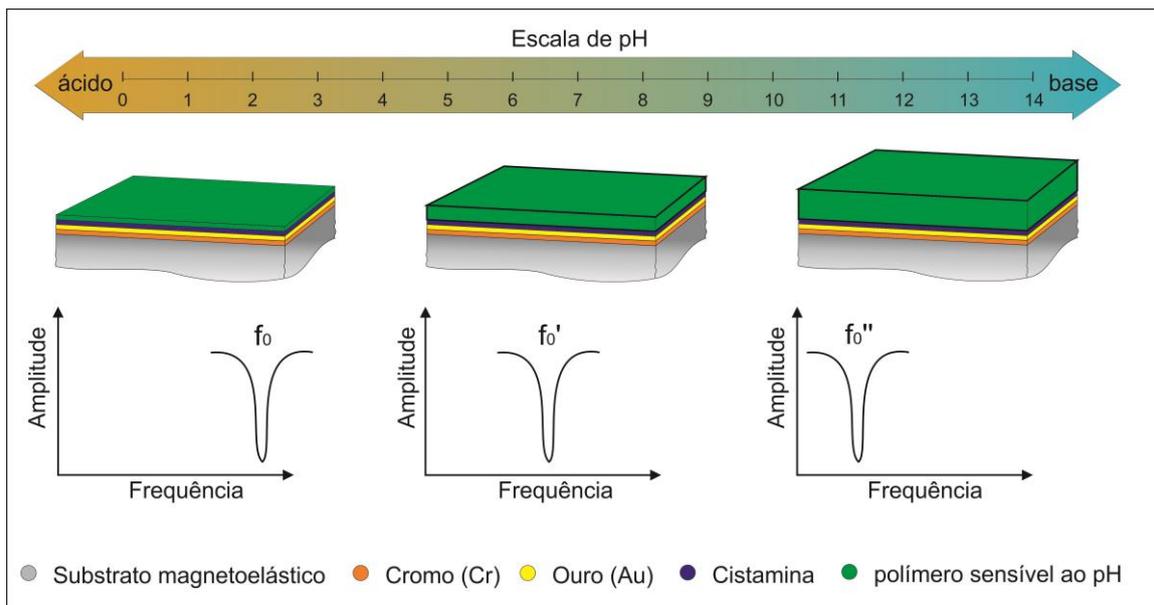


Figura 10: Representação do polímero de pH em meio ácido, neutro e alcalino.

4.2.2.2 ADERÊNCIA DO POLÍMERO DE pH AO MATERIAL MAGNETOELÁSTICO

A aderência do polímero sensível ao pH é uma fase crucial no desenvolvimento do sensor de pH. Caso o polímero perca a aderência do substrato magnetoelástico e se soltar, acarretará uma perda de massa e conseqüentemente uma alteração (aumento) da frequência de ressonância do sensor.

Para gerar a aderência apresenta-se como um dos métodos a adição de uma camada de poliuretano hidrossolúvel auto reticulável (Baydroll 110) em ambos os lados do material magnetoelástico por imersão, esta cobertura é curada pelo período de 4 horas em estufa a 80° C. Após aplica-se a camada por imersão, do polímero sensível ao pH sendo este seco por 12 horas em estufa a vácuo com pressão menor que 10 Torr para retirar o solvente presente no polímero sensível ao pH e promover a aderência (MAHAVEER *et al.*, 2001).

Proponha-se como alternativa em substituição do produto Baydroll 110. A utilização de um conjugado com a deposição de uma monocamada organizada, utilizando a cistamina (CYS). Sendo que esta apresenta como vantagem um menor carregamento de massa pois a camada de CYS não cria uma filme contínuo que altera substancialmente a frequência de ressonância e conseqüentemente o fator Q. Outro fator interessante sobre esta camada de CYS está no fato de poder ser funcionalizada com outras substâncias,

propiciando a formação de outros sensores como biossensores de detecção de *Escherichia coli* realizado por POSSAN (2015).

Estas monocamadas auto organizadas (SAM) estão sendo intensivamente estudadas nos últimos anos para a produção de biossensores. A formação da SAM é promovida pela imersão do substrato (material magnetoelástico) na solução contendo moléculas que se comportam como ácido ou base. O substrato para a formação da SAM podem ser de prata, paládio, ouro entre outros. A adsorção desta molécula é resultado da afinidade do grupo funcional do adsorvente, que interage a superfície do substrato, a organização destas camadas se apresentam pela interação hidrofóbicas das cadeias longas do grupo funcional (FREIRE *et al.*, 2003).

A molécula CYS é um dissulfeto ($C_4H_{12}N_2S_2$). No entanto para que haja uma formação de SAM é necessário que a CYS sofra uma quebra em sua estrutura entre os átomos de S (Enxofre), sendo observado a ligação da CYS na camada de ouro após a quebra na Figura 11. Com a quebra da CYS em duas unidades de S para ligação com o Au (ouro), causa um aumento da probabilidade de ter dois átomos de S posicionados relativamente próximos uns dos outros sobre a superfície do Au, aumentando a quantidade de sítios ativos, propiciando mais ligações (WIRDE *et al.*, 1999).

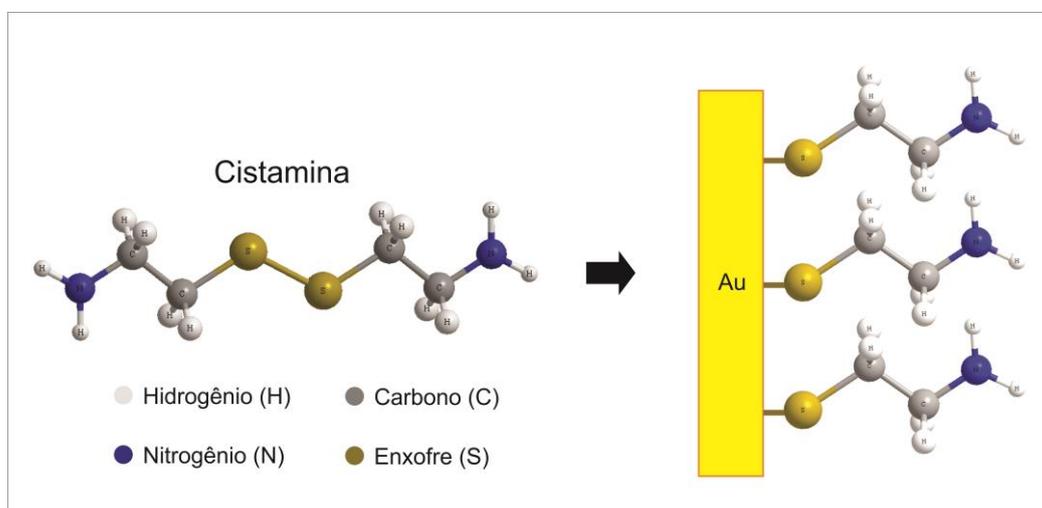


Figura 11: Representação da formação da SAM sobre superfície do Au devido a quebra da ligação entre os átomos de enxofre (S) (adaptado de MOSSANHA, 2011).

4.2.2.3 FABRICAÇÃO DO SENSORES MAGNETOELASTICOS DE pH

Uma fita magnetoelástica pode se tornar sensível a pH, após receber uma fina camada do polímero sensível ao pH. Esta fita pode ser usado como um sensor de pH uma vez que uma pequena variação na sua massa irá resultar em uma variação da frequência de ressonância da fita.

No caso dos sensores magnetoelásticos discutidos por CAI et al. (2004), as fitas foram limpas com solução em ultrassom, sendo secas em corrente de nitrogênio. Depois foi aplicado uma camada de aproximadamente 1 μm de solução de Baydrol 110. Os sensores revestidos com poliuretano foram secos em estufa durante 2 horas a 150 $^{\circ}\text{C}$, para formar uma camada protetora sobre o substrato do sensor magnetoelástico, oferecendo também um grupo NH para a ligação do polímero sensível ao pH (CAI *et al.*, 2004).

O sensor antes da utilização deve ser ativado com uma solução de PBS 0,01 mol/L e pH 7,00 durante 20 minutos para o polímero ficar molhado (CAI *et al.*, 2004). Pode-se visualizar a resposta de um sensor de pH com sua curva de calibração na Figura 12 (MAHAVEER *et al.*, 2001).

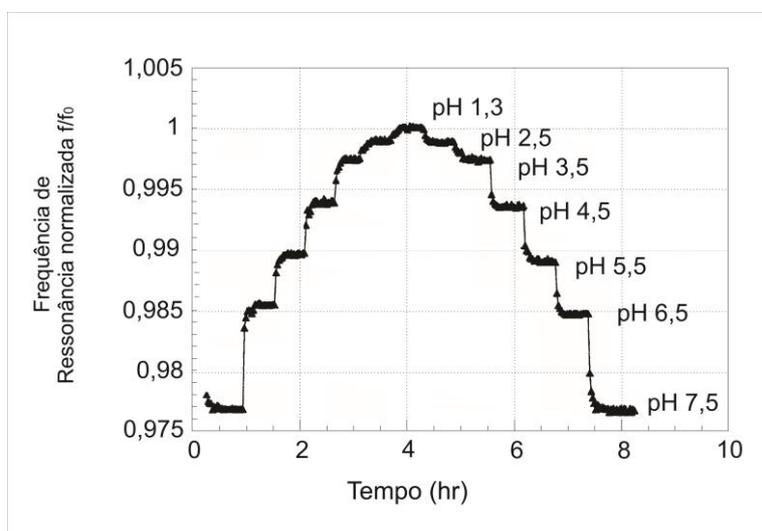


Figura 12: Apresentação da curva de calibração para o sensor de pH. A resposta em frequência é normalizada para o valor do pH 1,3 medido (*adaptado de Mahaveer et al.*, 2001).

Com o desenvolvimento de sensores sensíveis ao pH pode-se desenvolver outros sensores que se utilizam deste princípio para detecção de outros parâmetros como sensores de detecção de antibióticos (penicilina).

4.2.3 SENSORES DE DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS

Penicilina G é amplamente utilizada pelos veterinários para prevenir e tratar de doenças em vacas. Esta penicilina quando utilizada com frequência, ou em grandes quantidades deixam resquícios no leite que são prejudiciais aos humanos. Existem diversos métodos tradicionais para a detecção da penicilina, por exemplo cromatografia líquida, ressonância de plasmon de superfície e detecção de impedância. Estas técnicas apresentam algumas desvantagens tais como o longo tempo de detecção, operação por técnicos especializados, baixa precisão e alto custo, quando comparados aos sensores com material magnetoelásticos (GAO *et al.*, 2009).

O uso de biossensores magnetoelásticos para a detecção de penicilina G no leite foi proposto por GAO *et al.* (2009). O sensor daqueles autores foi desenvolvido através de camadas, sendo que a primeira camada de revestimento é com polímero sensível ao pH e a seguinte camada é de polímero de penicilinase (Figura 13) (GAO *et al.*, 2009).

O funcionamento se baseia conforme relatado por Gao *et al.* (2009) no fato que a hidrólise catalisada de penicilinase produz ácido penicilóico o que resulta na retração do polímero sensível ao pH e consequentemente o incremento da frequência de ressonância.

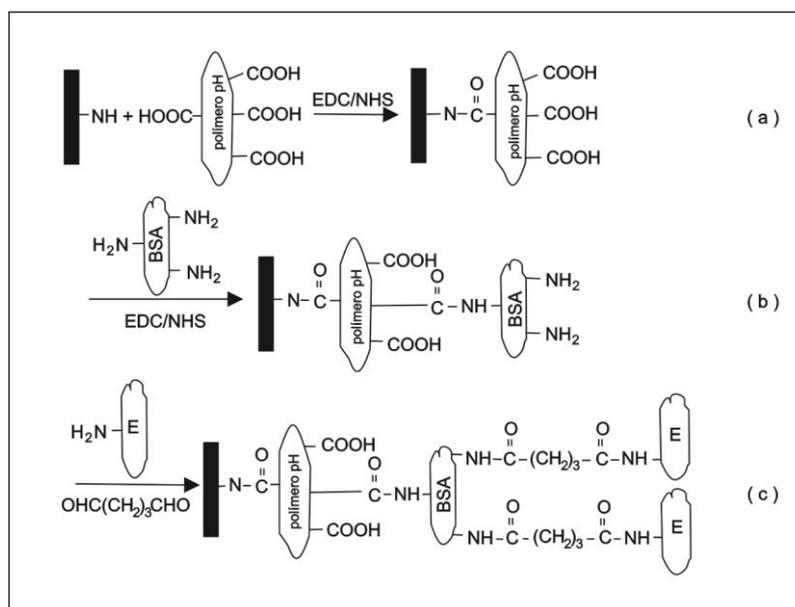


Figura 13: Diagrama esquemático do procedimentos para a imobilização de penicilinase sobre o polímero sensível ao pH no sensor magnetoelástico (E: penicilinase). (*adaptado de GAO et al. 2009*)

4.3 RUGOSIDADE DO MATERIAL MAGNETOELÁSTICO

Devido ao método de fabricação por *Melt Spinning* sendo que neste processo um lado do material fica exposto a roda e o outro ao ambiente ocasiona diferentes rugosidades no material. A rugosidade do material magnetoelástico é uma propriedade morfológica importante quando a fita é utilizado como plataforma de biossensores. Conforme estudo realizado por Possan (2015), o aumento da rugosidade do material magnetoelástico é um fator que interfere negativamente nos resultados de frequência de ressonância. Supõe-se que uma superfície plana de baixa rugosidade pode formar uma camada de cistamina mais compacta, resultando em um melhor acoplamento com anticorpos.

Observa-se que quanto menor a rugosidade superficial do material maior será o adesão (acoplamento) do elemento de captura com a superfície do sensor. Logo, as fitas magnetoelásticas devem ser polidos para reduzir sua rugosidade, garantindo uma melhor dispersão do elemento de captura e reconhecimento de patógeno alvo, diminuindo as variações nos resultados de leitura (POSSAN *et al.*, 2016).

4.4 SISTEMAS DE DETECÇÃO E INSTRUMENTAÇÃO DE SENSORES MAGNETOELÁSTICOS

O monitoramento de sensores magnetoelásticos evoluiu a partir de instrumentos de laboratório de uso geral para dispositivos dedicados de leitura portátil utilizando microprocessadores (ZENG e GRIMES, 2007).

Os dispositivos portáteis para medida de frequência de ressonância, utilizam as mesmas técnicas de detecção que instrumentos de laboratório. As medidas de frequência de ressonância são realizadas no domínio do tempo ou no domínio da frequência e via medidas de impedância.

4.4.1 MEDIDAS NO DOMÍNIO DO TEMPO

Conforme Grimes *et al.* (2002), neste método de medida, que utiliza a caracterização no domínio do tempo, o sensor é excitado por um pulso de campo magnético gerado por uma corrente que passa através de uma bobina. O impulso pode ser formado por um trem de ondas senoidais, conforme se observa na

Figura 14a. A resposta do sensor pode ser observada na

Figura 14b, onde o sinal senoidal tem um decaimento exponencial que pode ser detectado com uma outra bobina, ou a mesma, utilizando um interruptor eletrônico para isolar o circuito da excitação da recepção do sinal conforme Figura 15 onde em (a) tem a configuração com duas bobinas, uma de excitação utilizada para gerar o impulso de excitação e outra bobina de recepção da resposta do sensor e (b) sistema com uma única bobina de excitação e recepção juntamente com interruptor eletrônico (multiplexador) utilizado para isolar o circuito de excitação de recepção. A frequência de ressonância do sensor pode ser determinada a partir de duas técnicas diferentes sendo uma delas a contagem das passagens por zero (contagem da frequência) ou a partir da utilização de uma transformada rápida de Fourier (FFT).

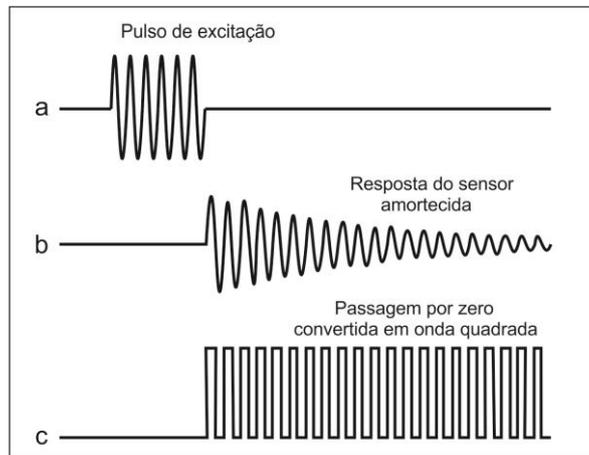


Figura 14: Representação do processo de determinação da frequência de ressonância de um sensor (adaptado de Grimes *et al.*, 2002 e ZENG e GRIMES, 2007).

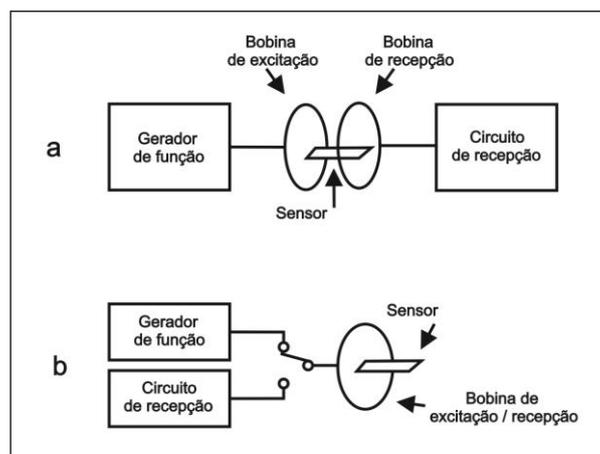


Figura 15: Sistema de detecção no domínio do tempo (adaptado de GRIMES *et al.*, 2002).

Utilizando a técnica da contagem das passagens por zero, requer um circuito mais simples onde não se pode classificar a qualidade de ressonância ou nitidez do sensor. Nesta técnica deve-se condicionar o sinal com decaimento exponencial proveniente do sensor através de circuitos eletrônicos para se obter um sinal conforme se observa na Figura 14c, onde o sinal se apresenta apropriado para executar sua contagem de passagens por zero.

A frequência de ressonância é determinada através da Equação 8, sendo f é frequência a ser determinada, N é o número inteiro de passagens por zero, Δt é o intervalo de tempo igual ao total do número inteiro M (quantos períodos inteiros de T_0 foram executados do início até o fim da contagem das passagens por zero) vezes o relógio de referência T_0 (ZENG e GRIMES, 2007).

$$f = \frac{N}{\Delta t} = \frac{N}{MT_0} \quad (7)$$

Utilizando a técnica da FFT a determinação da frequência de ressonância é realizada praticamente através de *software*. O algoritmo responsável pela execução desta tarefa converte o sinal da resposta no domínio do tempo em um espectro de frequência, sendo a frequência de ressonância identificada com o pico do espectro (GRIMES *et al.*, 2011).

4.4.2 MEDIDAS NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA

Sistemas no domínio da frequência exigem uma bobina de excitação e uma bobina de detecção denominada *pick-up coil*. A bobina de excitação é ligada na saída de um dispositivo que gera um sinal de frequência fixa, e a bobina de detecção detecta a resposta do sensor a essa frequência. A frequência estacionária é gradualmente aumentada em passos controlados dentro de uma faixa de frequências, mantendo a cada passo de frequência a leitura da resposta do sensor. A frequência de ressonância do sensor é identificada com a frequência de maior amplitude do sensor (GRIMES *et al.*, 2002).

Pode-se observar um sistema de leitura conforme representação esquemática na Figura 16, onde apresenta-se um sistema de geração e recepção de sinal por um amplificador sintonizado *Lock-In* na qual se conecta respectivamente as bobinas de excitação e recepção. Uma fonte DC (corrente contínua) alimenta uma bobina para gerar

um campo magnético de polarização e um computador controla a recepção e análise dos dados. No LCM um sistema deste tipo foi usado por TORMES et al (2014).

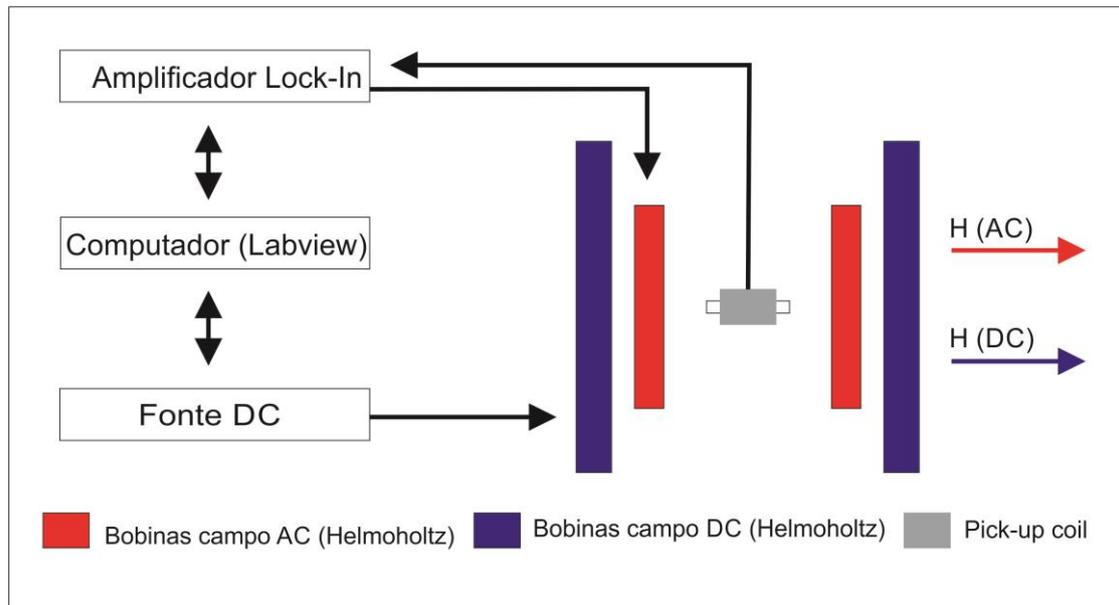


Figura 16: Representação esquemática do sistema de medida do sensor com amplificador sintonizado *Lock-In* (adaptado de TORMES, 2014).

4.4.3 MEDIDAS DE IMPEDÂNCIA

A frequência de ressonância pode ser detectada com um solenoide indutivo. O sensor fica inserido no interior do solenoide e a impedância do solenoide é medida como uma função da frequência. O princípio da detecção está no fato que a permeabilidade do sensor aumenta significativamente na ressonância, ocorrendo um pico no espectro de impedância do solenoide na frequência de ressonância do sensor (GRIMES *et al.*, 2002).

Este princípio está sendo usado no LCM para medir a frequência com um analisador de rede da Agilent, modelo E5061. A Figura 17 apresenta a representação esquemática da ligação do analisador de rede.

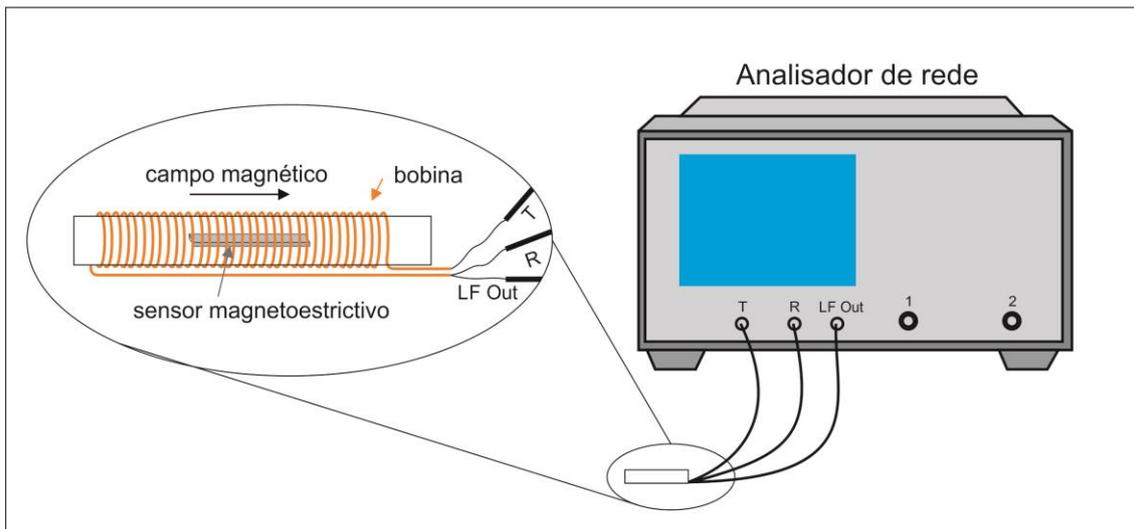


Figura 17: Representação esquemática de ligação de analisador de rede

4.4.4 DISPOSITIVO PORTÁTIL

Atualmente as medidas de frequência de ressonância de materiais magnetoelásticos são realizadas por instrumentos comerciais como o amplificador sintonizado *lock-in* e analisador de rede. Estes instrumentos são volumosos e caros, funcionando perfeitamente como instrumentos de bancada. Os sensores magnetoelásticos são candidatos para ensaios em campo para qual sistemas de bancada não são perfeitos, por se apresentarem volumosos e pesados. Portanto os dispositivos portáteis são altamente importantes (ZHANG, 2010).

Para um sistema de sensores magnetoelásticos funcional e prático, o mercado exige um design compacto, com facilidade de operação e confiabilidade em relação à razão sinal ruído (GRIMES *et al.*, 2011).

Pode-se observar que os dispositivos portáteis evoluem juntamente com a eletrônica em tamanho, confiabilidade e faixa de operação. Os primeiros dispositivos portáteis utilizavam técnicas e circuitos mais simples.

Conforme Shen *et al.* (2010c), foram propostos métodos de caracterização de sensores magnetoelásticos no domínio do tempo, por exemplo, no trabalho de Zeng *et al.* (2002), conforme diagrama de blocos visualizado na Figura 18.

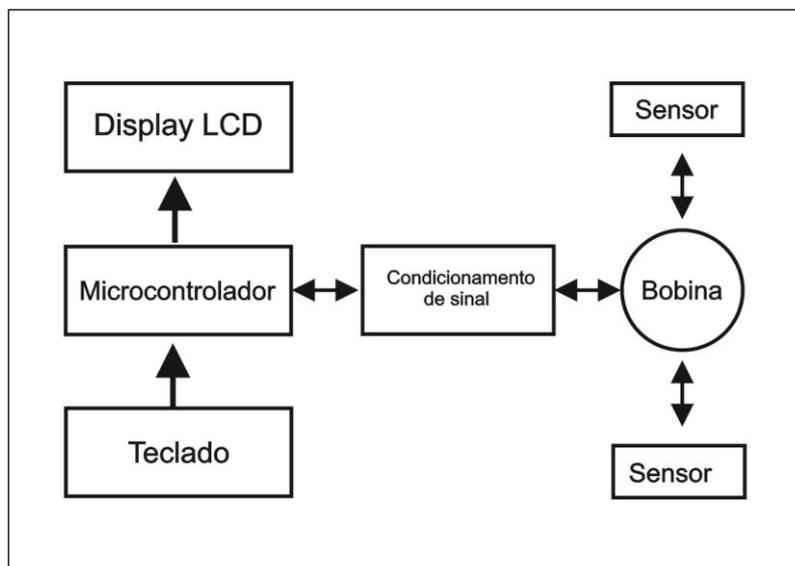


Figura 18: Diagrama de blocos do circuito baseado em microcontrolador para determinar a frequência de ressonância de sensores magnetoelásticos (adaptado de ZENG et al. 2002).

Com a técnica de excitar o sensor com um pulso de 30 mm, Zeng et al. (2002) utilizou um microprocessador para determinar quantos cruzamentos por zero foram obtidos do sinal resposta. Em seguida, comparou se a frequência do sinal recebido com a frequência do sinal aplicado. Caso não corresponda, a frequência de excitação é incrementada e o processo se repete. Quando as duas frequências são próximas, o processador ajusta a frequência em pequenos incrementos até que as frequências são praticamente iguais, assim determinando a frequência de ressonância do sensor testado. Esta técnica funciona bem quando o nível de sinal for grande em comparação ao ruído (SHEN et al., 2010c).

Com o aprimoramento dos circuitos integrados em capacidade de armazenamento e velocidade de operação e a disponibilidade de circuitos integrados dedicados, pode-se desenvolver novos dispositivos com maior range de operação, podendo operar autonomamente ou com interface de computador. Em trabalhos subsequentes realizados por ZENG et al. (2005), foi utilizado um circuito integrado dedicado AD9832 de síntese digital direta (DDS) da Analog Devices Inc. Este integrado é utilizado para sintetizar digitalmente uma onda senoidal de frequência controlada numericamente, oferecendo a possibilidade de fazer análise do sensor no domínio da frequência.

Em outros trabalhos, realizados por outros pesquisadores, observa-se a utilização de outros circuitos integrados dedicados. Grimes *et al.* (2011), utilizaram o circuito

integrado conversor DC-RMS AD536A, para calcular o verdadeiro valor de RMS (valor quadrático médio) do sinal. No trabalho de Zhang (2010) é utilizado o circuito integrado AD8302 da Analog Devices Inc, na qual tem como função analisar dois sinais e retornar como resposta o desacoplamento entre eles. A resposta é informada em dois sinais que indicam a diferença de fase e magnitude.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAL MAGNETOELÁSTICO

Neste estudo utilizou-se a liga ferromagnética magnetoelástica Metglas®2826MB3, com composição de Fe45Ni45Mo7B3 (porcentagem em peso). O material foi adquirido da empresa Metglas Company (2013), na forma de rolos e suas características e propriedades são apresentadas na Tabela 2:

Tabela 2: Propriedades do Metglas®2826MB3:

Propriedade	Valor	Unidade
<i>Eletrônicas</i>		
Magnetostricção de saturação	12	ppm
Temperatura de Curie	353	°C
Indução de saturação	0,88	T
<i>Físicas</i>		
Espessura	29	µm
Densidade	7,9	g/cm ³
Resistência à tração	1 – 2	GPa
Módulo de elasticidade	100 – 110	GPa
Fator de laminação	>75	%
Expansão térmica	11,7	ppm/°C
Temperatura de cristalização	410	°C

Fonte: Metglas Company.

5.2 PREPARAÇÃO DO SENSOR

5.2.1 CORTE DO MATERIAL

A partir dos rolos da liga Metglas®2826MB3, as fitas utilizadas como sensores foram cortadas com uma micro serra para *wafers* de silício, no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI) de Campinas, São Paulo. O corte das fitas respeitou a relação de proporção de 5:1 (comprimento:largura), uma vez que esta proporção está associada a modos de vibração mais puros e assim preferíveis para obtenção de medidas precisas da frequência de ressonância fundamental (GRIMES *et al.*, 2011).

O comprimento da fita foi determinado de acordo com a sensibilidade de massa desejada e o limite do equipamento disponível. Para utilizar o amplificador sintonizado *Lock-In*, disponível no Laboratório de Caracterização Magnética da UCS, Stanford Research Systems Model SR830 DSP, utilizou-se fitas de tamanho superior a 22 mm, cuja frequência de ressonância foi calculada em torno de 101 kHz, abaixo do limite de 102 kHz do *Lock-In*.

Para o presente estudo utilizou-se dois tamanhos distintos de sensores. O primeiro sensor, com dimensões de 30 x 5 x 0,029 mm, frequência de ressonância calculada em 74,23 kHz, para uso em um amplificador sintonizado *Lock-In*, utilizado para relacionar os resultados entre os dispositivos (analisador de rede e dispositivo portátil). O segundo sensor, com dimensões de 5 x 1 x 0,029 mm, frequência de ressonância calculada em 445,39 kHz, utilizado com um analisador de rede em análises que necessitem maior sensibilidade de massa.

O sensor é composto por várias camadas formando um aglomerado de materiais. As duas primeiras camadas, de cromo e ouro, tem a finalidade de proteção e ancoragem. Estas camadas foram aplicadas por *sputtering*, no Laboratório de Materiais Magnéticos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP). A primeira camada, de cromo, tem espessura de aproximadamente 132 nm e segunda camada, de ouro, tem espessura de aproximadamente 117 nm, conforme análise de Rutherford Backscattering Spectroscopy (RBS) (Figura 19).

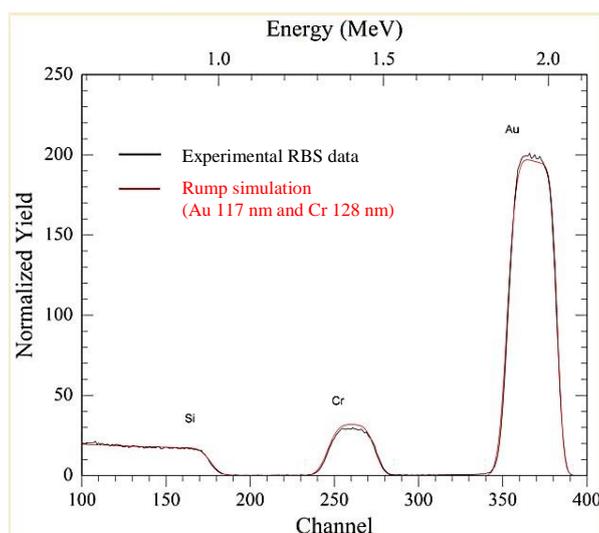


Figura 19: Espectro RBS das camadas de Cr e Au depositadas sobre a superfície de Silício. Fonte: Prof. AD Santos, Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP)

5.2.2 ESTRUTURA DO SENSOR (BIOSENSOR)

Para a funcionalização do sensor para o presente estudo, utilizou-se uma camada de Poli-L-Lisina, proporcionando uma camada polarizada positivamente, para que as células de levedura carregadas negativamente sejam atraídas e imobilizadas sobre o sensor (YI *et al.*, 2003).

A Poli-L-Lisina é um polímero de aminoácido, carregado positivamente, tendo como uma de suas aplicações a adesão não específica de células à substratos sólidos, aumentando a interação eletrostática entre os íons carregados negativamente da membrana da célula e a superfície da cultura. Sendo assim, quando aplicada a superfície da cultura das células, é aumentado o número de sítios carregados positivamente disponível para ligações celular (MAZIA *et al.*, 1975).

A Poli-L-Lisina usada nos experimentos foi fornecida pelo laboratório de Proteômica, Genômica e Reparo de DNA (LPGRD) situado no Instituto de Biotecnologia (IB) da Universidade de Caxias do Sul (UCS).

5.3 PREPARAÇÃO DO ORGANISMO MODELO

A *S. cerevisiae* é uma levedura, que é amplamente utilizada em processos comerciais, pois é a principal espécie na produção de bebidas alcoólicas, e também responsável pelo crescimento do pão, através da liberação de dióxido de carbono. Também é extensamente utilizada como organismo modelo, sendo que sua utilização apresenta vantagens, tais como ser um organismo unicelular, que pode crescer em meios de culturas definidos, permitindo o controle dos parâmetros ambientais.

Para se realizar uma estimativa da variação da frequência de ressonância quando depositadas sobre o sensor deve-se ter o valor da massa média e do diâmetro médio das células de levedura *S. cerevisiae*. De acordo com Haddad S. A. e Lindegren (1953), os valores do diâmetro e a massa média de uma célula de levedura *S. cerevisiae* individual pode são dados na Tabela 3.

Tabela 3: Propriedades da *S. cerevisiae*

Características e propriedades gerais	Valor	Unidade
Massa média	5	pg
Diâmetro médio	5	µm

A *S. cerevisiae* WT usada nos experimentos foi fornecida pelo laboratório de Proteômica, Genômica e Reparo de DNA (LPGRD) do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS).

Para o cultivo da *S. cerevisiae* foi utilizado um protocolo do Instituto de Biologia da UCS, sendo um meio rico YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*) na sua forma líquida (0,5 % extrato de levedura, 2% de peptona, 1% de glicose). Foi utilizada *S. cerevisiae* WT (selvagem) , sendo cultivada em 200 ml de meio YEPD em agitador a 28°C. O crescimento foi verificado através de contagem em câmara de Neubauer, utilizando microscópio ótico.

5.4 CONTAGEM DIRETA DE *S. CEREVISIAE*

O número de células de *S. cerevisiae* do meio de cultura é determinado através da contagem na câmara de Neubauer (Figura 20). Este método serve para estimar a quantidade de células de *S. cerevisiae* no meio de cultura, a fim de garantir a concentração específica do meio utilizado nos testes. Trata-se de uma lâmina especial, precisamente dividida em quadrados de 1 mm² de área, sendo que esta lâmina é coberta com uma lamínula, que deixa um volume, sobre cada quadrado, de 10⁻⁴ cm³ ou 0,1 mm³ (equivalente a 1 ml). A contagem é realizada a partir da visualização da câmara em microscópio ótico Olympus BX3/BX53 com aumento de até 1000 vezes, com câmara CCD acoplada e fotos registradas pelo *software* Q-Capture.

Para automatizar o processo de contagem utilizou-se *software* Imagej 1.48 (2014) na qual apresenta-se exemplo de contagem na de imagem de células de *S. cerevisiae*, de um quadrante na câmara de Neubauer (Figura 21 (a)), contagem executada pelo *software* (Figura 21 (b)), resultando em valor de 466 células.

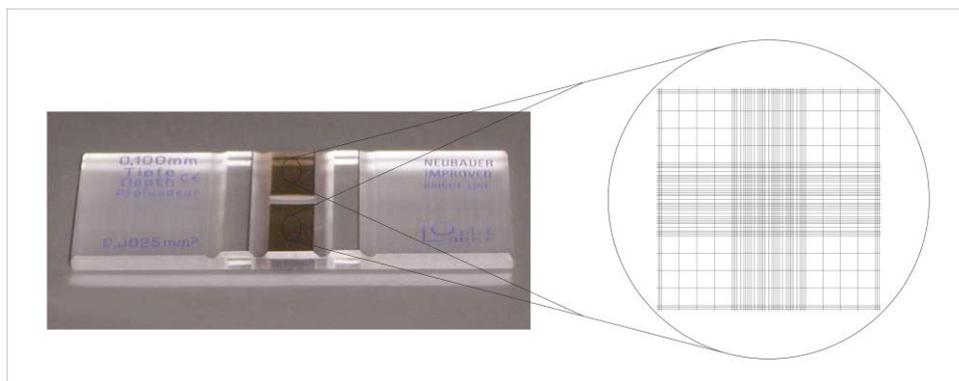


Figura 20: Câmara de Neubauer

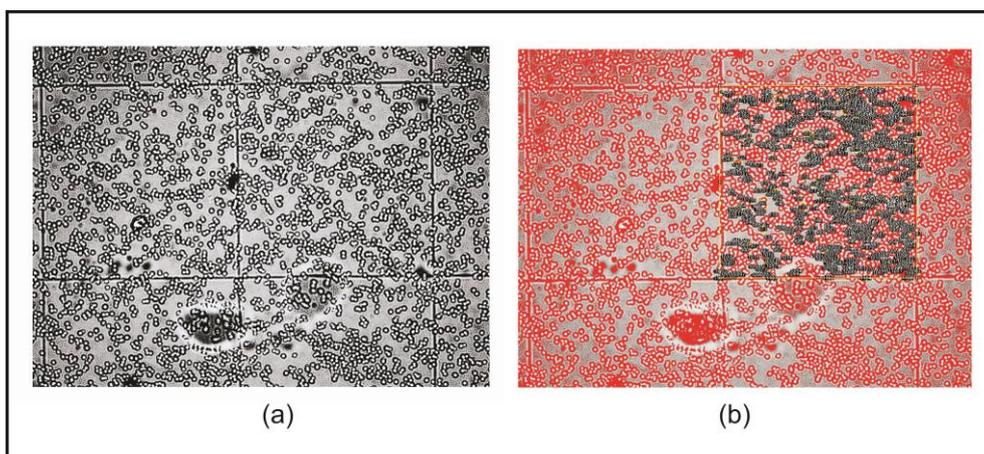


Figura 21: (a) Imagem de microscópio das células de *S. cerevisiae* sobre câmara Neubauer; (b) contagem executada pelo software Imagej 1.48.

5.5 SENSOR DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH

5.5.1 PRODUÇÃO DO POLÍMERO SENSÍVEL AO pH

O polímero sensível a variação do pH foi sintetizado junto ao Laboratório de Pesquisa de Química de Materiais (LPQM) em balão de 50 ml de três tubuladuras, equipado com termômetro, agitador magnético, condensador e entrada de gás, através da copolimerização de radicais livres do ácido acrílico e acrilato de isooctilo em dimetilformamida (DMF).

Antes da polimerização, a solução foi destilada sob pressão reduzida o ácido acrílico e acrilato de isooctilo para a retirada do inibidor éter de hidroquinona. Após a retirada do inibidor, a solução foi desoxigenada borbulhando N_2 durante 1 hora sob agitação constante. Em seguida foi adicionado 0,08 g de 2,2-azobis (isobutyronitrile) e a

temperatura aumentada até 70° C para iniciar a polimerização, sendo mantida por 3 horas em atmosfera de N₂.

O polímero resultante foi lavado com hexano, para a completa remoção dos componentes que não reagiram, sendo posteriormente seco em estufa a vácuo a 120 °C sob pressão de 20 Torr, durante 12 horas, obtendo o polímero final, com densidade de 1,04 g/ml. Sendo que esta metodologia foi baseada nos trabalhos de Cai e Grimes (2000) e Ruan *et al.* (2003b).

5.5.2 APLICAÇÃO DO POLÍMERO SENSÍVEL AO pH AO MATERIAL MAGNETOELÁSTICO

Para a aplicação do polímero sensível ao pH o material magnetoelástico recoberto com cromo e ouro foi funcionalizado a ligações com aplicação de cistamina, sendo deixado durante 12 horas para obtenção de uma camada completa.

O polímero de pH foi preparado para ligação com a cistamina. Foi utilizado a diluição do polímero sensível ao pH com etanol 95% na proporção de 1:9 misturado com solução previamente preparada de 2:8 de tenso ativo e água MILLI-Q. Após a mistura das duas soluções foi sonificada durante 1 hora. Após foi adicionado Carbodiimida (EDC) que tem como função criar a junção de ligação do polímero com a cistamina.

O sensor recoberto com cistamina foi ativado com solução de KOH durante 10 minutos, deixando ativo os sítios de ligação da cistamina. Após o sensor foi mergulhado durante 1 hora na solução previamente preparada com o polímero sensível ao pH.

5.6 SISTEMA DE DETECÇÃO ATRAVÉS DE BOBINA DE HELMHOLTZ

A bobina de Helmholtz consiste em um par de bobinas circulares, de mesmo diâmetro e número de espiras, com corrente elétrica fluindo no mesmo sentido, dispostas em planos distintos separadas por distância igual ao seu raio (Cullity, 2011). A sua principal característica está em apresentar um campo magnético uniforme.

O sistema de detecção consiste no conjunto de dois pares de diâmetros diferentes de bobina de Helmholtz, em arranjo concêntrico. Também é composto por uma bobina secundária de menor diâmetro e mais próxima da amostra na posição central do conjunto denominada *pick-up coil* (Figura 22). A bobina de Helmholtz interna primária é utilizada para a excitação do sensor com estímulo de campo magnético AC. A bobina de Helmholtz

mais externa do conjunto é utilizada para fornecer um campo magnético constante através de uma fonte de corrente DC que amplifica o sinal do sensor. O *pick-up coil* é responsável por detectar o sinal proveniente do sensor magnetoelástico.



Figura 22: Conjunto de dois pares de diâmetros diferentes de bobina de Helmholtz, em arranjo concêntrico

Para gerar a corrente no primário e avaliar a corrente no secundário, foi utilizado gerador de função modelo DS345 Stanford Reserch Systems em conjunto com amplificador sintonizado *Lock-In* modelo 830 Stanford Reserch Systems. Este instrumento permite o controle da frequência aplicada na bobina primária de 0 Hz a 102 kHz, fornecendo uma amplitude de campo magnético AC, ajustável. Juntamente está conectado na bobina de Helmholtz mais externa uma fonte de corrente contínua DC modelo E3634A da Agilent que permite o controle da corrente aplicada de 0 A a 7 A (Figura 23). Os aparelhos são operados por computador e *software* LABVIEW da National Instruments, que possibilita gerenciar todos os parâmetros pertinentes (faixa de frequência, corrente aplicada em campo alternado e contínuo, sensibilidade de retorno de sinal), como é esquematizado na Figura 24. O software de gerenciamento (esquema) se encontra no Apêndice 1.

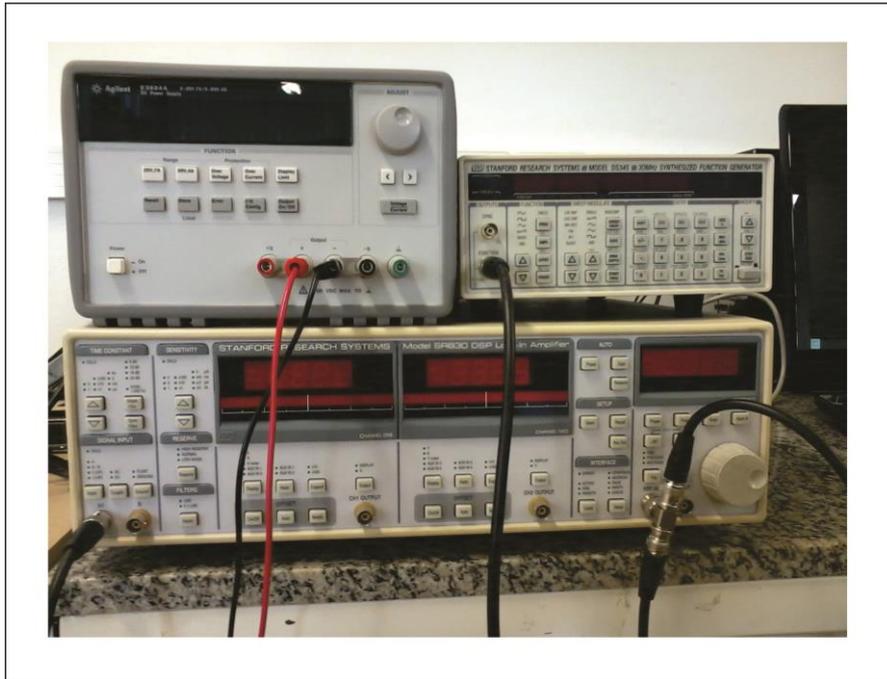


Figura 23 :Instrumentação para utilizar bobina de Helmholtz, composto por Amplificador *Lock-In*, Fonte DC e Gerador de função.

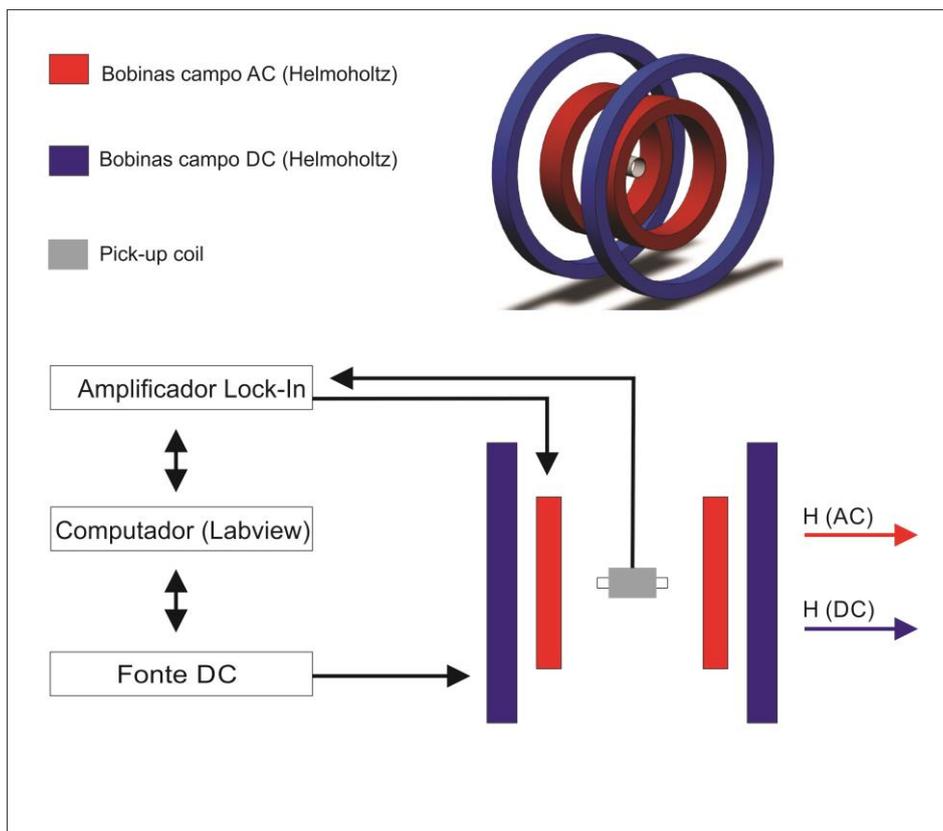


Figura 24: Representação esquemática do sistema de medida do sensor.

5.7 SISTEMA DE AQUISIÇÃO ATRAVÉS DE ANALISADOR DE REDE

O analisador de rede da marca Agilent modelo E5061B HP/Agilent (Figura 25) é um instrumento capaz de analisar as propriedades da rede elétrica, principalmente as associadas a transmissão e reflexão dos sinais elétricos. São expressos em grandezas vetoriais complexas S_{xy} , onde o x representa a porta de saída e o y representa a porta de entrada do componente em teste (NATIONAL INSTRUMENTS, 2014). Logo o parâmetro S_{11} é definido como a relação entre a energia refletida na porta 1 e o sinal incidente na porta 1.

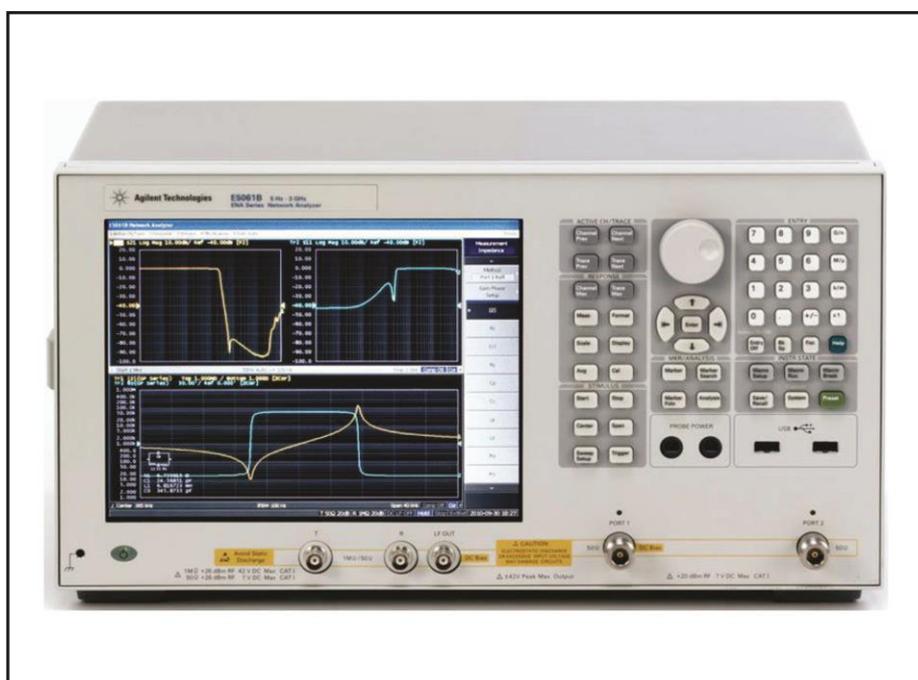


Figura 25: Analisador de rede.

O analisador também tem como função quantificar o descasamento de impedância entre dois componentes de radiofrequência (RF), de forma a maximizar a eficiência da potência e a integridade dos sinais. Cada vez que um sinal de RF deixa um componente e entra em outro, parte do sinal é transmitido e outro é refletido.

O sistema de aquisição através do analisador de rede é composto por apenas uma bobina (*pick-up coil*), que serve como meio de excitação e recepção de sinal proveniente do aparelho e do sensor, respectivamente. Com este equipamento podemos realizar medidas através das portas ganho e fase ou porta S_{11} (Figura 26), conforme pode ser visualizado no esquema de ligação do analisador de rede na Figura 27.

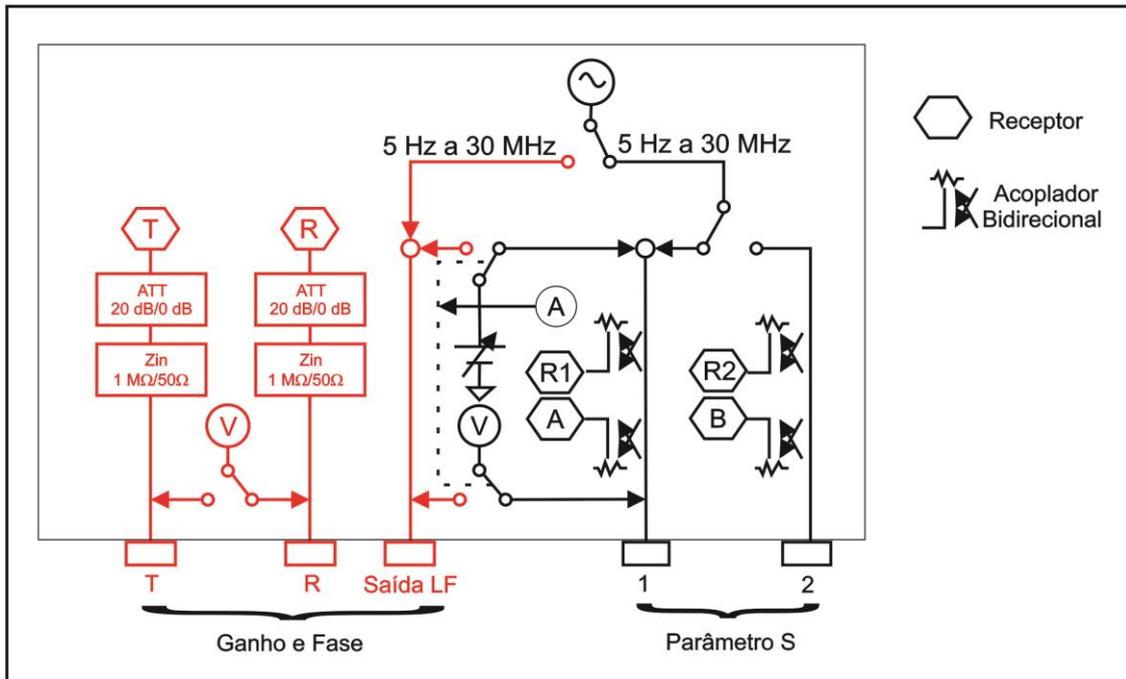


Figura 26: Diagrama de blocos analisador de rede (adaptado AGILENT TECHNOLOGIES).

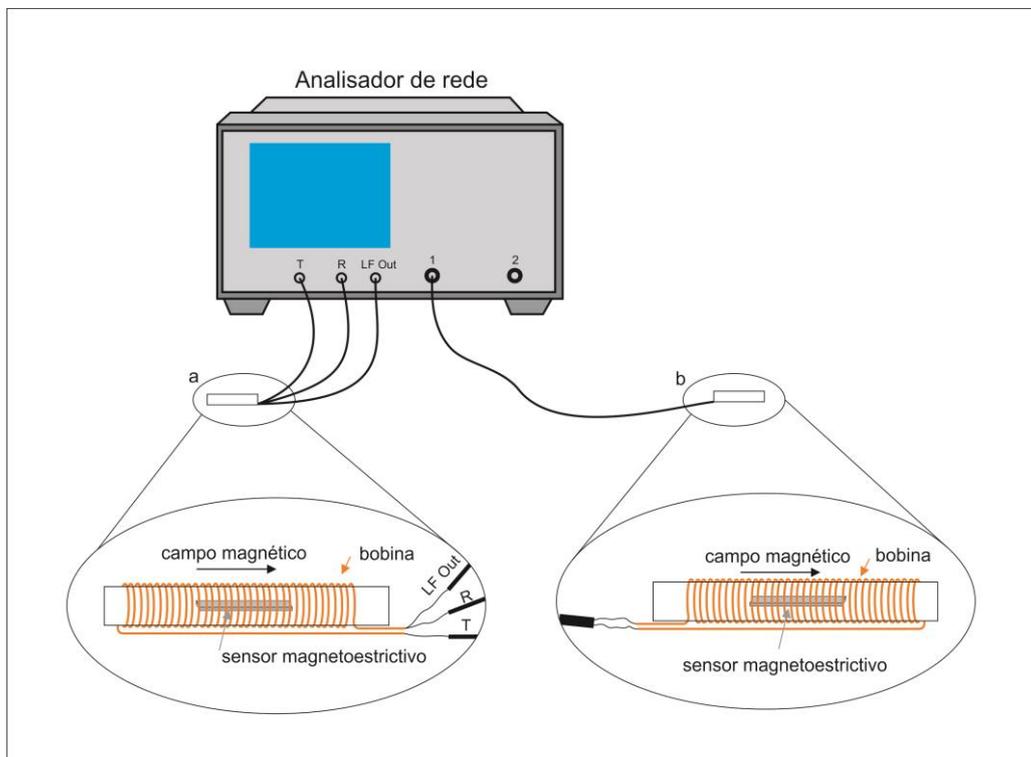


Figura 27: Esquema de ligação de analisador de rede. a) método ganho e fase; b) parâmetro S_{11} .

Este aparelho, pode ser operado diretamente no seu painel ou através de comunicação remota, através de programa desenvolvido em linguagem de programação “C”, ou através de planilha desenvolvida no Excel com execução de macros. O programa em “C” está fornecido no Apêndice 2.

O *software* proposto propicia ajustar todos os parâmetros pertinentes ao estudo, de forma automática e repetitiva, pois possibilita salvar os parâmetros pré-selecionados em um arquivo, sendo possível executá-los posteriormente. O software foi implementado para utilizar a comunicação com o aparelho através de *ethernet* (rede local). Podendo assim ter uma comunicação cabeada ou através de um *hub wireless*, uma comunicação sem fio entre o aparelho e um notebook.

O *software* também tem como função, posicionar marcadores em pontos específicos na curva de resposta e automatizar as leituras (aquisição de dados) sendo possível executá-las de tempos em tempos por um período pré-determinado. Ao final da aquisição o sistema disponibiliza todos os dados salvos em arquivos textos.

Para se verificar a estabilidade do sistema de leitura, foi realizado uma sequência de testes com o analisador de rede, sendo que para se obter medidas mais confiáveis, o aparelho deve ser ligado com antecedência de pelo menos 1 hora, num ambiente de temperatura estável (23°C).

O material magnetoelástico foi posicionado dentro de um *eppendorf*, sendo avaliado por um período de 5 horas, conforme segue:

- Primeiro caso: exposto ao ambiente (laboratório), sem proteção superficial contra oscilações climáticas;
- Segundo caso: sistema posicionado dentro de uma caixa estanque;
- Terceiro caso: sistema posicionado dentro de uma caixa estanque e sensor em meio líquido (água).
- Verificou-se juntamente com o analisador de rede a melhor condição de campo magnético DC, variando a DC *bias* do equipamento.

5.8 DISPOSITIVO PORTÁTIL

O dispositivo portátil consiste em um equipamento eletrônico com função específica de medida da frequência de ressonância. O sistema é dotado de uma unidade de processamento principal, tela, teclado e circuitos auxiliares específicos. O princípio de

operação consiste em gerar uma corrente alternada de excitação (campo magnético oscilante) em diferentes frequências, determinadas pelas variáveis informadas pelo usuário como início, incremento e fim.

O sistema eletrônico proposto baseia-se na utilização de integrados com funções específicas, integrado programável (microcontrolador) e outros circuitos auxiliares, conforme diagrama Figura 28.

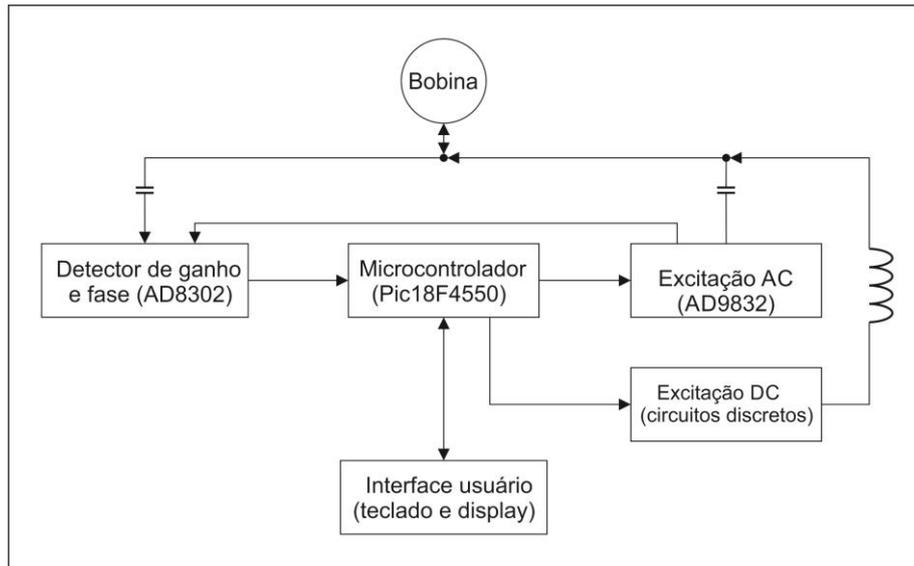


Figura 28: Diagrama esquemático do funcionamento do aparelho

O microcontrolador (integrado programável) é o PIC18F4550 da empresa *Microchip Technology Inc.* Este chip armazena a programação para a determinação da frequência de ressonância do material magnetoelástico. Sua pinagem é apresentada na Figura 29.

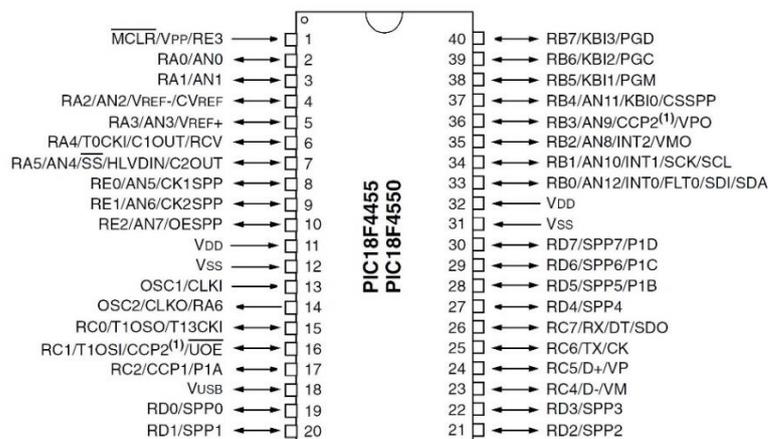


Figura 29 : Pinagem do microcontrolador PIC18F4550 (MICROCHIP TECHNOLOGY INC.)

O microcontrolador trabalha com tensão DC de 5 V, sendo suas principais características apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Características do microcontrolador PIC18F4550

Características	Descrição
Frequência de operação	DC – 48 MHz
Memória de programa (Bytes)	32768
Memória de programa (instruções)	16384
Memória de dados (Bytes)	2048
Memória de dados EEPROM (Bytes)	256
Fontes de interrupção	20
Portas I/O (entrada/saída)	Portas A, B, C, D, E
Temporizadores	4
Captura/Comparação/Módulo PWM	1
Captura melhorada /Compare / Módulo PWM	1
Comunicação serial	MSSP, USART Melhorada
Módulo USB	1
Transmissão de porta paralela (SSP)	sim
Módulo analógico digital 10-bit	13 canais de entrada
Comparadores	2
Reset (e atrasos)	POR, BOR, Instrução RESET , Pilha completa, Pilha de estouro negativo (PWRT, OST), MCLR (opcional), WDT
Programação a baixa voltagem	sim
Conjunto de instruções	75 instruções; 83 com conjunto de instruções estendida ativada
Embalagem	40-pin PDIP 44-pin QFN 44-pin TQFP

Fonte: Microchip Technology Inc.

O microcontrolador é o coração do dispositivo portátil, na qual comporta o programa (Apêndice 3) de determinação da frequência de ressonância, sendo que

compreende todos os dados de entrada e saída do dispositivo, juntamente com os comandos de excitação que incidem no sensor e a análise da resposta do sinal captado. O dispositivo portátil pode ser operado através de seu teclado numérico matricial Figura 30 (a), juntamente com seu display de LCD alfanumérico Figura 30 (b) na qual apresenta as informações pertinentes de operação, juntamente com a resposta final após a leitura. Ele também é responsável pela interface com computador de onde pode-se operar o dispositivo portátil, se utilizando de comunicação RS232 juntamente com *software* específico desenvolvido no LABVIEW apresentado no Apêndice 4.

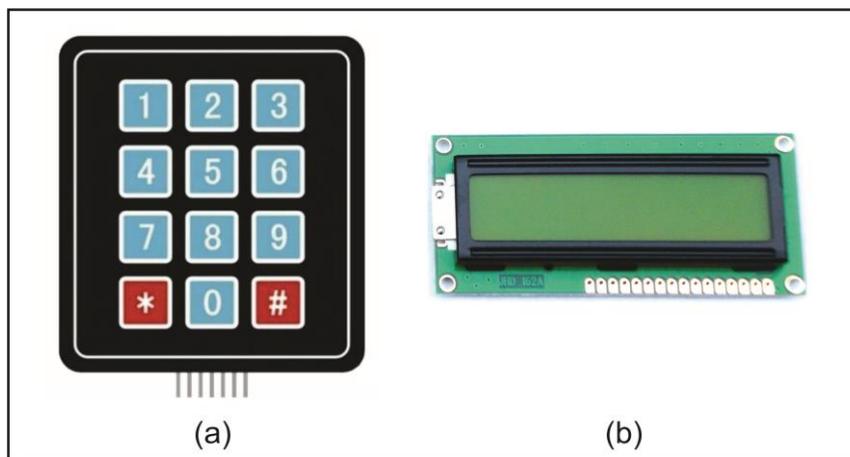


Figura 30: (a) Teclado numérico matricial; (b) Display de LCD alfanumérico.

Utilizou-se também outro integrado, AD9832, de função específica da Analog Devices Inc, que é responsável por sintetizar onda senoidal (excitação AC) que incide na bobina.

A operação do integrado em sintetizar ondas senoidais com frequência variável, está no fato de não utilizar a equação que representa a onda senoidal que é não linear (Equação 8 e Figura 31 (a)), mas sim quando utiliza a informação angular que é de natureza linear. Isto é, o ângulo de fase representa um ângulo fixo por unidade de tempo. A velocidade angular depende da frequência do sinal, conforme Equação 9 (ANALOG DEVICES). Com isso obtém-se a Equação 10 e a Figura 31 (b). Isto é possível, pois o integrado armazena em sua memória uma tabela com valores de magnitude representando a onda senoidal, sendo a leitura desta tabela comandada pelo valor de fase que é comandada pelo usuário.

$$a(t) = \sin(\omega t) \quad (8)$$

onde a é a magnitude (amplitude), t é tempo e ω é a velocidade angular.

$$\omega = 2\pi f \quad (9)$$

onde f a frequência do sinal senoidal.

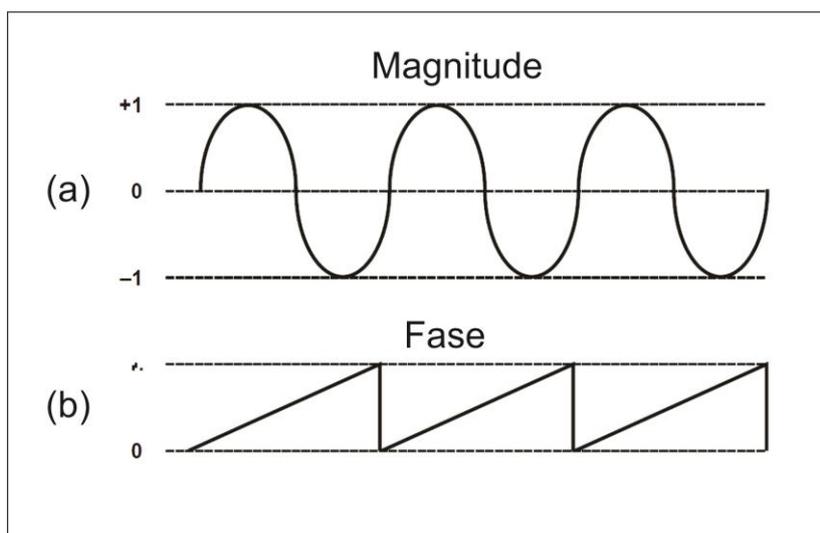


Figura 31: (a) Representação da onda senoidal em magnitude. (b) Representação da onda senoidal em função da fase. (adaptado ANALOG DEVICES)

Sabendo-se que a fase de uma onda senoidal é linear e determinando um intervalo de referência (período de relógio) (δt), a variação da fase (Δ_{fase}) para esse período pode ser determinado pela (Equação 11):

$$\Delta_{fase} = \omega \delta t \quad (10)$$

Resolvendo para ω (Equação 10),

$$\omega = \frac{\Delta_{fase}}{\delta t} = 2\pi f \quad (11)$$

Resolvendo para f e substituindo a frequência de clock de referência (f_{MCLK}) para o período de referência ($1/f_{MCLK} = \delta t$),

$$f = \Delta_{\text{fase}} \frac{f_{\text{MCLK}}}{2\pi} \quad (12)$$

O AD9832 constrói a saída com base nessa equação simples, gerando a onda senoidal conforme a necessidade até limite de 25 MHz.

Apresenta-se também outro integrado da Analog Devices Inc, o AD8302 (detector de ganho e fase) na qual tem como função específica analisar o sinal de resposta em relação ao sinal incidente. Apresenta como resposta a diferença de magnitude (ganho) podendo variar de 0 a -60 dBm e diferença de fase entre os sinais de 0° a 180°. Estas respostas são disponibilizadas por portas independentes em valores de voltagem captadas pelas portas analógicas digitais (AD) do microcontrolador PIC18F4550.

O dispositivo portátil (Figura 32) será verificado executando testes comparativos com sensores de material magnetoelástico em vários comprimentos (variando o valor da frequência de ressonância), em relação a medidas realizadas com os equipamentos comerciais, amplificador sintonizado *Lock-In* (bobina de Helmholtz), gerador de função e analisador de rede. O esquema eletrônico utilizado no dispositivo portátil é apresentado no Apêndice 5.

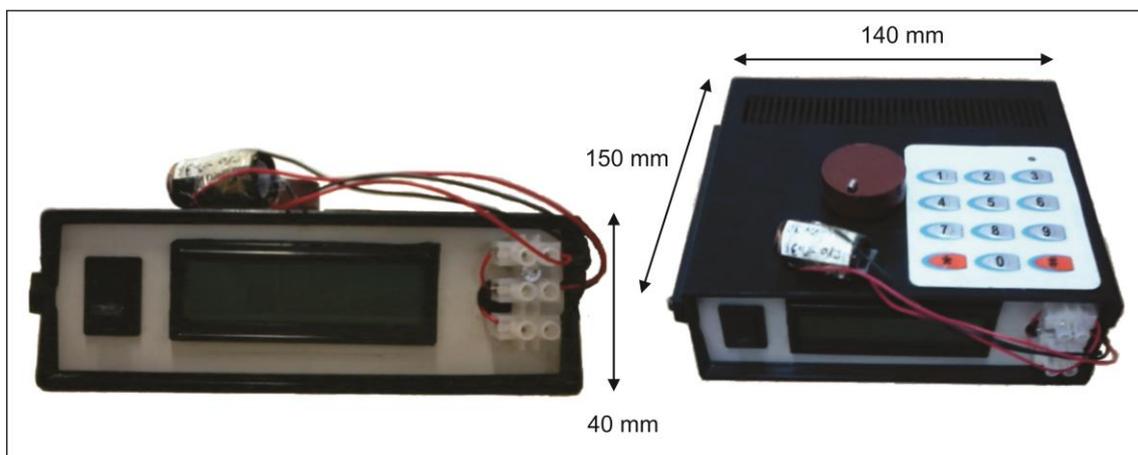


Figura 32: Dispositivo portátil.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 INTERFERÊNCIAS NAS MEDIDAS DO ANALISADOR DE REDE

Nos testes em que utilizou-se o analisador de rede, fica claro que as leituras de frequência de ressonância sofrem diversas interferências. As interferências provenientes do meio ambiente (descargas atmosféricas, temperatura, umidade oscilante e até mesmo equipamentos elétricos ligados nas proximidades) geram variações nas leituras.

Além do meio onde o sensor está exposto, outro fator que contribui na variação da operação do material magnetoelástico é o campo magnético aplicado através da tensão de *bias*, o qual altera o ponto de operação, deslocando o pico de ressonância, juntamente maximizando ou reduzindo a amplitude do sinal de resposta.

Para eliminar estas interferências magnéticas, desenvolveu-se um sistema de blindagem, onde a bobina (excitação e leitura) fica isolada em uma caixa de alumínio (Figura 33), propiciando uma blindagem eletromagnética. Para garantir uma temperatura constante durante todo o experimento, o sistema foi colocado em uma incubadora, substituindo a caixa de poliestireno expandido.

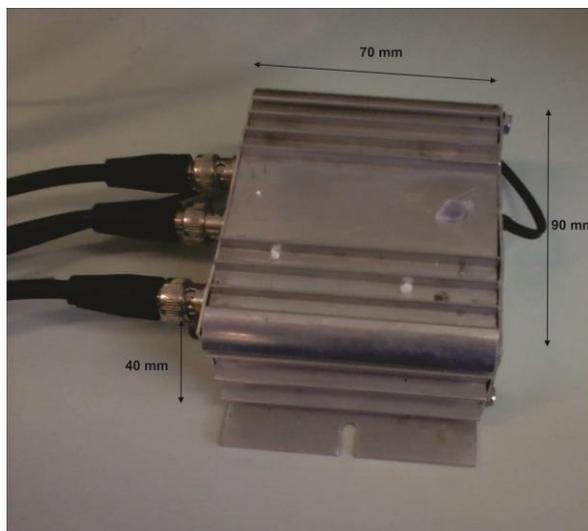


Figura 33: Caixa de blindagem para bobina de leitura de frequência de ressonância

Executou-se testes em diferentes temperaturas e diferentes intensidades de campo magnético em um mesmo sensor. Através da variação da tensão DC (*bias*), variando de 5 V a 10 V com incrementos de 0,5 V, proporcionando campos apresentados na

Tabela 5. Cada ponto representa a média de 5 medidas de frequência de ressonância, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 34.

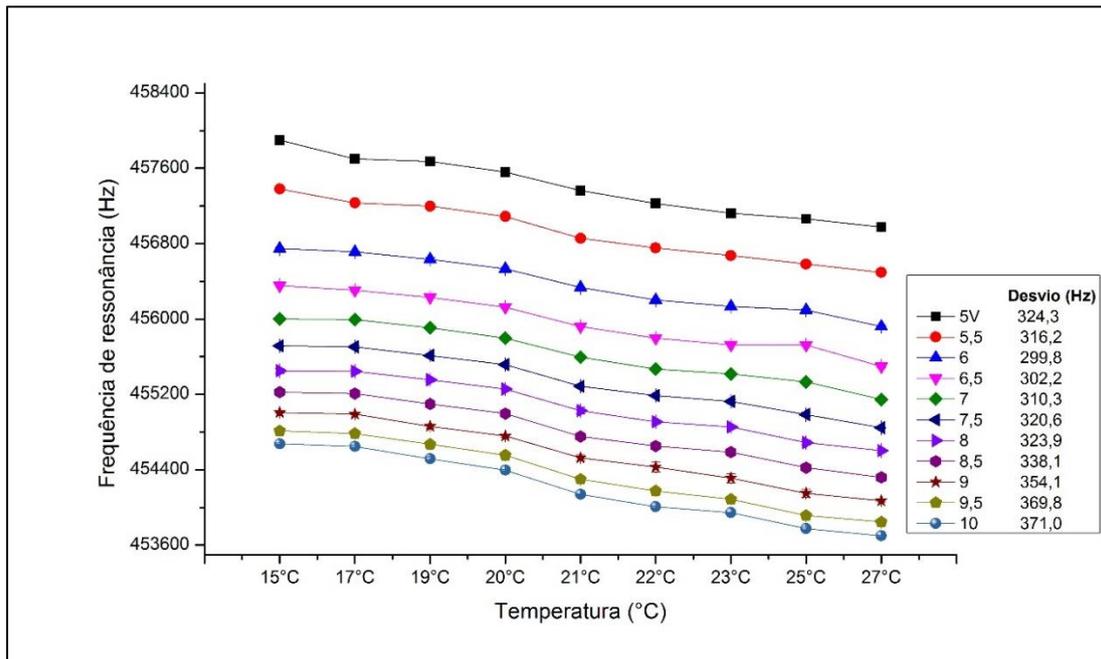


Figura 34: Variação da frequência de ressonância com a temperatura aplicando valores diferentes de campos através da DC (*bias*).

Pode-se observar uma tendência semelhante do comportamento das curvas nos diversos campos, evidenciando que a mudança da temperatura altera a frequência de ressonância, em qualquer campo magnético. Logo, pode-se optar por qualquer temperatura para executar medidas de frequência de ressonância, visto que todas influenciam no resultado de forma idêntica. Resultados semelhantes foram observados no estudo realizado por Jain et al.(2001), que utilizou a liga 2826 MB, muito semelhante a estudada neste trabalho, e observou que o aumento da temperatura provocou a dilatação térmica do material do sensor, contribuindo de forma linear para a redução da frequência de ressonância.

6.2 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE OPERAÇÃO NO ANALISADOR DE REDE

Para se determinar o ponto de operação do sistema (equipamentos, bobina, material magnetoelástico), deve-se determinar o campo magnético fornecido pelo solenoide sobre o material magnetoelástico.

O campo magnético do solenoide pode ser calculado através da Equação 13, onde a permeabilidade magnética do vácuo $\mu_0 = 4 \pi \cdot 10^{-7}$, N = número de espiras, L = comprimento do solenoide em metros (m) e i = corrente em ampere (A).

$$B = \mu_0 \cdot \frac{N}{L} \cdot i \quad (13)$$

A bobina em uso foi construída com número de espiras $N = 250$ espiras e um comprimento de $L = 0,015$ m.

O aparelho analisador de rede não permite o controle direto da corrente elétrica da DC *bias*, apenas disponibiliza a informação, possuindo um limite desta corrente elétrica em 120 mA, após entra em modo de proteção desligando a *bias*. Logo, variando-se a tensão de *bias*, já que a bobina apresenta uma resistência fixa, alteramos a corrente elétrica que passa pelo circuito e conseqüentemente variando o campo magnético. Os resultados dos cálculos utilizando-se a Equação 9 são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Cálculo do campo magnético (DC *bias*):

Tensão (V)	Corrente (A)	Campo (Oe)
5	0,046	9,63
5,5	0,05	10,47
6	0,055	11,52
6,5	0,059	12,35
7	0,064	13,40
7,5	0,069	14,45
8	0,073	15,28
8,5	0,078	16,33
9	0,083	17,38
9,5	0,087	18,22
10	0,092	19,26
10,5	0,096	20,10
11	0,1	20,94
11,5	0,105	21,98
12	0,11	23,03

Conforme Mungle *et al.* (2002), sabe-se que o campo magnético proporcionado pela tensão DC *bias* tem uma influência quanto a frequência de ressonância em função da temperatura. Com determinados campos a temperatura tem uma influência de incrementar e em outros de decrementar a frequência de ressonância. Para se determinar o ponto de operação com bobina descrita acima foi utilizado material magnetoelástico sem nenhuma cobertura com dimensões de 5 mm x 1mm x 0,29 mm em temperatura fixa em 22°C. A tensão do sistema (DC *bias*) foi incrementada de 0 V a 12 V, consequentemente fornecendo campo magnético conforme Tabela 5.

Foi verificado valores de frequência de ressonância distintos para cada campo conforme previsto por Squire (1990).

A Figura 35 apresenta esta variação da frequência de ressonância e amplitude, sendo escolhido o campo magnético DC ideal onde o ponto de frequência de ressonância é mínimo e a amplitude é a máxima (linha vermelha), conforme trabalho realizado por Grimes *et al.*, 2002.

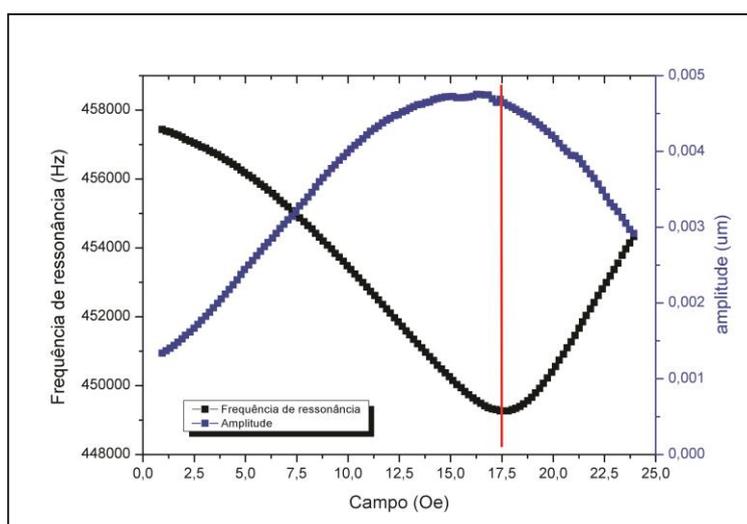


Figura 35: Variação da frequência de ressonância e amplitude em função de campo magnético DC aplicado, onde a linha vermelha representa o ponto de maior amplitude e frequência de ressonância mínima.

O valor obtido para o campo é de 17,5 Oe na qual é fornecido quando a tensão DC *bias* está em 9 V de acordo com a Tabela 5.

Sendo então este campo o ideal para se trabalhar com os sensores nas dimensões de 5 mm x 1 mm x 0,029 mm, juntamente com a bobina. Este ponto de operação garante também a utilização do máximo sinal de resposta do material magnetoelástico.

6.3 ESTABILIDADE DO SISTEMA DE LEITURA: ANALISADOR DE REDE

Para os testes de estabilidade foram utilizados sensores de imensões de 5 x 1 x 0,029 mm, posicionado no centro da bobina de leitura, aplicando um campo magnético DC de 17,38 Oe.

Foram executados três casos, sendo o primeiro com o sensor exposto ao ar sem nenhuma proteção. O segundo caso o sensor foi protegido do meio ambiente e o terceiro caso o sensor foi exposto a água destilada para testar a degradação.

6.3.1 PRIMEIRO CASO

As medidas de frequência de ressonância foram registradas, sendo que as amostras foram mantidas paradas (estacionário) durante todo o tempo exposto ao ambiente da sala e sem proteção contra as oscilações climáticas. As medidas foram executadas de 6 em 6 minutos, ligando o equipamento no início da análise. O sistema apresenta uma instabilidade inicial, que deve ser relativa a sua estabilização de temperatura e níveis de tensão. Levando-se em conta todas as medidas obteve-se um desvio padrão da média na ordem de 16 Hz, conforme observado na Figura 36.

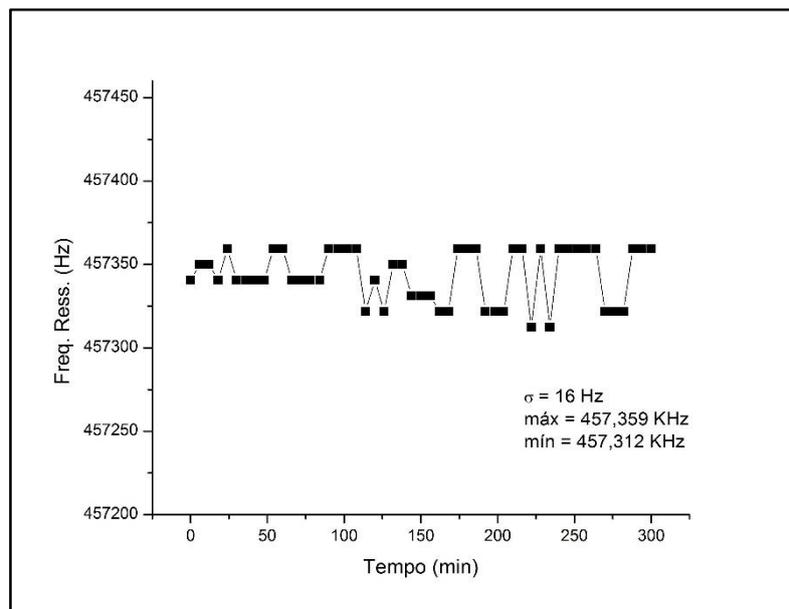


Figura 36: Variação da frequência de ressonância em função do tempo para o sensor exposto ao laboratório.

6.3.2 SEGUNDO CASO

Para o segundo caso foi utilizada uma caixa estanque de poliestireno expandido para isolar o sensor das variações climáticas, deixando a temperatura estável em temperatura de 26°C. Os resultados são apresentados na Figura 37, onde observa-se patamares de estabilidade. Levando-se em conta todas as medidas obteve-se um desvio padrão da média na ordem de 8 Hz.

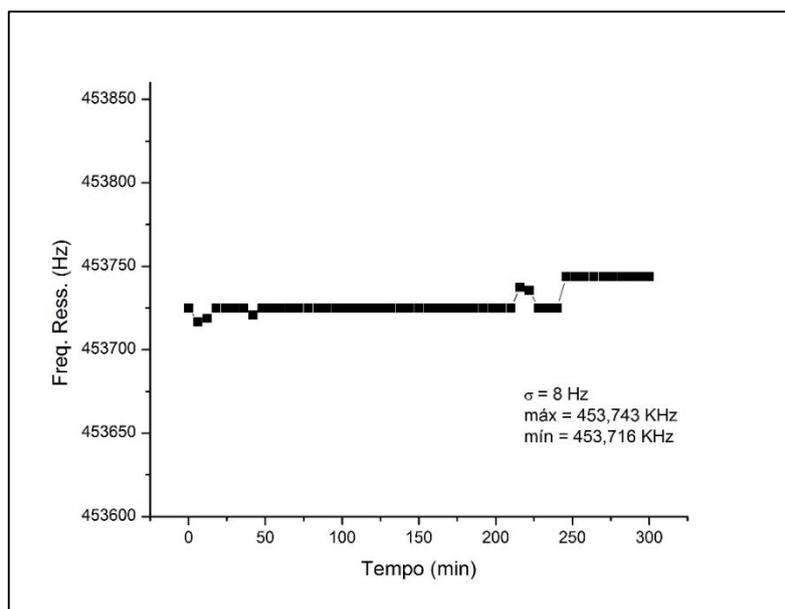


Figura 37: Variação da frequência de ressonância em função do tempo para o sensor em caixa de poliestireno.

A instabilidade encontrada é referente aos ruídos do meio ambiente na qual podem ser provenientes da rede elétrica, bem como as incertezas geradas pelo dispositivo de leitura.

6.3.3 TERCEIRO CASO

O sensor magnetoelástico foi disposto no interior do *ependorf* preenchido com água destilada para verificar a degradação do material magnetoelástico. Pode-se observar que a frequência foi decaindo com o aumento do tempo, sendo interrompido com o final do experimento (Figura 38). Este decaimento constante pode ser decorrente dos processos de corrosão e de lixiviação dos metais da liga do material magnetoelástico. Esta lixiviação dos metais tem um efeito de citotoxicidade sobre o meio biológico conforme trabalho

realizado por Menti *et al.* (2016), assim demonstrando a necessidade de uma camada de proteção no material magnetoelástico.

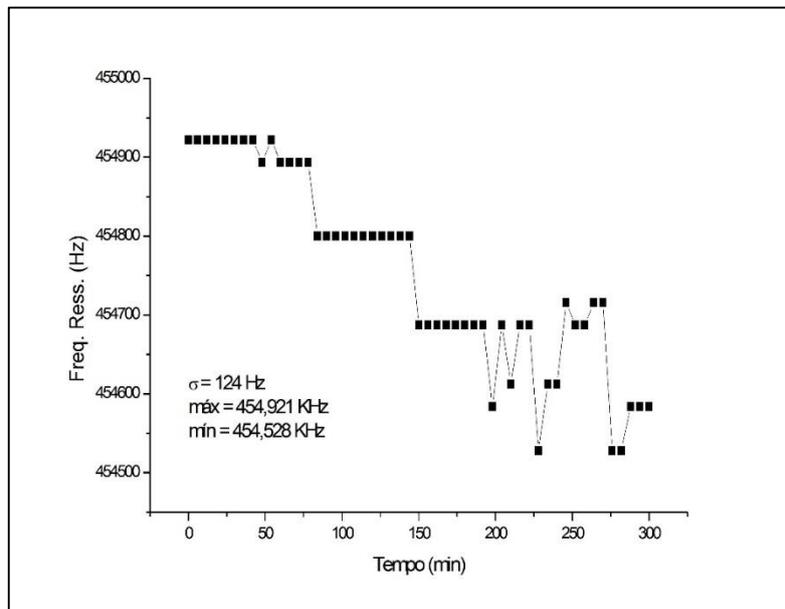


Figura 38: Variação da frequência de ressonância do sensor imerso em água destilada em função do tempo.

A partir dos resultados dos 3 casos estudados, observa-se que é importante para a estabilidade das medidas a utilização de um sistema de isolamento (segundo caso) que garante uma menor variação das medições devido a não permitir a influência do meio (isolamento térmico e ao fluxo de ar). Além disso, observou-se que em meios líquidos (terceiro caso) ocorre uma grande variação de medidas devido a possível corrosão do material base. Logo, quando o sensor é exposto ao meio líquido, faz-se necessário utilizar uma proteção, como o completo recobrimento de cromo e ouro por *sputtering*.

6.4 VARIACÃO DA FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA PARA *S. CEREVISIAE* E SENSIBILIDADE DE MASSA

Para este estudo foi empregado o analisador de rede utilizando como parâmetros o sistema blindado juntamente este disposto em recipiente com temperatura controlada, sendo também utilizado campo pré determinado de 17,38 Oe.

O material magnetoelástico se apresenta como um transdutor na qual é sensível a massa disposta em sua superfície. Com este estudo pretende-se determinar a variação da

frequência de ressonância quando exposto a uma variação de massa e determinar sua sensibilidade de massa.

6.4.1 VARIAÇÃO TEÓRICA

Considerando-se um sensor de tamanho de 5 x 1 x 0,029 mm³ com uma distribuição perfeita de *S. cerevisiae* sobre apenas uma das faces do sensor, obtemos uma variação de frequência máxima teórica calculada através dos seguintes cálculos:

1° Cálculo de frequência de ressonância teórica (f_0):

Considerando-se os dados da Tabela 1 e através da equação 1 obtemos a frequência de ressonância teórica:

$$f_0 = 445,393 \text{ kHz}$$

2° Cálculo de massa de *S. cerevisiae* sobre o sensor (Δ_m):

A partir dos dados de massa e diâmetro médio da *S. cerevisiae* apresentados na Tabela 2 e considerando a utilização de um sensor de tamanho 5 x 1 x 0,029 mm. A área superficial do sensor, considerando apenas uma face é de 5 mm². Se o sensor for recoberto com células de *S. cerevisiae* em toda sua área teremos uma quantidade teórica de 254.712 células.

Logo multiplicando-se a quantidade de células sobre o sensor pelo valor de sua massa média unitária de 5 pg (Tabela 3), obteve-se um valor de massa total de células sobre o sensor:

$$\Delta_m = 1,27 \times 10^{-6} \text{ g de célula/sensor}$$

3° Cálculo da massa do sensor (m_0):

Para o cálculo da massa do sensor sem carregamento (m_0) utilizou-se a Equação 3. Logo, obteve-se:

$$m_0 = 0,00114 \text{ g}$$

4° Variação da frequência máxima teórica para *S. cerevisiae*:

Através da equação 2, obteve-se a variação de frequência máxima teórica para o sensor preenchido com *S. cerevisiae*:

$$\Delta f = - 248 \text{ Hz, para uma face.}$$

Logo, para as duas faces do sensor, tem-se $\Delta f = - 496 \text{ Hz}$

5° Sensibilidade de massa teórica:

Com a massa (Δm) sobre o sensor e a variação de frequência máxima teórica (Δf) pode-se, através da equação 4, determinar a sensibilidade de massa teórica:

$$S_m = 0,00019 \text{ Hz/pg.}$$

O analisador de rede tem uma precisão decimal da ordem de 0,001 Hz. Contudo, considerando que todo o sistema de leitura (sensor, bobina e equipamento de leitura) apresenta um desvio padrão de 8 Hz, conclui-se que a menor massa detectável teórica de *S. cerevisiae* no sensor estudado é de $42 \times 10^3 \text{ pg}$, resultando em uma quantidade de 8400 células de *S. cerevisiae* (referente a massa média unitária de 5 pg (Tabela 3)).

6.4.2 TESTES COM *S. CEREVISIAE*

Para o teste com *S. cerevisiae* utilizou-se um sensor de tamanho de 5 x 1 x 0,029 mm e aplicou-se em ambas as faces uma camada de Poli-L-Lisina para promover sua funcionalização. Utilizou-se uma solução contendo *S. cerevisiae* e sua concentração, determinada através da contagem na câmara de Neubauer, foi estimada em $4,87 \times 10^6$ células por ml de solução.

Realizou-se medidas de frequência de ressonância preliminares (branco) do sensor funcionalizado, sendo o mesmo acondicionado em um tubo contendo meio inerte PBS (*Phosphate Buffer Saline*).

Após medida do branco o sensor foi exposto a solução de *S. cerevisiae* por um período de 5 minutos, sendo retirado e acondicionado em tubo contendo PBS para medidas de contaminação. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 39.

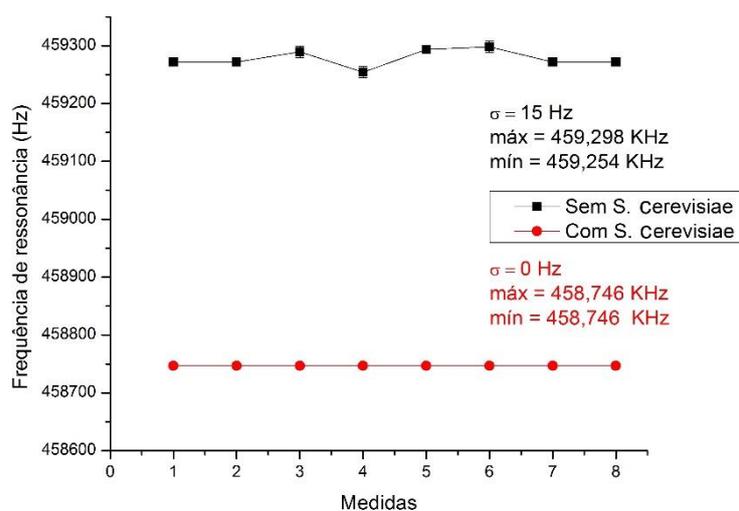


Figura 39: Variação relativa da frequência de ressonância com imersão em *S. cerevisiae*

Para a avaliação da morfologia do material magnetoelástico sem recobrimento, funcionalizado com Poli-L-Lisina e após a captura da *S. cerevisiae*, utilizou-se a técnica de Field Emission Scanning Electron Microscopy (MEV-FEG), equipamento Tescan, modelo Mira3. A Figura 40 (a) e (b), apresenta uma ampliação de 10.000 vezes, onde observa-se o material magnetoelástico limpo e funcionalizado com Poli-L-Lisina respectivamente. Na Figura 40 (c) apresenta a imagem do sensor funcionalizado com Poli-L-Lisina e células de *S. cerevisiae*, capturadas em ampliação de 20.000 vezes.

Verifica-se que o sensor sem recobrimento (Figura 40 (a)) apresenta uma morfologia superficial uniforme, típica de ligas metálicas. No sensor funcionalizado com Poli-L-Lisina (Figura 40 (b)) observa-se um recobrimento completo, apresentando irregularidades (ondulações), ocasionadas por sobreposições de camadas do polímero de funcionalização. Após a exposição ao meio com células, observa-se que a Poli-L-Lisina proporcionou a captura de células de *S. cerevisiae* de forma uniforme e com boa adesão

aparente (Figura 40 (c)), o que provocou uma variação na frequência de ressonância, conforme visto na Figura 38.

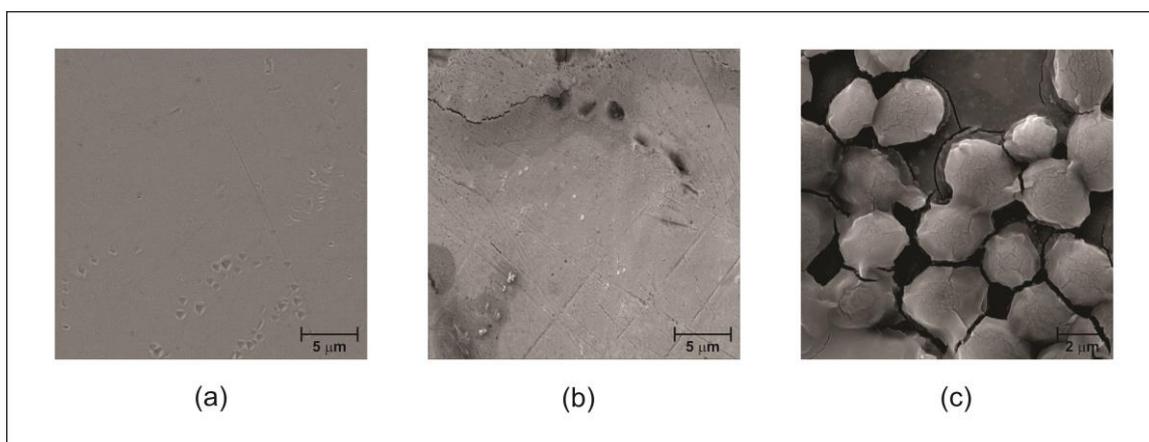


Figura 40: (a) microscopia do sensor magnetoelástico sem recobrimento.
(b) funcionalizado com Poli-L-Lisina, ambos em ampliação de 10.000 vezes.
(c) microscopia do sensor funcionalizado com Poli-L-Lisina e células de *S. cerevisiae*, capturadas ampliação de 20.000 vezes.

A partir dos resultados apresentados, observa-se que após o contato com *S. cerevisiae*, o sensor apresentou uma variação de $\Delta f = -531$ Hz. O valor obtido experimentalmente está acima do valor calculado como frequência máxima teórica que é de 496 Hz. O desvio apresentado do resultado teórico se apresenta em 7%, sendo que o sistema (sensor, bobina e equipamento de leitura) quando apresenta seu menor desvio é na ordem de 8%. Deve-se considerar também a mudança nas características do sensor com a adição da camada de Poli-L-Lisina, pois esta proporciona um carregamento de massa sobre o mesmo e principalmente uma mudança no módulo de elasticidade devido a completa adesão da Poli-L-Lisina a superfície metálica do sensor.

Também estes resultados indicam que a Poli-L-Lisina é um polímero eficiente para captura de células de *S. cerevisiae*. E o sistema também se mostrou eficaz na detecção de carregamentos de massa, igualmente demonstrado em estudo realizado por YI *et al.* (2003).

6.5 MEDIDAS COM DISPOSITIVO PORTÁTIL

Foram executadas as medidas da frequência de ressonância pelo tempo com o dispositivo portátil, para comparação com dispositivos comerciais disponíveis. Utilizou-se para a comparação o amplificador sintonizado *Lock-In* (bobina de Helmholtz), o gerador de função e o analisador de rede. Verifica-se que as medidas da frequência de ressonância entre os dispositivos não são iguais (Figura 41). Além disso, observa-se que, dentre todos os equipamentos utilizados, o dispositivo portátil apresenta um maior desvio (17 Hz).

Nesta comparação observa-se que mesmo entre os sistemas comerciais se apresentam diferenças na medida de frequência de ressonância de um mesmo sensor. Também pode-se verificar que em comparação a trabalho realizado por Zeng *et. al.* (2002) ele apresenta desvios compatíveis a uma eletrônica mais simplificada. Esta eletrônica simplificada não apresenta circuitos dedicados para eliminar ruídos e interferências do meio ambiente, justificando seu maior desvio.

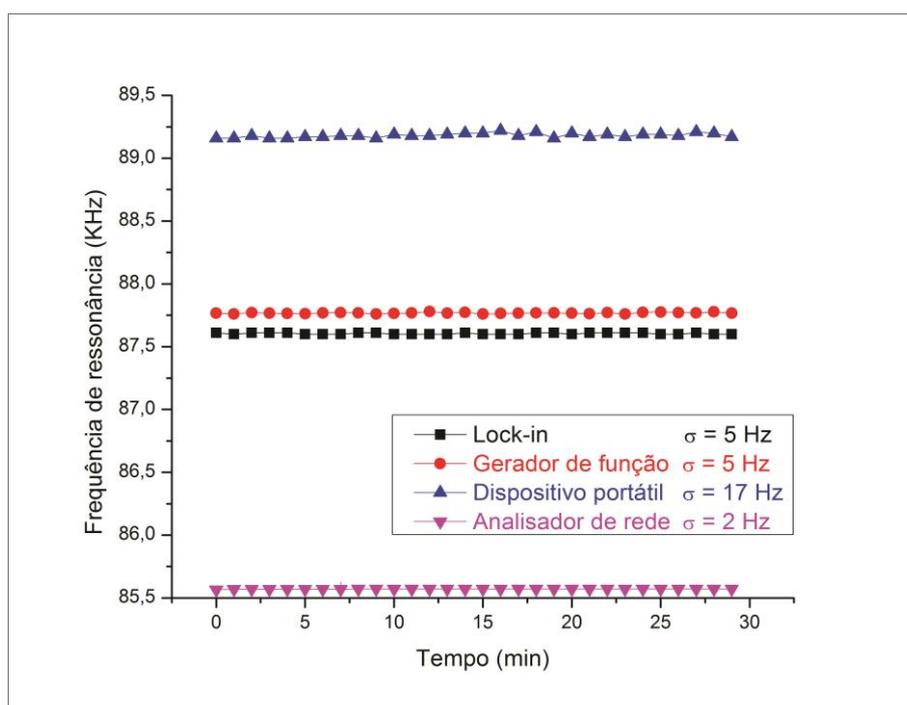


Figura 41: Comparação da frequência de ressonância nos dispositivos

Realizou-se medidas com sensores de dimensões distinta (quintuplicata) no dispositivo portátil a fim de compara-las com os resultados obtidos no amplificador sintonizado *Lock-In* (bobina de Helmholtz). Os valores obtidos da frequência de ressonância estão na Tabela 6 e na Figura 42 apresenta a frequência de ressonância para

apenas um conjunto de medidas. As ressonâncias obtidas estão dentro da faixa esperada, com um baixo grau de incerteza, comparando com o cálculo teórico.

Tabela 6: Frequência de ressonância em quatro comprimentos distintos.

Equipamento	Comprimento (cm)	Frequência média (kHz)			
		Fita 1	Fita 2	Fita 3	Fita 4
<i>Lock-In</i>	2,5	89,403 ± 0	89,088 ± 0	89,243 ± 0	88,820 ± 0
Disp. Portátil		89,187 ± 0,10	89,035 ± 0,09	89,255 ± 0,09	88,818 ± 0,15
<i>Lock-In</i>	2,8	76,950 ± 0	77,590 ± 0	77,098 ± 0	77,335 ± 0
Disp. Portátil		77,117 ± 0,25	77,573 ± 0,17	77,383 ± 0,12	77,248 ± 0,01
<i>Lock-In</i>	3,5	59,700 ± 0	58,815 ± 0	60,815 ± 0	60,730 ± 0
Disp. Portátil		60,415 ± 0,48	59,910 ± 0,81	61,550 ± 0,14	61,345 ± 0,04
<i>Lock-In</i>	4,0	52,420 ± 0	53,708 ± 0	53,398 ± 0	52,223 ± 0
Disp. Portátil		53,530 ± 0,33	54,207 ± 0,34	54,122 ± 0,31	53,260 ± 0,28

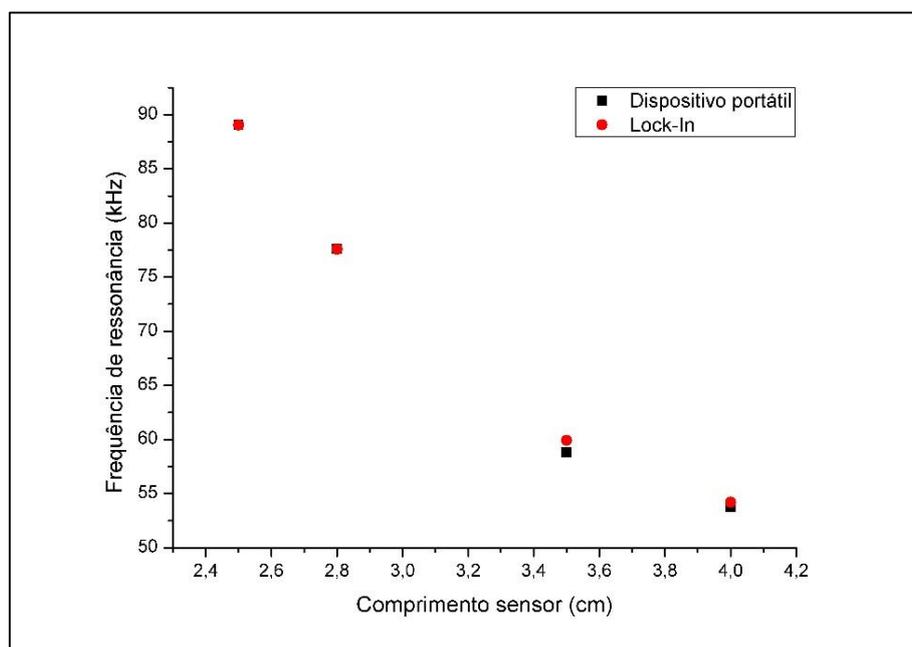


Figura 42: Frequência de ressonância para 4 tamanhos diferentes de fitas de um conjunto.

Foi verificado que o dispositivo portátil apresentou uma resposta em acordo com a variação apresentada pelo dispositivo comercial em todas as dimensões de fitas testadas.

Portanto que o dispositivo apresenta uma leitura de frequência de ressonância compatível ao dispositivo comercial.

6.5.1 MEDIDAS COM SENSORES DE DETECÇÃO DE VARIAÇÃO DE pH

Foram realizadas medidas com um sensor de 30 mm revestido com o polímero sensível ao pH. As medidas foram executadas através do decremento e incremento do pH. Utilizou-se como partida para realizar as medidas o pH 7,5 decrementando de 1 em 1 até chegar no pH 1,5. Logo após realizou-se o incremento do pH para chegar no pH inicial 7,5 executando o incremento de 1 em 1 na escala do pH.

Realizou-se as medidas no analisador de rede e no dispositivo portátil com o sensor de 30 mm revestido com o polímero sensível ao pH, sendo imerso por 4 minutos em cada solução de pH, produzidas com água destilada, ácido acético e hidróxido de sódio. Os resultados obtidos no analisador de rede e no dispositivo portátil são apresentadas nas Figura 43 e Figura 44, respectivamente.

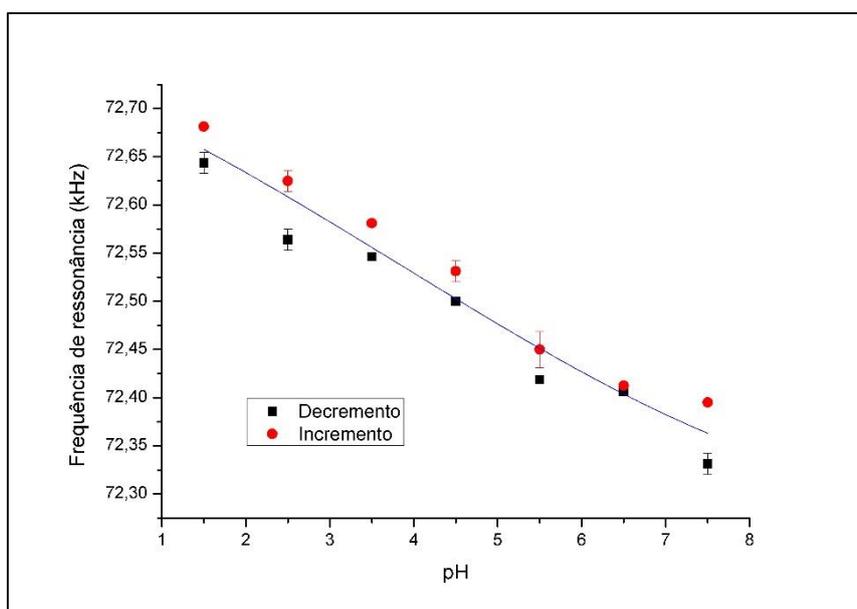


Figura 43: Decremento e incremento de pH em sensor sensível ao pH (30 x 5 x 0,03 mm) utilizando analisador de rede.

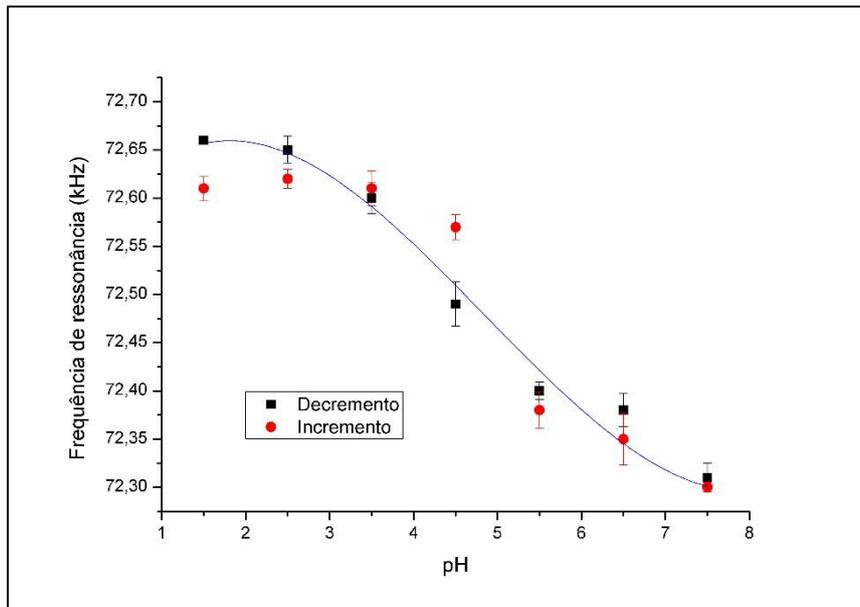


Figura 44: Decremento e incremento de pH em sensor sensível ao pH (30 x 5 x 0,03 mm) utilizando dispositivo portátil.

Observa-se que o Δf apresentado pelo dispositivo portátil entre dois pH subsequentes apresenta-se em torno de 70 Hz. Nota-se que o analisador de rede apresentou uma resposta linear entre o decremento e incremento de pH, enquanto que o dispositivo portátil apresentou uma resposta mais variável, não linear. Sendo que isto pode estar associado ao fato do dispositivo portátil ter uma menor sensibilidade de sinal de resposta e também devido ao fato de apresentar um desvio maior.

Estes resultados podem ser comparados com o trabalho realizado por Cai e Grimes (2000) que obtiveram uma variação de 285 Hz/pH. No presente estudo, observou-se uma variação por pH em torno de 75 % inferior quando comparado ao estudo de Cai e Grimes (2000). Este resultado pode estar associado a diferente composição da liga magnetoelástica utilizada nestes estudos.

Também foram executadas medidas da frequência de ressonância para o sensor de 5 mm com revestimento de polímero de pH, a fim de analisar a performance do polímero em sensores com dimensões menores. As medidas foram executadas através do decremento e incremento do pH. Utilizou-se como partida para realizar as medidas o pH 7,5 decrementando de 1 em 1 até chegar no pH 1,5. Logo após se realizou o incremento do pH para chegar no pH inicial 7,5 executando o incremento de 1 em 1 na escala do pH. O tempo de leitura para cada pH foi de 4 minutos na qual se apresenta medidas na Figura 45.

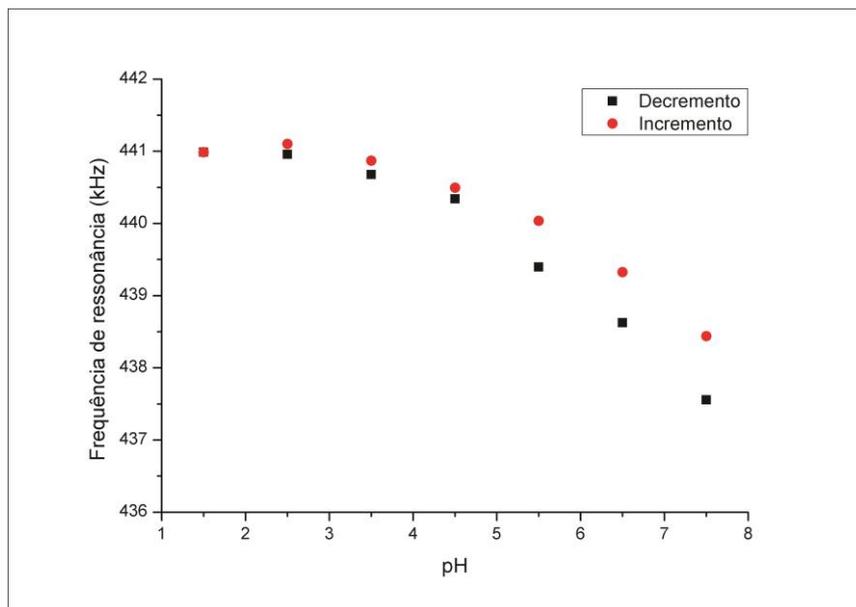


Figura 45: Decremento e incremento de pH em sensor sensível ao pH (5 x 1 x 0,03 mm) utilizando analisador de rede.

Observou-se que o pH conforme tornando-se com caráter mais ácido teve uma frequência de ressonância em valores mais altos de frequência, demonstrando que o polímero retraiu, diminuindo o inchaço e conseqüentemente o carregamento do massa. Também pode-se observar que quando incrementado o pH o valor da frequência de ressonância tendeu a voltar a seu valor inicialmente lido.

7 CONCLUSÕES

A liga amorfa de material magnetoelástico se apresentou como um ótimo transdutor, transformando o carregamento de massa sobre o mesmo em uma resposta de frequência de ressonância detectável de forma *wireless*. Também em conjunto com o dispositivos de leitura apresentando um desvio aceitável que fica em torno de ± 20 Hz.

Foi verificado o ponto ótimo de operação de leitura dos sensores magnetoelásticos na qual através da determinação da curva ΔE verificou-se que uma tensão DC *bias* de 9 V apresentou a maior amplitude de sinal de resposta, sendo este ponto ideal para realizar as medidas de frequência de ressonância. Juntamente verificou-se que a temperatura altera o valor de frequência de ressonância, sendo que as medidas da mesma devem ser feitas em temperaturas controladas.

Outro fator na qual interfere nas medidas de frequência de ressonância é o meio em que está o sensor, pois quando em meio líquido (água destilada) observa-se um amortecimento do Fator Q em torno de 60% em relação ao ar, dificultando a captura e variação do sinal de resposta.

Verificou-se que com a deposição de polímeros sobre a superfície do material magnetoelástico (polímeros para captura de *S. cerevisiae* ou polímero sensível ao pH) também influenciaram no Fator Q, reduzindo-o.

A captura de *S. cerevisiae*, apresentou-se coerente em relação ao cálculo teórico de massa em relação a frequência de ressonância antes e após o carregamento de massa.

O sensor de pH, apresentou resultado satisfatório dentro da faixa de pH de 7,5 a 1,5, sendo que os melhores resultados são apresentados por fitas de dimensão (5 x 1 x 0,03 mm), onde o Δf ficou em torno de 1000 Hz.

Outro fator que deve ser considerado é o descasamento das curvas de acréscimo e decréscimo de pH, na qual apresentam um fator erro de leitura.

As medidas no dispositivo portátil se compararam aos dispositivos comerciais, apresentando vantagem de ser um dispositivo pequeno e barato. Um outro fator a ser considerado é melhorar o sistema de amplificação do sinal de resposta para melhorar o desempenho do mesmo.

8 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- O dispositivo portátil apresenta um limite de detecção de sinal, sendo isto um limitante no dimensional do sensor magnetoelástico, pois quanto menor o sensor menor é a amplitude do sinal de resposta. Um melhoramento do dispositivo portátil seria modificações no circuito de captação do sinal de resposta, alterando o sistema de amplificação para torna-lo mais sensível, assim permitindo captar sinais de menor amplitude. Outro fator a se considerar é que com o aumento de amplitude do sinal de resposta aumenta-se juntamente o ruído transiente. Este ruído deve ser reduzido ou eliminado para uma determinação precisa do sinal de resposta.
- Outro fator a se considerar sobre o dispositivo portátil compreende a entrada e saída de dados onde o mesmo quando opera em forma conjunta com computador, utiliza comunicação RS232, sendo esta não disponível na maioria de notebook modernos. Esta deve ser substituída por interface USB na qual permite uma maior transmissão de dados.
- O desacoplamento entre as curvas de incremento e decremento de pH deve ser eliminado para tornar as medidas mais eficazes. Para resolver este problema deve ter um estudo aprofundado verificando este comportamento. Dentre os fatores que podem influenciar neste resultado está presente a concentração de polímero bem como a concentração de tensoativo presente na solução.
- Desenvolver procedimentos de leitura com o dispositivo portátil para leituras de outros parâmetros analisados desenvolvidos pelo grupo de trabalho, realizando juntamente medidas com dispositivo comercial. Amplificando a gama de testes e validando o dispositivo portátil para multe plataforma de sensores.

9 APOIO FINANCEIRO PARA O PROJETO

CNPq - Proc. 472827/2011-1 – R\$15.140,00 - “Materiais magnéticos na Universidade de Caxias do Sul”

CNPq - Proc. 447777/2014-9

FAPERGS - Proc. 098412-7 - R\$40.000,00 – “Sensor magnetoelástico de alta sensibilidade”

SDECT/RS - Proc. 403-2500/12-5 – R\$409.890,35 - Sensores Magnetoelásticos – Ferramenta Inovadora para o Monitoramento de Propriedades Físicas, Químicas e Biológicas

10 REFERÊNCIAS

AGILENT TECHNOLOGIES. Disponível em:

< <http://www.agilent.com/home> > Acesso em 2014.

ANALOG DEVICES. Disponível em:

< <http://www.analog.com/en/index.html> > Acesso em 2014.

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/> Acesso em 2015.

CAI, Q.Y.; GRIMES, C.A. A remote query magnetoelastic pH sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 71, p. 112-117, (2000)

CAI, Q.; ZENG, K.; RUAN, C.; DESAI, T.A.; GRIMES, C.A. A Wireless, Remote Query Glucose Biosensor Based on a pH-Sensitive Polymer. *Analytical Chemistry*, v. 76, p. 4038-4043, (2004)

CHAI, Y.; HORIKAWA, S.; LI, S.; WIKLE, H.C.; CHIN, B.A. A surface-scanning coil detector for real-time, in-situ detection of bacteria on fresh food surfaces. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 50, p. 311-317, (2013a)

CHAI, Y.T.; HORIKAWA, S.; WIKLE, H.C.; WANG, Z.Y.; CHIN, B.A. Surface-scanning coil detectors for magnetoelastic biosensors: A comparison of planar-spiral and solenoid coils. *Applied Physics Letters*, v. 103, p. 4, (2013b)

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, (2013c)

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).

COEY, J.M.D., *Magnetism and Magnetic Materials*, New York: Cambridge, 2009.

CULLITY, B.D. *Introduction to Magnetic Materials*. Ed. 2. IEEE Press: John Wiley & Sons, 2011. 568.

ISBN 978-0-471-47741-9.

Disponível

em:

<

[http://books.google.com.br/books?id=fh_F0G9KuSgC&printsec=frontcover&hl=pt-](http://books.google.com.br/books?id=fh_F0G9KuSgC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

[BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?id=fh_F0G9KuSgC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false) >.

FREIRE, R.S.P., C. A.; KUBOTA, L. T. Emprego de monocamadas auto-organizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. *Química Nova*, v. 26, p. 381-389, (2003)

FERREIRA A. A. P.; YAMANAKA, H.; BENEDETTI, A. V. Modificação e caracterização de SPE com SAMs de cistamina e glutaraldeído para imobilização da protein Tc85 de *T. cruzi*. In: *IBERO-AMERICAN CONGRESS ON SENSORS (IBERSENSOR)*, 6., 2008, São Paulo. Anais...São Paulo, 2008. CD-ROM.

GAO, X.; ZHEN, R.; ZHANG, Y.; GRIMES, C.A. Detecting Penicillin in Milk with a Wireless Magnetoelastic Biosensor. *Sensor Letters*, v. 7, p. 6-10, (2009)

GRIMES, C.A.; ONG, K.G.; LOISELLE, K.; STOYANOV, P.G.; KOUZOUDIS, D.; LIU, Y.; TONG, C.; TEFIKU, F. Magnetoelastic sensors for remote query environmental monitoring. *Smart Materials and Structures*, v. 8, p. 639, (1999)

GRIMES, C.A.; KOUZOUDIS, D.; MUNGLE, C. Simultaneous measurement of liquid density and viscosity using remote query magnetoelastic sensors. *Review of Scientific Instruments*, v. 71, p. 3822-3824, (2000)

GRIMES, C.; MUNGLE, C.; ZENG, K.; JAIN, M.; DRESCHER, W.; PAULOSE, M.; ONG, K. Wireless Magnetoelastic Resonance Sensors: A Critical Review. *Sensors*, v. 2, p. 294, (2002)

GRIMES, C.A.; ROY, S.C.; RANI, S.; CAI, Q. Theory, instrumentation and applications of magnetoelastic resonance sensors: a review. *Sensors (Basel, Switzerland)*, v. 11, p. 2809-2844, (2011)

HADDAD, S.A.; LINDEGREN, C.C. A Method for Determining the Weight of an Individual Yeast Cell. *Applied Microbiology*, v. 1, p. 153-156, (1953)

Handbook of Magnetic Measurements. S Tumanski Warsaw University of Technology Poland. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011.

HOBSON, N.S.; TOTHILL, I.; TURNER, A.P.F. Microbial detection. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 11, p. 455-477, (1996)

HRISTOFOROU, E.; KTENA, A. Magnetostriction and magnetostrictive materials for sensing applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 316, p. 372-378, (2007)

ImageJ 1.48. Disponível em: <<http://imagej.nih.gov/ij/download.html>> Acesso em 2014.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version:

<http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.

JAIN, M.K.; SCHMIDT, S.; GRIMES, C.A. Magneto-acoustic sensors for measurement of liquid temperature, viscosity and density. *Applied Acoustics*, v. 62, p. 1001-1011, (2001)

KATZ, E.; WILLNER, I. Integrated Nanoparticle–Biomolecule Hybrid Systems: Synthesis, Properties, and Applications. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 43, p. 6042-6108, (2004)

LEONARD, P.; HEARTY, S.; BRENNAN, J.; DUNNE, L.; QUINN, J.; CHAKRABORTY, T.; O’KENNEDY, R. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 32, p. 3-13, (2003)

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. (2007)

MAHAVEER, K.J.; QINGYUN, C.; GRIMES, C.A. A wireless micro-sensor for simultaneous measurement of pH, temperature, and pressure. *Smart Materials and Structures*, v. 10, p. 347, (2001)

MAZIA, D.; SCHATTEN, G.; SALE, W. Adhesion of cells to surfaces coated with polylysine. Applications to electron microscopy. *J Cell Biol*, v.66, p. 198-200 (1975).

MENTI, C.; 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)

METGLAS COMPANY. Disponível em:

<http://www.metglas.com/products/magnetic_materials/2826mb.asp> Acesso em 2014.

MICROCHIP TECHNOLOGY INC. Disponível em:

<<http://www.microchip.com/>> Acesso em 2014.

MOSSANHA, R. Preparação, caracterização e estudos eletroquímicos de eletrodos modificados com diferentes monocamadas auto-organizadas. 2011. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Ponta Grossa: 2011, p. 2011.

MOSCON, P.S. Textura magnética, distribuição de anisotropia e efeitos magnetomecânicos em metais amorfos magnetostrictivos obtidos por Melt-Spinning. Tese de Doutorado em Física - Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2009.

MUNGLE, C.; GRIMES, C.A.; DRESCHER, W.R. Magnetic field tuning of the frequency–temperature response of a magnetoelastic sensor. *Sensors and Actuators A: Physical*, v. 101, p. 143-149, (2002)

NATIONAL INSTRUMENTS. Disponível em:

<<http://www.ni.com/white-paper/11640/pt/>> Acesso em 2014.

O' HANDLEY, R.C. *Modern Magnetic Materials: Principles and Applications*, USA: Edit. John Wiley & Sons, Inc., p. 240-241, 2000.

PANG, P.; GAO, X.; XIAO, X.; YANG, W.; CAI, Q.; YAO, S. A Wireless pH Sensor Using Magnetoelasticity for Measurement of Body Fluid Acidity. *Analytical Sciences*, v. 23, p. 463-467, (2007)

PARK, M.-K.; PARK, J.W.; WIKLE III, H.C.; CHIN, B.A. Evaluation of phage-based magnetoelastic biosensors for direct detection of *Salmonella Typhimurium* on spinach leaves. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 176, p. 1134-1140, (2013)

POSSAN, A. P. Biossensor magnetoelástico para a detecção de *Escherichia coli*. 2015. (Dissertação de mestrado) Universidade de Caxias do Sul: 2015, p. 2015.

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)

RUAN, C.; ONG, K.G.; MUNGLE, C.; PAULOSE, M.; NICKL, N.J.; GRIMES, C.A. A wireless pH sensor based on the use of salt-independent micro-scale polymer spheres. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 96, p. 61-69, (2003a)

RUAN, C.; ZENG, K.; GRIMES, C.A. A mass-sensitive pH sensor based on a stimuli-responsive polymer. *Analytica Chimica Acta*, v. 497, p. 123-131, (2003b)

RICCARDI, C.S.; COSTA, P.I.; YAMANAKA, H. Imunossensor amperométrico. *Quím. Nova* [online], vol.25, n.2, p. 316-320, 2002.

TORMES, C.D.; BELTRAMI, M.; CRUZ, R.C.D.; MISSELL, F.P. Characterization of drying behavior of granular materials using magnetoelastic sensors. *NDT & E International*, v. 66, p. 67-71, (2014)

SHEN, W.; LAKSHMANAN, R.S.; MATHISON, L.C.; PETRENKO, V.A.; CHIN, B.A. Phage coated magnetoelastic micro-biosensors for real-time detection of Bacillus anthracis spores. Sensors and Actuators B: Chemical, v. 137, p. 501-506, (2009)

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, (2010a)

SHEN, W.; MATHISON, L.C.; PETRENK, V.A.; CHIN, B.A. Design and characterization of a magnetoelastic sensor for the detection of biological agents. Journal of Applied Physics, v. 43, p. (2010b)

SHEN, W.; ZHANG, Z.; HORIKAWA, S.; ZHANG, A.; TENG, J.; MATHISON, L.C.; CHIN, B.A. Time domain characterization of magnetoelastic sensors: A pulse method for resonance frequency determination. Review of Scientific Instruments, v. 81, p. 084702, (2010c)

SIGMA ALDRICH. Disponível em:

<<https://www.sigmaaldrich.com/brazil.html>> Acesso em 2015.

SQUIRE, P.T. Phenomenological model for magnetization, magnetostriction and ΔE effect in field-annealed amorphous ribbons. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 87, p. 299-310, (1990)

STOYANOV, P.G.; GRIMES, C.A. A remote query magnetostrictive viscosity sensor. Sensors and Actuators A: Physical, v. 80, p. 8-14, (2000)

SUIQIONG, LI. Development of novel acoustic wave biosensor platforms based on magnetostriction and fabrication of magnetostrictive nanowires. 2007. Ph.D. Thesis (Materials Science and Engineering) – Auburn University, 2007.

STOYANOV, P.G.; GRIMES, C.A. A remote query magnetostrictive viscosity sensor. Sensors and Actuators A: Physical, v. 80, p. 8-14, (2000)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em:

<<http://www.who.int/en/>> Acesso em 2016.

XIE, F.; YANG, H.; LI, S.; SHEN, W.; WAN, J.; JOHNSON, M.L.; WIKLE, H.C.; KIM, D.-J.; CHIN, B.A. Amorphous magnetoelastic sensors for the detection of biological agents. Intermetallics, v. 17, p. 270-273, (2009)

WIRDE, M.; GELIUS, U.; NYHOLM, L. Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine on Gold Studied by XPS and Voltammetry. Langmuir, v. 15, p. 6370-6378, (1999)

XUE, C.; YANG, C.; XU, T.; ZHAN, J.; LI, X. A wireless bio-sensing microfluidic chip based on resonating '[small mu]-divers'. *Lab on a Chip*, v. 15, p. 2318-2326, (2015)

YE, X.-M.; GUNTUPALLI, R.; LAKSHMANAN, R.S.; CHIN, B.A.; HU, J. Comparative study of thermal stability of magnetostrictive biosensor between two kinds of biorecognition elements. *Materials Science and Engineering: C*, v. 41, p. 78-82, (2014)

YI, J.W.; SHIH, W.Y.; MUTHARASAN, R.; SHIH, W.-H. In situ cell detection using piezoelectric lead zirconate titanate-stainless steel cantilevers. *Journal of Applied Physics*, v. 93, p. 619-625, (2003)

ZHANG, K. Development of Portable Magnetostrictive Biosensor System. 2010. Ph. D. Thesis (Materials Science and Engineering) – Auburn University, 2010.

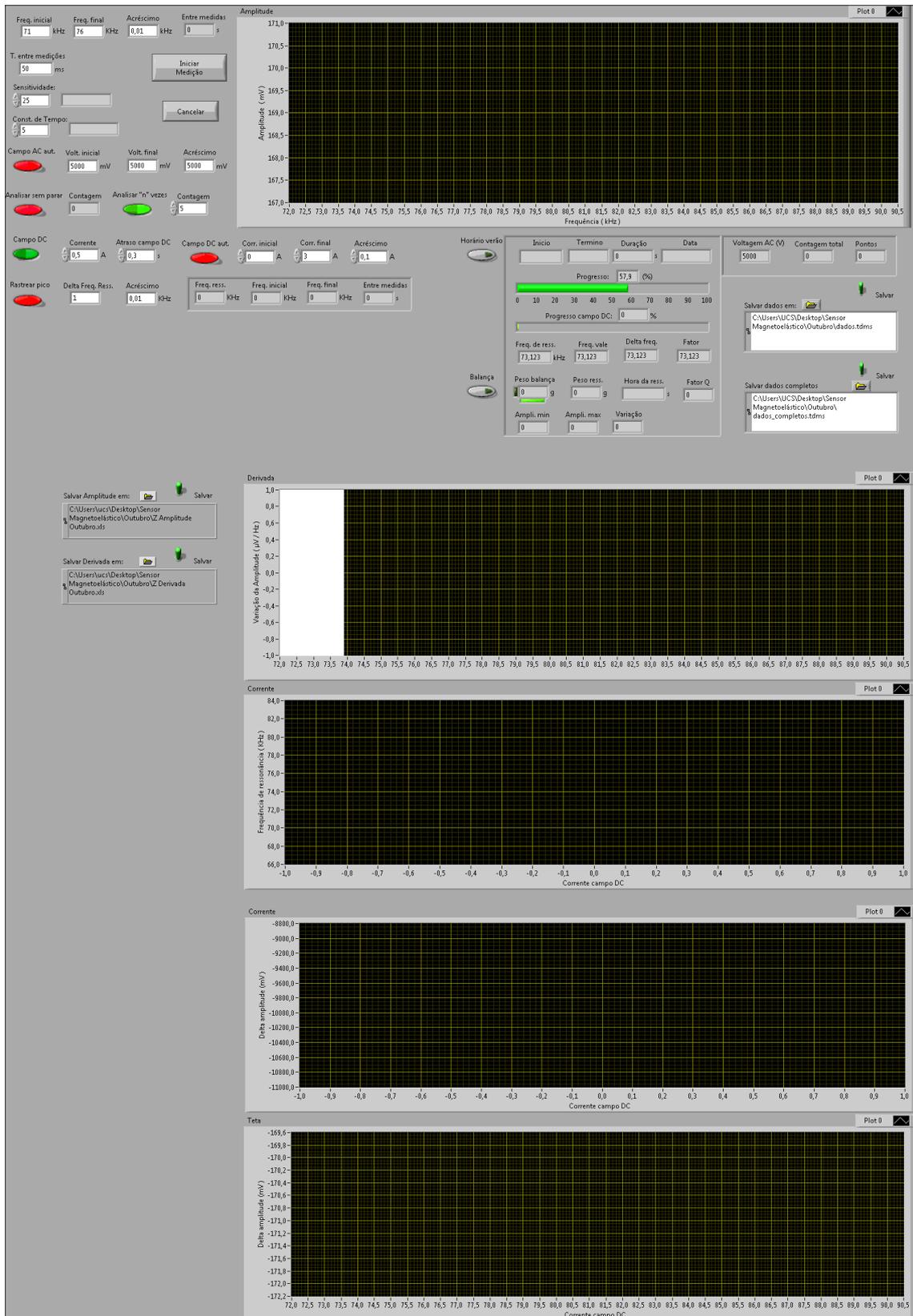
ZENG, K.; ONG, K.G.; MUNGLE, C.; GRIMES, C.A. Time domain characterization of oscillating sensors: Application of frequency counting to resonance frequency determination. *Review of Scientific Instruments*, v. 73, p. 4375-4380, (2002)

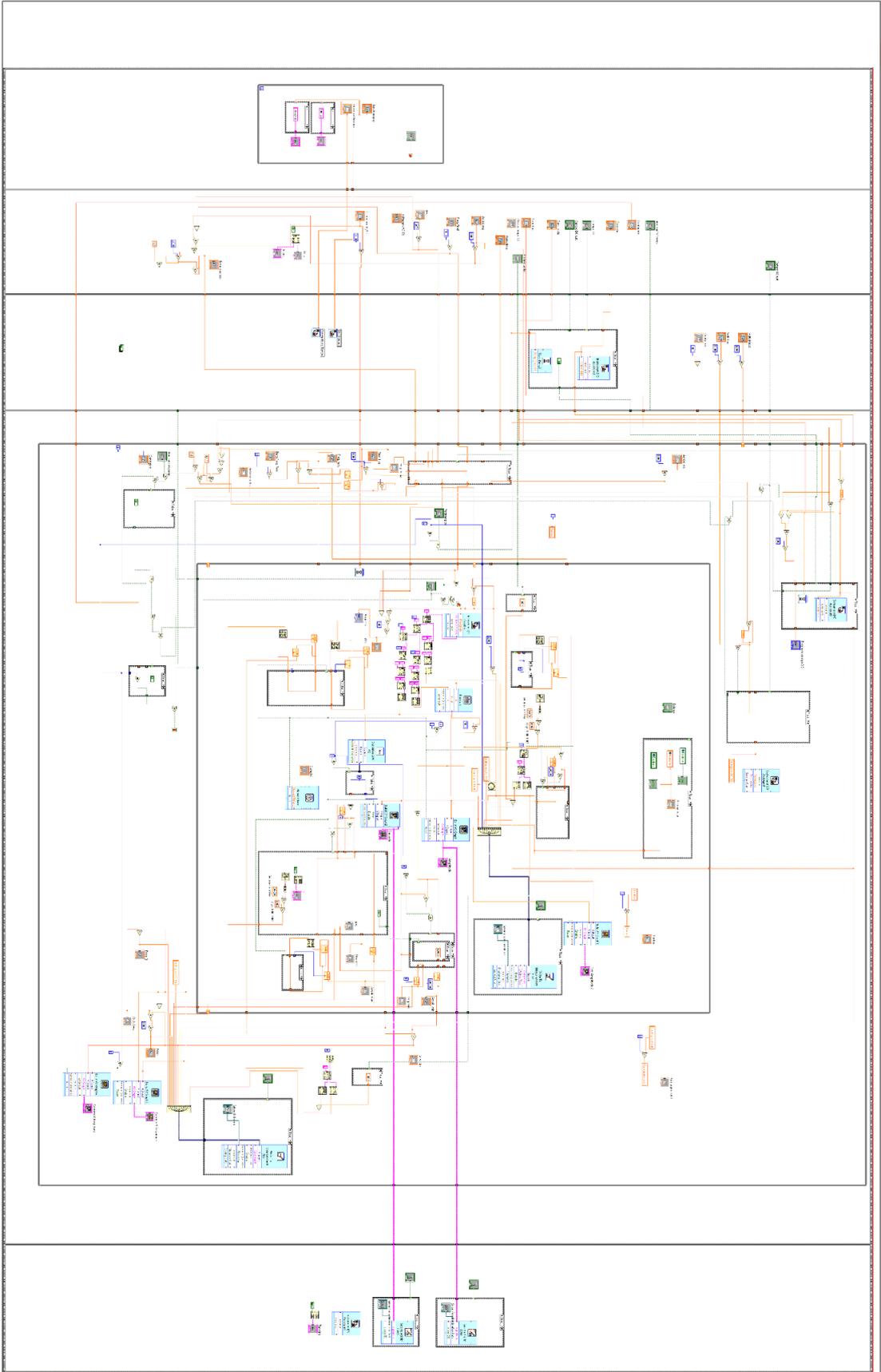
ZENG, K.; GRIMES, C.A. Threshold-crossing counting technique for damping factor determination of resonator sensors. *Review of Scientific Instruments*, v. 75, p. 5257-5261, (2004)

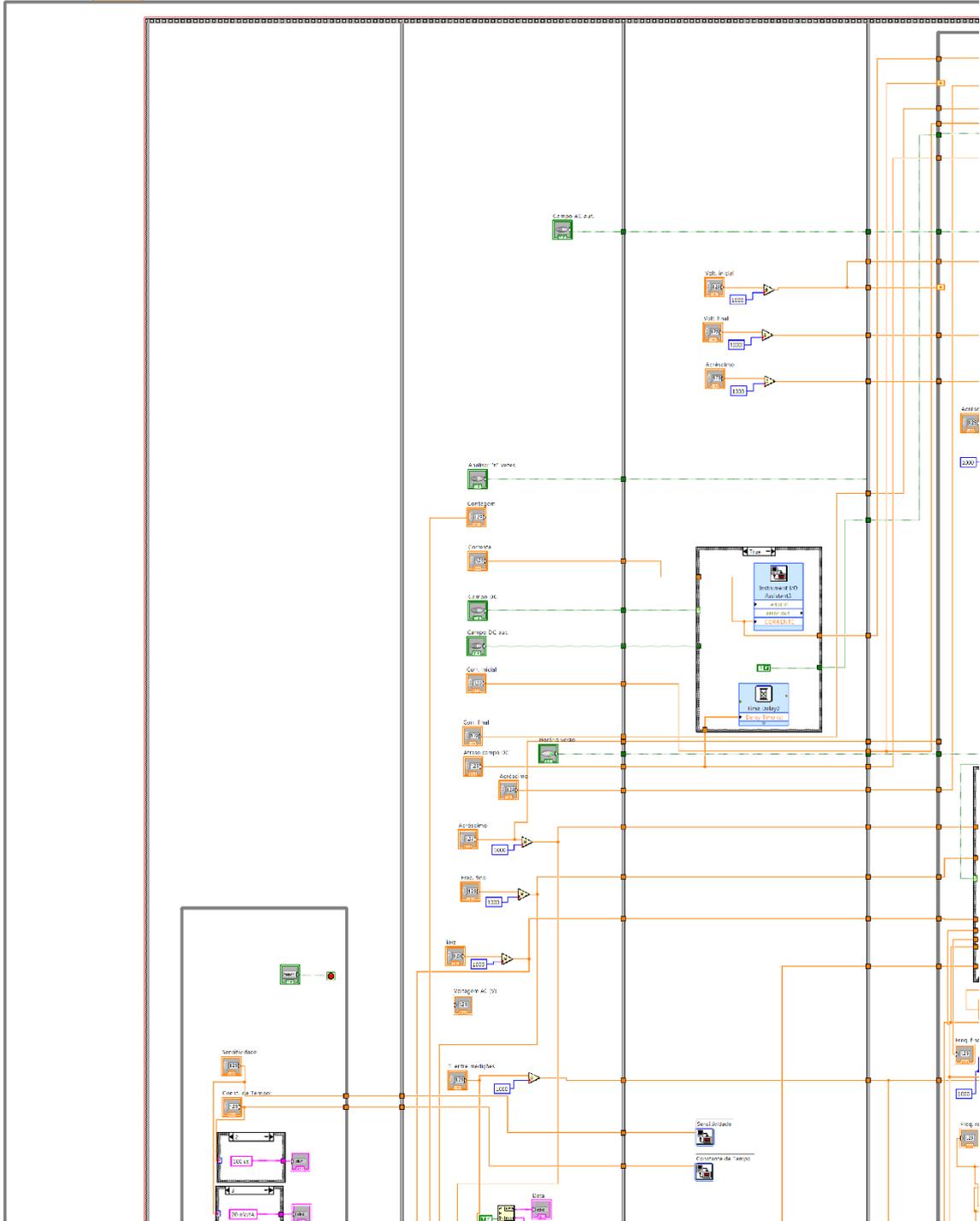
ZENG, K.; PAULOSE, M.; ONG, K.G.; GRIMES, C.A. Frequency-domain characterization of magnetoelastic sensors: a microcontroller-based instrument for spectrum analysis using a threshold-crossing counting technique. *Sensors and Actuators A: Physical*, v. 121, p. 66-71, (2005)

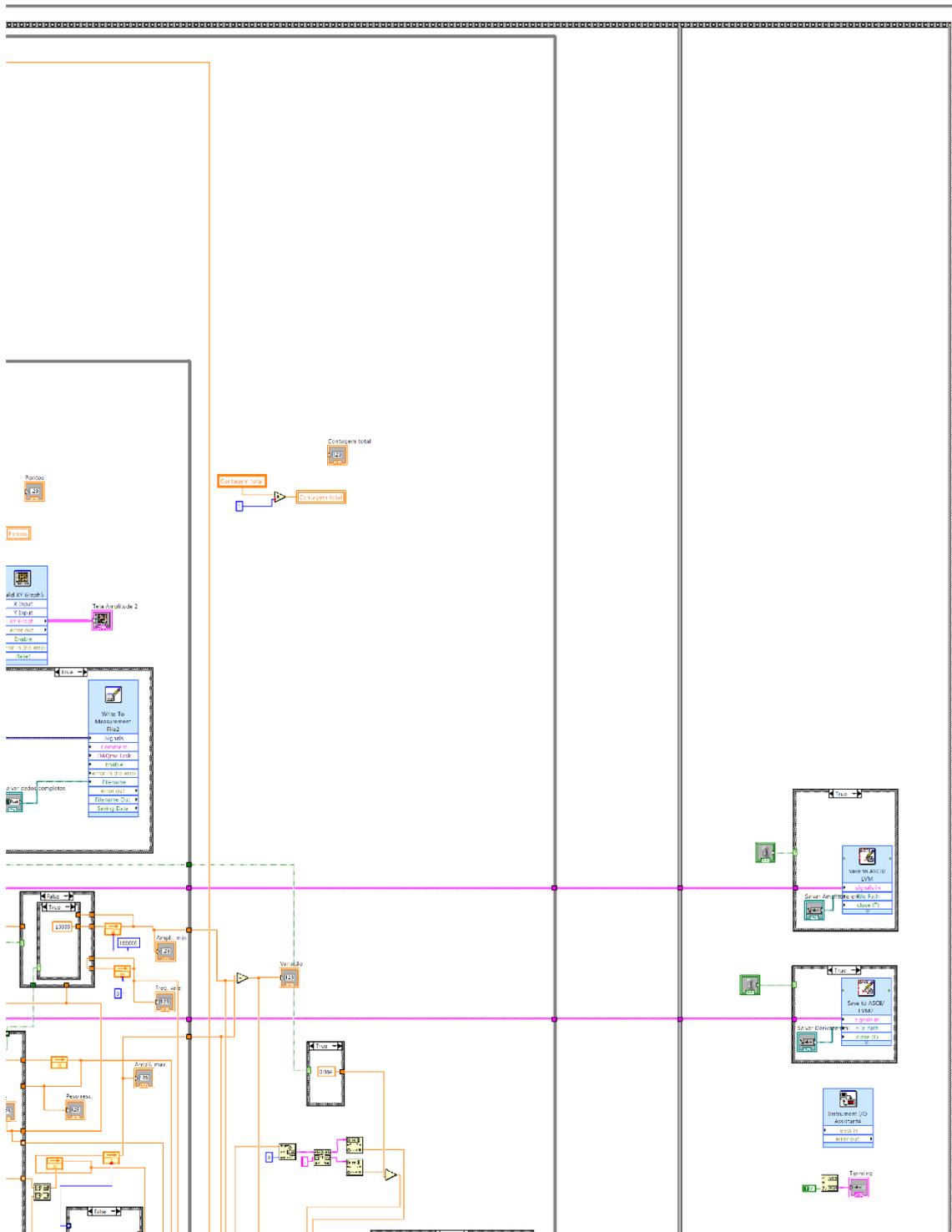
ZENG, K.; GRIMES, C.A. Wireless Magnetoelastic Physical, Chemical, and Biological Sensors. *Magnetics, IEEE Transactions on*, v. 43, p. 2358-2363, (2007)

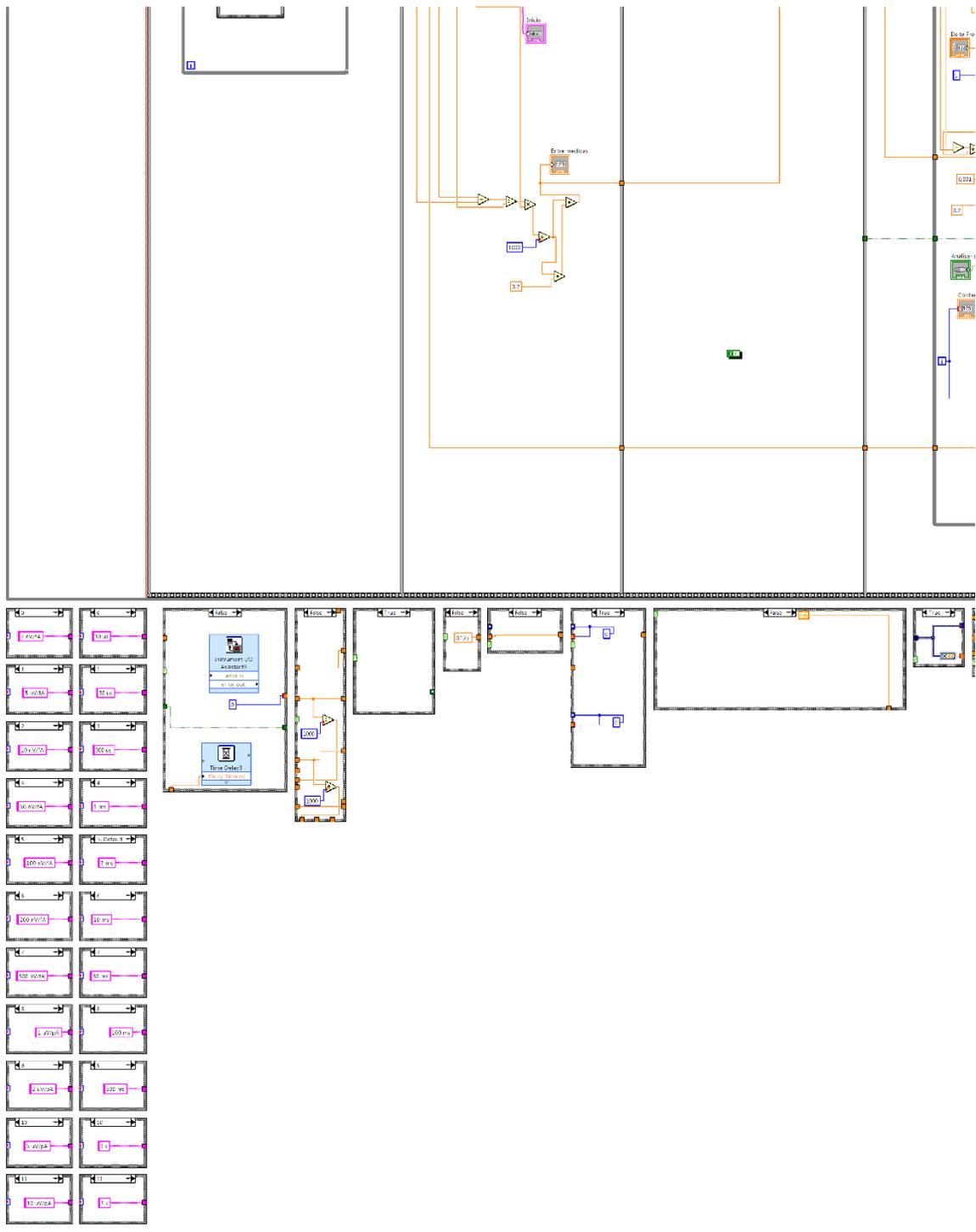
Apêndice 1: Software de gerenciamento Lock-In

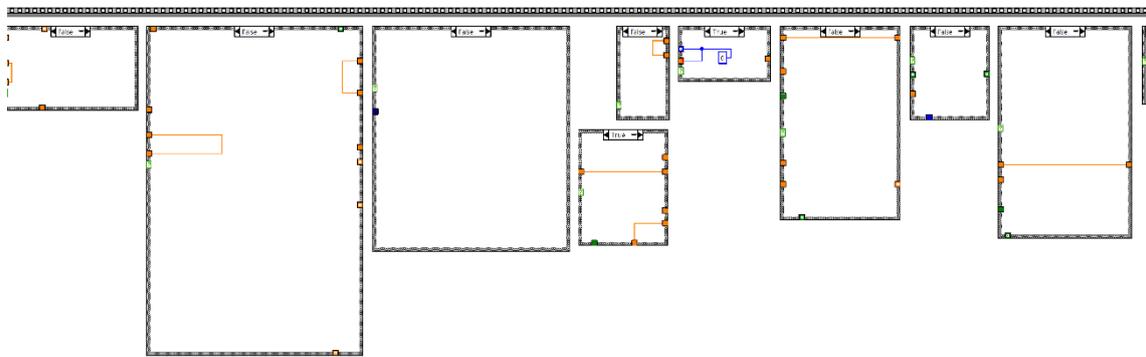
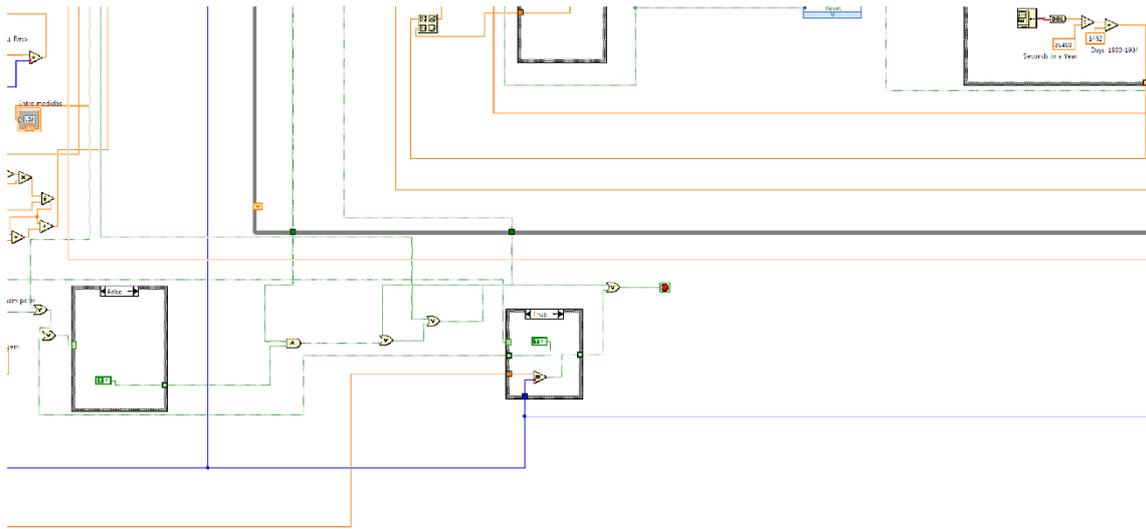


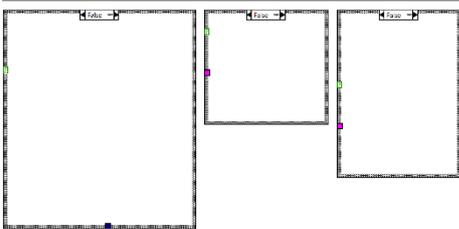
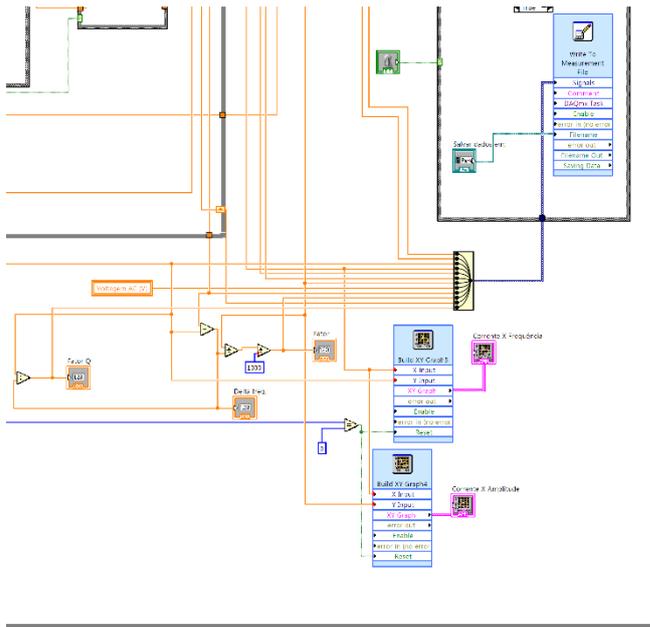


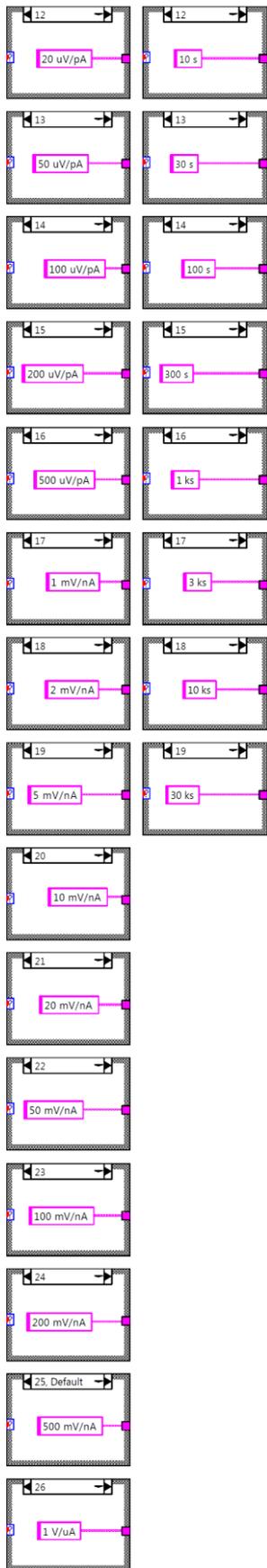












Apêndice 2: Programa em linguagem “C” de comando do analisador de rede

```
#define _CRT_SECURE_NO_DEPRECATED
#include<stdlib.h>
#include<stdio.h>
#include<visa.h>
#include<visatype.h>
#include<string.h>
#include<time.h>
#include<cstdlib>
#include<fstream>
#include<iostream>
#include<conio.h>
#include<math.h>
#include<Windows.h>
#pragma comment(lib,"visa32.lib")
#define M 21
#define L 64082
#define l 32042
#define ll 19

int main(){
char tela1[40] = { "TR\0" }, freqsta2[20] = { "440000\0" }, freqsto3[20] = { "470000\0" },
dcbias4[15] = { "1\0" }, tensao5[15] = { "10\0" }, tensaof5[15] = { "10\0" }, smooes6[15] = {
"1\0" }, smooval7[15] = { "1.5\0" }, aver[15] = { "1\0" }, averval8[15] = { "100\0" }, ligado[10]
= { "Ligado\0" }, desligado[15] = { "Desligado\0" }, stringmae[70], stringmae0[50];
    int posicao0 = 0, k, varswitch = 0, aux2 = 0, aux3 = 0, i, b, j = 0, aux4 = 0, aux5 = 0,
auxbias = 0, auxi, auxi2;
    ViSession defaultRM, vi, seta = 0;
    FILE *pFile;
    char auxs[10] = { "2\0" };
    double a, cv, c = 0, n, posicao = 0, posicao1, caractere, caracteres, numeroi;
    int texto, aux, k2, k3, pacos, pacos1, teste1, testeok = 0;
    float volt_i, volt_f, volt_inc, volt_aux, volt_tempo, volt_resto, volt_vezes, volt_cont,
valor_aver, temp_aver;
    char dados[M];
    char dados1[M];
    char teste[1];
    char teste1[1];
    char buf[L];
    char buff[41];
    int tela11, tela2, qarq;
    float total, total1, tempo, tempo1, vezes;
    char dado1[L];
    char dado[l];
    char dads[ll];
    FILE *pfile;
    FILE *arqui;
    FILE *arqt;
    FILE *zpFile;
    pFile = fopen("conf_apar.txt", "r+");
```

```

if (pFile == NULL){
    pFile = fopen("conf_apar.txt", "w+");
    fprintf(pFile, "TR,440000,470000,1,10,10,1,1.5,1,100,");
for (k = 0; aux4<11; k++){
    fseek(pFile, posicao, SEEK_SET);
    if (aux4<11){stringmae[k] = fgetc(pFile); posicao++;}
    if (stringmae[k] == ','){aux4++;}
    if (aux4 == 11){stringmae[k] = '\0';}
for (k = 0; aux5 != 1; k++){
    if (stringmae[k] == '\0'){stringmae0[j] = '\0';    aux5 = 1;}
    if (stringmae[k] != '\n'){stringmae0[j] = stringmae[k]; j++;}
j = 0;
aux4 = 0;
posicao = 0;
for (k = 0; stringmae0[k] != '\0'; k++){
    if (stringmae0[k] == ','){
        if (aux4 == 0){tela1[j] = '\0';}
        if (aux4 == 1){freqsta2[j] = '\0';}
        if (aux4 == 2){freqsto3[j] = '\0';}
        if (aux4 == 3){dcbias4[j] = '\0';}
        if (aux4 == 4){tensao5[j] = '\0';}
        if (aux4 == 5){tensaof5[j] = '\0';}
        if (aux4 == 6){smooes6[j] = '\0';}
        if (aux4 == 7){smooval7[j] = '\0';}
        if (aux4 == 8){aver[j] = '\0';}
        if (aux4 == 9){averval8[j] = '\0';}
        aux4++;
        k++;
        j = 0;}
    if (aux4 == 0){tela1[j] = stringmae0[k]; j++;}
    if (aux4 == 1){freqsta2[j] = stringmae0[k];j++; }
    if (aux4 == 2){freqsto3[j] = stringmae0[k]; j++;}
    if (aux4 == 3){dcbias4[j] = stringmae0[k]; j++; }
    if (aux4 == 4){tensao5[j] = stringmae0[k];j++;}
    if (aux4 == 5){tensaof5[j] = stringmae0[k]; j++;}
    if (aux4 == 6){smooes6[j] = stringmae0[k]; j++;    }
    if (aux4 == 7){smooval7[j] = stringmae0[k]; j++;}
    if (aux4 == 8){aver[j] = stringmae0[k];j++;}
    if (aux4 == 9){averval8[j] = stringmae0[k];j++; }
fclose(pFile);
fflush(pFile);
viOpenDefaultRM(&defaultRM);
viOpen(defaultRM, "TCPIP0::192.168.0.109::INSTR", VI_NULL, VI_NULL, &vi);
viPrintf(vi, ":FORM:DATA ASC\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:DC:MEAS:ENAB ON\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:DC:PAR DCI\n");
printf("Deseja setar o aparelho (0 = nao) (1 = sim):");
scanf("%d", &seta);
if (seta == 1){
    system("CLS");
    printf("Valores padrao:\n\n");
    printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: TR, Tela 2: TR\n");
    printf("2.Setar Frequencia: Start: 440000, Stop: 470000\n");
    printf("3.DC Bias: Ligado\n");
    printf("4.Tensao inicial: 10 V, Tensao final: 10 V\n");
}
}

```

```

printf("5.Smoothing: Ligado, 1.5\n");
printf("6.Averaging: Ligado, 100\n");
printf("\n");
printf("Valores do arquivo:\n\n");
printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: %s, Tela 2: %s\n", tela1, tela1);
printf("2.Setar Frequencia: Start: %s, Stop: %s\n", freqsta2, freqsto3);
if (dcbias4[0] == '1'){
printf("3.DC Bias: Ligado\n");
printf("4.Tensao inicial: %s V, Tensao final: %s V\n", tensao5, tensaof5);      }
else{printf("3.DC Bias: Desligado\n");}
if (smooes6[0] == '1'){printf("5.Smoothing: Ligado, %s\n", smooval7);}
else{printf("5.Smoothing: Desligado\n");}
if (aver[0] == '1'){printf("6.Averaging: Ligado, %s\n", averval8);}
else{printf("6.Averaging: Desligado\n");      }
while (auxs[0] != '1' && auxs[0] != '0'){
printf("Deseja usar valores padrao ou do arquivo?(1 = padrao, 0 = arquivo) ");
scanf("%s", &auxs[0]);
if (auxs[0] == '1'){
strcpy(tela1, "TR\0");
strcpy(freqsta2, "440000\0");
strcpy(freqsto3, "470000\0");
strcpy(dcbias4, "1\0");
strcpy(tensao5, "10\0");
strcpy(tensaof5, "10\0");
strcpy(smooes6, "1\0");
strcpy(smooval7, "1.5\0");
strcpy(aver, "1\0");
strcpy(averval8, "100\0");
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT OFF\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR:COUN 2\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:SPL D1\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:SPL D1_2\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:SEL\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:FORM IMAG\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:SEL\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:FORM REAL\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:DEF TR\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:DEF TR\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:FREQ:STAR 440000\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:FREQ:STOP 470000\n");
viPrintf(vi, ":SOUR:BIAS:ENAB 1\n");
viPrintf(vi, ":SOUR:BIAS:VOLT 10\n");
viPrintf(vi, ":INP:IMP:GPP:T 50\n");
viPrintf(vi, ":INP:ATT:GPP:T 0\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:STATE 1\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:APER 1.5\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER 1\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:COUN 100\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:SWE:POIN 1601\n");}
else if (auxs[0] == '0'){
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT OFF\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR:COUN 2\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:SPL D1\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:SPL D1_2\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:SEL\n");

```

```

viPrintf(vi, ":CALC1:FORM IMAG\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:SEL\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:FORM REAL\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:DEF %s\n", tela1);
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:DEF %s\n", tela1);
viPrintf(vi, ":SENS1:FREQ:STAR %s\n", freqsta2);
viPrintf(vi, ":SENS1:FREQ:STOP %s\n", freqsto3);
viPrintf(vi, ":SOUR:BIAS:ENAB %s\n", dcbias4);
viPrintf(vi, ":SOUR:BIAS:VOLT %s\n", tensao5);
viPrintf(vi, ":INP:IMP:GPP:T 50\n");
viPrintf(vi, ":INP:ATT:GPP:T 0\n");
viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:STATE %s\n", smooes6);
viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:APER %s\n", smooval7);
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER %s\n", aver);
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:COUN %s\n", averval8);
viPrintf(vi, ":SENS1:SWE:POIN 1601\n");}
else{
printf("Input invalido\n");
Sleep(2000);
system("CLS");
printf("Valores padrao:\n\n");
printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: TR, Tela 2: TR\n");
printf("2.Setar Frequencia: Start: 440000, Stop: 470000\n");
printf("3.DC Bias: Ligado\n");
printf("4.Tensao inicial: 10 V, Tensao final: 10 V\n");
printf("5.Smoothing: Ligado, 1.5\n");
printf("6.Averaging: Ligado, 100\n");
printf("\n");
printf("Valores do arquivo:\n\n");
printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: %s, Tela 2: %s\n", tela1, tela1);
printf("2.Setar Frequencia: Start: %s, Stop: %s\n", freqsta2, freqsto3);
if (dcbias4[0] == '1'){
printf("3.DC Bias: Ligado\n");
printf("4.Tensao inicial: %s V, Tensao final: %s V\n", tensao5, tensao5); }
else{printf("3.DC Bias: Desligado\n");}
if (smooes6[0] == '1'){printf("5.Smoothing: Ligado, %s\n", smooval7);}
else{printf("5.Smoothing: Desligado\n");}
if (aver[0] == '1'){printf("6.Averaging: Ligado, %s\n", averval8);}
else{printf("6.Averaging: Desligado\n");}}
printf("Deseja mudar todos os valores (digite 0), mudar separadamente (digite
1) ou nao mudar (digite 2)?\n");
scanf("%d", &aux2);
if (aux2 == 0){
while (aux3 == 0){
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT OFF\n");
system("CLS");
printf("Trace 1 Set (S11 ou TR)\nTela 1 e 2: ");
fgetc(stdin);
fgets(tela1, 10, stdin);
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:DEF %s", tela1);
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:DEF %s", tela1);
auxi = 0;
while (auxi == 0){
printf("Freq Start: ");
fgets(freqsta2, 20, stdin);

```

```

printf("Freq Stop: ");
fgets(freqsto3, 20, stdin);
b = atoi(freqsto3);
i = atoi(freqsta2);
if (i>b){printf("Freq start e maior do que stop\n");}
    else if (i == b){printf("Freq start e igual a stop\n");}
        else{auxi = 1;}
viPrintf(vi, "SENS1:FREQ:STAR %s", freqsta2);
viPrintf(vi, "SENS1:FREQ:STOP %s", freqsto3);}
printf("DC Bias (1 = ligado, 0 = desligado): ");
fgets(dcbias4, 15, stdin);
viPrintf(vi, "SOUR:BIAS:ENAB %s", dcbias4);
if (dcbias4[0] == '1'){
    auxi = 0;
    printf("Digite tensoes iguais para leitura sem incremento de tensao\n");
    while (auxi == 0){
        printf("Tensao inicial:(0 a 13): ");
        fgets(tensao5, 15, stdin);
        printf("Tensao final:(0 a 13): ");
        fgets(tensaof5, 15, stdin);
        i = atof(tensao5);
        b = atof(tensaof5);
        if (i<0 || b<0){printf("Tensao menor do que o permitido\n");}
            else if (i>13 || b>13){printf("Tensao maior do que o
permitido\n"); }
                else{auxi = 1;}}
        viPrintf(vi, "SOUR:BIAS:VOLT %s", tensao5);
        b = strlen(tensaof5) - 1;
        tensaof5[b] = '\0';
    }
    printf("Smoothing (1 = ligado, 0 = desligado): ");
    fgets(smooes6, 15, stdin);
    viPrintf(vi, "CALC1:SMO:STATE %s", smooes6);
    if (smooes6[0] == '1'){
        auxi = 0;
        while (auxi == 0){
            printf("Modulo do smoothing (0.05 a 25%): ");
            fgets(smooval7, 10, stdin);
            i = atoi(smooval7);
            if (i<0.05){printf("Smoothing menor do que o
permitido\n");}
                else if (i>25){
                    printf("Smoothing maior do que o
permitido\n");
                }
            }
        else{auxi = 1;}}
        viPrintf(vi, "CALC1:SMO:APER %s", smooval7);}
    printf("Averaging (1 = ligado, 0 = desligado): ");
    fgets(aver, 15, stdin);
    viPrintf(vi, "SENS1:AVER %s\n", aver);
    if (aver[0] == '1'){
        auxi = 0;
        while (auxi == 0){
            printf("Contagem de averaging (0 a 999): ");
            fgets(averval8, 10, stdin);
            i = atoi(averval8);

```

```

permitido\n");}
permitido\n");}
if (i<0){printf("Averaging menor do que o
else if (i>999){printf("Averaging maior do que o
else{auxi = 1;}}
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:COUN %s", averval8);}
printf("Satisfeito?(1 = sim, 0 = nao ");
scanf("%d", &aux3);}
pFile = fopen("conf_apar.txt", "w+");
fprintf(pFile, "%s", tela1);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", freqsta2);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", freqsto3);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", dcbias4);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", tensao5);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", tensaof5);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", smooes6);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", smooval7);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", aver);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", averval8);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, ",");
fclose(pFile);
fflush(pFile);
if (dcbias4[0] == '1'){
    for (i = 0; i <= 6; i++){dcbias4[i] = ligado[i];}
    else{ for (i = 0; i <= 9; i++){dcbias4[i] = desligado[i];}}
if (smooes6[0] == '1'){for (i = 0; i <= 6; i++){smooes6[i] = ligado[i];}}
    else{for (i = 0; i <= 9; i++){smooes6[i] = desligado[i];}}
if (aver[0] == '1'){    for (i = 0; i <= 6; i++){aver[i] = ligado[i];}}
    else{for (i = 0; i <= 9; i++){aver[i] = desligado[i];}}
if (tela1[0] == 't'){strcpy(tela1, "TR\0");}
    else if (tela1[0] == 's'){strcpy(tela1, "S11\0");}
if (tela1[0] == 'T'){tela1[2] = '\0';}
    else{tela1[3] = '\0';}
b = strlen(tensao5) - 1;
tensao5[b] = '\0';
b = strlen(freqsta2) - 1;
freqsta2[b] = '\0';
system("CLS");
printf("Seus dados:\n");
printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: %s, Tela 2: %s\n", tela1, tela1);
printf("2.Setar Frequencia: Start: %s, Stop: %s", freqsta2, freqsto3);
if (dcbias4[0] == 'L'){
    printf("3.DC Bias: %s\n", dcbias4);
    printf("4.Tensao inicial: %s V, Tensao final: %s V\n", tensao5, tensaof5);}
else{printf("3.DC Bias: %s\n", dcbias4);}

```



```

        i = atof(tensao5);
        b = atof(tensaof5);
        if (i<0 || b<0){
            printf("Tensao menor do que o permitido\n");}
            else if (i>13 || b>13){printf("Tensao maior do que o permitido\n");}
            else{auxi = 1;}
            auxi2++;}
viPrintf(vi, ":SOUR:BIAS:VOLT %s", tensao5);
b = strlen(tensao5) - 1;
tensao5[b] = '\0';
b = strlen(tensaof5) - 1;
tensaof5[b] = '\0';}
break;
case 5:
printf("Smoothing (1 = ligado, 0 = desligado): ");
fgetc(stdin);
fgets(smooes6, 15, stdin);
viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:STATE %s", smooes6);
if (smooes6[0] == '1'){
    auxi = 0;
    while (auxi == 0){
        printf("Modulo do smoothing (0.05 a 25%): ");
        fgets(smooval7, 10, stdin);
        i = atoi(smooval7);
        if (i<0.05){printf("Smoothing menor do que o permitido\n");}
            else if (i>25){printf("Smoothing maior do que o permitido\n");}
            else{auxi = 1; }}
        viPrintf(vi, ":CALC1:SMO:APER %s", smooval7);
        b = strlen(smooval7) - 1;
        smooval7[b] = '\0';}
        break;
case 6:
printf("Averaging (1 = ligado, 0 = desligado): ");
fgetc(stdin);
fgets(aver, 15, stdin);
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER %s\n", aver);
if (aver[0] == '1'){
    auxi = 0;
    while (auxi == 0){
        printf("Contagem de averaging (0 a 999): ");
        fgets(averval8, 10, stdin);
        i = atoi(averval8);
        if (i<0){printf("Averaging menor do que o permitido\n");}
            else if (i>999){ printf("Averaging maior do que o permitido\n");}
            else{auxi = 1; }}
        viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:COUN %s", averval8);
        b = strlen(averval8) - 1;
        averval8[b] = '\0';}
        break;}
printf("Satisfeito?(1 = sim, 0 = nao) ");
scanf("%d", &aux3);}
pFile = fopen("conf_apar.txt", "w+");
fprintf(pFile, "%s", tela1);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", freqsta2);

```

```

fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", freqsto3);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", dcbias4);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", tensao5);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", tensaof5);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", smooes6);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", smooval7);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", aver);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, "%s", averval8);
fprintf(pFile, ",");
fprintf(pFile, ",");
fclose(pFile);
fflush(pFile);
if (dcbias4[0] == '1'){
    for (i = 0; i <= 6; i++){          dcbias4[i] = ligado[i];}
    else{for (i = 0; i <= 9; i++){dcbias4[i] = desligado[i];}}
if (smooes6[0] == '1'){for (i = 0; i <= 6; i++){smooes6[i] = ligado[i];}}
    else{for (i = 0; i <= 9; i++){smooes6[i] = desligado[i];}}
if (aver[0] == '1'){for (i = 0; i <= 6; i++){aver[i] = ligado[i];}}
    else{for (i = 0; i <= 9; i++){aver[i] = desligado[i];}}
if (tela1[0] == 't'){strcpy(tela1, "TR\0");}
    else if (tela1[0] == 's'){strcpy(tela1, "S11\0");}
if (tela1[0] == 'T'){tela1[2] = '\0';} else{tela1[3] = '\0';}
system("CLS");
printf("Seus dados:\n");
printf("1.Trace 1 Set: Tela 1: %s, Tela 2: %s\n", tela1, tela1);
printf("2.Setar Frequencia: Start: %s, Stop: %s\n", freqsta2, freqsto3);
if (dcbias4[0] == 'L'){
    printf("3.DC Bias: %s\n", dcbias4);
    printf("4.Tensao inicial: %s V, Tensao final %s V\n", tensao5, tensaof5);}
    else{printf("3.DC Bias: %s\n", dcbias4);}
if (smooes6[0] == 'L'){printf("5.Smoothing: %s, %s\n", smooes6, smooval7); }
    else{printf("5.Smoothing: %s\n", smooes6);}
if (aver[0] == 'L'){printf("6.Averaging: %s, %s\n", aver, averval8);}
    else{printf("6.Averaging: %s\n", aver, averval8);}}
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT ON\n");
if (aver[0] == 'L' || aver[0] == '1'){
    viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:CLE\n");
    viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC1:Y:AUTO\n");
    viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC2:Y:AUTO\n");
    printf("Aparelho setado!!!\n");}
    else{
    viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC1:Y:AUTO\n");
    viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC2:Y:AUTO\n");
    printf("Aparelho setado!!!\n");}
viClose(vi);
viClose(defaultRM);}

```

```

posicao = 0;
posicao1 = 0;
a = 1601;
cv = 20;
c = 19;
n = 7;
int test;
char date[9];
char tempos[9];
char date1[9];
volt_inc = 1;
volt_aux = 0;
volt_i = atof(tensao5);
volt_f = atof(tensaof5);
viPrintf(vi, "*CLS\n");
while (testeok != 1){
    system("CLS");
    printf("Apos digitar resposta pressionar ENTER\n");
    Sleep(2000);
    system("CLS");
    tela1 = 1;
    tela2 = 1;
    if (tela1 == 1 && tela2 == 1){ qarq = 2; }
    else { qarq = 1; }
    printf("\nInforme vezes por leitura: ");
    scanf_s("%d", &pacos);
    printf("\nInforme quantas leituras: ");
    scanf_s("%f", &vezes);
    volt_i = 1;
    volt_f = 1;
    printf("\nInforme tempo entre leituras (minutos) OBS: tempo minimo 30 segundos (0.5): ");
    scanf_s("%f", &tempo);
    volt_tempo = 0;
    viOpenDefaultRM(&defaultRM);
    viOpen(defaultRM, "TCPIP0::192.168.0.109::INSTR", VI_NULL, VI_NULL, &vi);
    viPrintf(vi, ":FORM:DATA ASC\n");
    viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:COUN?\n");
    viScanf(vi, "%t", &buff);
    valor_aver = atof(buff);
    temp_aver = (valor_aver * 14 / 100);
    if (volt_i != volt_f){
        volt_vezes = ceil(((volt_f - volt_i) / volt_inc) + 1);
        volt_resto = floor(((volt_f - volt_i) / volt_inc) + 1);
        volt_tempo = ((temp_aver / 60)*volt_vezes);
        total = vezes*tempo + volt_tempo;
        if (vezes == 1){ total = volt_tempo; }}
    if (volt_i == volt_f){
        volt_vezes = 0;
        if (vezes == 1){ total = (vezes*tempo) + (temp_aver*vezes / 60); }
        if (vezes >= 1){ total = ((vezes - 1)*tempo) + (temp_aver*vezes / 60);}}
    temp_aver = temp_aver * 1000;
    printf("\nVai demorar: %.2f minutos\n\n", total);
    total1 = vezes*pacos;
    tempo1 = tempo;
    tempo = (tempo * 60000) - 16000;

```

```

if (tempo<14000){ tempo = 14000; }
printf("OK? (nao = 0) (sim = 1): ");
scanf("%d", &testeok);}
aux = 0;
pFile = fopen("dados.txt", "a+");
fopen_s(&zpFile, "markdados.txt", "w+");
fprintf_s(zpFile,"Leitura\tIndice\tTensao\tHora\tData\tMarker_1_x\tMarker_1_y\tMarker_2_x\t
Marker_2_y\tMarker_3_x\tMarker_3_y\n");
j = 1;
k = 1;
while (j <= vezes){
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC1:Y:AUTO\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC2:Y:AUTO\n");
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT ON\n");
viPrintf(vi, ":SENS1:AVER:CLE\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC1:Y:AUTO\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC2:Y:AUTO\n");
printf("Leitura: %d\n", j);
Sleep(temp_aver);
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC1:Y:AUTO\n");
viPrintf(vi, ":DISP:WIND1:TRAC2:Y:AUTO\n");
pacos1 = 1;
while (pacos1 <= pacos){
viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:SEL\n");
fprintf_s(zpFile, "%d\t", j);
fprintf_s(zpFile, "%d\t", pacos1);
_strdate_s(date);
_strtime_s(tempos);
for (test = 0; test <= 9; test++) { date1[test] = date[test]; }
date[0] = date1[3];
date[1] = date1[4];
date[3] = date1[0];
date[4] = date1[1];
fprintf_s(zpFile, "%.2f\t%s\t%s\t", volt_aux, tempos, date);
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK1:X?\n");
viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\t");
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK1:Y?\n");
viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\t");
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK2:X?\n");
viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\t");
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK2:Y?\n");
viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\t");
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK3:X?\n");

```

```

viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\t");
viPrintf(vi, ":CALC1:MARK3:Y?\n");
viScanf(vi, "%t", &buff);
for (i = 0; i < ll; i++){ dads[i] = buff[i]; }
fwrite(dads, sizeof(dads[0]), sizeof(dads) / sizeof(dads[0]), zpFile);
fprintf_s(zpFile, "\n");
if (aux == 0){
    viPrintf(vi, ":SENS1:FREQ:DATA?\n");
    viScanf(vi, "%t", &buff);
    fprintf_s(pFile, "_____Frequencia____,");
    for (i = 0; i < l; i++){ dado[i] = buf[i]; }
    fwrite(dado, sizeof(dado[0]), sizeof(dado) / sizeof(dado[0]), pFile);
    aux++;}
if (aux != 0){
    if (tela1 == 1){
        viPrintf(vi, ":CALC1:PAR1:SEL\n");
        viPrintf(vi, ":CALC1:DATA:FDAT?\n");
        viScanf(vi, "%t", &buff);
        _strdate_s(date);
        _strtime_s(tempo);
        for (test = 0; test <= 9; test++) { date1[test] = date[test]; }
        date[0] = date1[3];
        date[1] = date1[4];
        date[3] = date1[0];
        date[4] = date1[1];
        fprintf_s(pFile, "%s___%s,", tempo, date);
        fprintf_s(pFile, "abcdefghijklmnopqrs,");
        for (i = 0; i < L; i++){ dado1[i] = buf[i]; }
        fwrite(dado1, sizeof(dado1[0]), sizeof(dado1) / sizeof(dado1[0]), pFile);}
    if (tela2 == 1){
        viPrintf(vi, ":CALC1:PAR2:SEL\n");
        viPrintf(vi, ":CALC1:DATA:FDAT?\n");
        viScanf(vi, "%t", &buff);
        _strdate_s(date);
        _strtime_s(tempo);
        for (test = 0; test <= 9; test++) { date1[test] = date[test]; }
        date[0] = date1[3];
        date[1] = date1[4];
        date[3] = date1[0];
        date[4] = date1[1];
        fprintf_s(pFile, "%s___%s,", tempo, date);
        fprintf_s(pFile, "abcdefghijklmnopqrs,");
        for (i = 0; i < L; i++){ dado1[i] = buf[i]; }
        fwrite(dado1, sizeof(dado1[0]), sizeof(dado1) / sizeof(dado1[0]), pFile);}
    pacos1++;}
k++;
viPrintf(vi, ":INIT1:CONT OFF\n");
j++;
if (j <= vezes){ Sleep(tempo); }}
viClose(vi);
viClose(defaultRM);
fclose(pFile);

```

```

if (volt_i != volt_f){ vezes = k - 1; }
fopen_s(&arqui, "dados.txt", "r");
if (arqui == NULL){printf("Nao foi possivel abrir o arquivo \n"); system("pause"); exit(0);}
caractere = 0;
numeroi = 0;
while ((teste[0] = fgetc(arqui)) != EOF){
    caractere++;
    if (teste[0] == 'I'){ numeroi++; } }
n = (pacos*vezes) + 1;
a = (caractere - (2 * n)) / (20 * (2 * n - 1));
a = 1602;
printf("Aguarde processamento de arquivo(s).");
fclose(arqui);
fopen_s(&arqui, "dados.txt", "r");
fopen_s(&pfile, "dadosrec1.txt", "w+");
while ((teste[0] = fgetc(arqui)) != EOF){
    if (teste[0] != ' ' && teste[0] != '\t' && teste[0] != '\0'){
        if (teste[0] == '\n'){ teste[0] = ','; }
        fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), pfile); } }
fclose(arqui);
fclose(pfile);
arqui = fopen("dadosrec2.txt", "w+");
pfile = fopen("dadosrec1.txt", "r");
k2 = 1;
k3 = 1;
while ((teste[0] = fgetc(pfile)) != EOF){
    if (k2 <= 32040){fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqui);}
    if (k2 > 32040){ if (k3 <= 20){fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) /
sizeof(teste[0]), arqui);}
        else if (k3 == 40){k3 = 0;}
            k3 += 1;}
            k2 += 1;}
fclose(pfile);
if (tela1 == 1 && tela2 == 1){
    fclose(arqui);
    arqui = fopen("dadosrec2.txt", "r");
    pfile = fopen("tel1.txt", "w+");
    arqt = fopen("tel2.txt", "w+");
    k2 = 1;
    k3 = 1;
    aux = 1;
    while ((teste[0] = fgetc(arqui)) != EOF){
        if (k2 <= 32040){
            fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), pfile);
            fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqt);}
        if (k2 > 32040){
            if (k3 <= 32040){ fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), pfile); }
            if (k3 >= 32041){ fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqt); } }
        k2++;
        k3++;
        if (k3 == 64081){ k3 = 1; } }
    fclose(arqui);
    fclose(pfile);
    fclose(arqt);
    pfile = fopen("tel1.txt", "r");

```

```

arqt = fopen("tel2.txt", "r");
fopen_s(&arqui, "tel11.txt", "w+");
fopen_s(&pFile, "tel22.txt", "w+");
for (i = 1; i <= a; i++){
    for (j = 1; j <= n; j++){
        if (j == 1){
            fseek(pfile, posicao, SEEK_SET);
            fseek(arqt, posicao, SEEK_SET);
            for (k = 1; k <= cv; k++){
                dados[k] = fgetc(pfile);
                dados1[k] = fgetc(arqt);
                posicao++;}
            fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqui);
            fprintf(arqui, "\t");
            fwrite(dados1, sizeof(dados1[0]), sizeof(dados1) / sizeof(dados1[0]), pFile);
            fprintf(pFile, "\t");}
        if (j != 1){
            texto = (cv*a*j) + posicao1 - (cv*a);
            fseek(pfile, texto, SEEK_SET);
            fseek(arqt, texto, SEEK_SET);
            for (k = 1; k <= cv; k++){
                dados[k] = fgetc(pfile);
                dados1[k] = fgetc(arqt);
                posicao1++;}
            fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqui);
            fprintf(arqui, "\t");
            fwrite(dados1, sizeof(dados1[0]), sizeof(dados1) / sizeof(dados1[0]), pFile);
            fprintf(pFile, "\t");
            if (j > 1 && j < n){ posicao1 = posicao1 - 20;}} }
        fprintf(arqui, "\n");
        fprintf(pFile, "\n");}
fclose(arqui);
fclose(pfile);
fclose(pFile);
fclose(arqt);
fopen_s(&arqui, "tela2.txt", "w+");
fopen_s(&pFile, "tel11.txt", "r");
while ((teste[0] = fgetc(pFile)) != EOF){
    if (teste[0] != 'I' && teste[0] != ','){
        if (teste[0] == '.'){teste[0] = ','; }
        fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqui);}}
fclose(pFile);
fclose(arqui);
fflush(pFile);
fclose(arqui);
fopen_s(&arqt, "tel22.txt", "r");
fopen_s(&pfile, "tela1.txt", "w+");
while ((teste[0] = fgetc(arqt)) != EOF){
    if (teste[0] != 'I' && teste[0] != ','){
        if (teste[0] == '.'){teste[0] = ',';}
        fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), pfile);}}
fclose(arqt);
fflush(arqt);
fclose(pfile);
fflush(pfile);}

```

```

if (tela1 == 1 && tela2 == 0){
    fclose(arqui);
    arqui = fopen("dadosrec2.txt", "r");
    fopen_s(&arqt, "tel11.txt", "w+");
    for (i = 1; i <= a; i++){
        for (j = 1; j <= n; j++){
            if (j == 1){
                fseek(arqui, posicao, SEEK_SET);
                for (k = 1; k <= cv; k++){ dados[k] = fgetc(arqui); posicao++; }
                fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqt);
                fprintf(arqt, "\t");
            }
            if (j != 1){
                texto = (cv*a*j) + posicao1 - (cv*a);
                fseek(arqui, texto, SEEK_SET);
                for (k = 1; k <= cv; k++){ dados[k] = fgetc(arqui); posicao1++; }
                fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqt);
                fprintf(arqt, "\t");
            }
            if (j > 1 && j < n){ posicao1 = posicao1 - 20; } }
        fprintf(arqt, "\n");
        aux = 3; }
    fclose(arqui);
    fopen_s(&arqui, "tela1.txt", "w+");
    fclose(arqt);
    fopen_s(&arqt, "tel11.txt", "r");
    while ((teste[0] = fgetc(arqt)) != EOF){
        if (teste[0] != 'I' && teste[0] != ','){
            if (teste[0] == '.'){ teste[0] = ','; }
            fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqui); } }
    fclose(arqt);
    fclose(arqui);
    fflush(arqt);
    fflush(arqui);
    fflush(pfile);
    fflush(pFile); }
if (tela1 == 0 && tela2 == 1){
    fclose(arqui);
    arqui = fopen("dadosrec2.txt", "r");
    fopen_s(&arqt, "tel22.txt", "w+");
    for (i = 1; i <= a; i++){
        for (j = 1; j <= n; j++){
            if (j == 1){
                fseek(arqui, posicao, SEEK_SET);
                for (k = 1; k <= cv; k++){ dados[k] = fgetc(arqui); posicao++; }
                fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqt);
                fprintf(arqt, "\t");
            }
            if (j != 1){
                texto = (cv*a*j) + posicao1 - (cv*a);
                fseek(arqui, texto, SEEK_SET);
                for (k = 1; k <= cv; k++){ dados[k] = fgetc(arqui); posicao1++; }
                fwrite(dados, sizeof(dados[0]), sizeof(dados) / sizeof(dados[0]), arqt);
                fprintf(arqt, "\t");
            }
            if (j > 1 && j < n){ posicao1 = posicao1 - 20; } }
        fprintf(arqt, "\n");
        aux = 3; }
    fclose(arqui);

```

```

fopen_s(&arqui, "tela2.txt", "w+");
fclose(arqt);
fopen_s(&arqt, "tel22.txt", "r");
while ((teste[0] = fgetc(arqt)) != EOF){
    if (teste[0] != '\t' && teste[0] != ','){
        if (teste[0] == '.'){teste[0] = ',';}
        fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqui);} }
fclose(arqt);
fclose(arqui);
fflush(arqt);
flush(arqui);
flush(pfile);
fflush(pFile);}
fopen_s(&arqt, "configuracao.txt", "w+");
if (tela11 == 1 && tela2 == 1){fprintf(arqt, "Foi pego dados das %d telas.\nFoi lido %d cada
medida.\nFoi realizado %.1f medidas, totalizando %.1f medida(s).\nO tempo entre as medidas
foi de %.1f minutos.\nO tempo total foi de %.1f minutos.", qarq, pacos, vezes, total1, tempo1,
total);}
if (tela11 == 1 && tela2 == 0){fprintf(arqt, "Foi pego dados da tela 1.\nFoi lido %d cada
medida.\nFoi realizado %.1f medidas, totalizando %.1f medida(s).\nO tempo entre as medidas
foi de %.1f minutos.\nO tempo total foi de %.1f minutos.", pacos, vezes, total1, tempo1, total);}
if (tela11 == 0 && tela2 == 1){fprintf(arqt, "Foi pego dados da tela 2.\nFoi lido %d cada
medida.\nFoi realizado %.1f medidas, totalizando %.1f medida(s).\nO tempo entre as medidas
foi de %.1f minutos.\nO tempo total foi de %.1f minutos.", pacos, vezes, total1, tempo1, total);}
if (volt_i != volt_f){fprintf(arqt, "\nTensao inicial: %f\nTensao final: %f\nIncremento da tensao:
%f", volt_i, volt_f, volt_inc);}
fclose(arqt);
fflush(arqt);
if (remove("dadosrec1.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
if (remove("dadosrec2.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
if (remove("tel1.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
if (remove("tel2.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
if (remove("tel11.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
if (remove("tel22.txt") != 0){ perror("Error deleting file"); }
fopen_s(&zpFile, "markdados.txt", "r+");
fopen_s(&arqt, "markdadosv.txt", "w+");
while ((teste[0] = fgetc(zpFile)) != EOF){
    if (teste[0] == '.'){ teste[0] = ','; }
    fwrite(teste, sizeof(teste[0]), sizeof(teste) / sizeof(teste[0]), arqt);}
fclose(arqt);
fflush(arqt);
fclose(zpFile);
fflush(zpFile);}

```

Apêndice 3: Software de controle do dispositivo portátil

```
#include<p18f4550.h>
#define _XTAL_FREQ 24000000
#include <usart.h>
#include <sw_uart.h>
#include <xc.h>
#include <xlcd.h>
#include <delays.h>
#include <htc.h>
#include <stdio.h>
#include <spi.h>
#include <stdlib.h>
#include <stdio.h>
#include <string.h>
#include <plib/usart.h>
#include <flex_lcd.h>
#define EAUSART_V4
/* *****COMPILER DIRECTIVES FOR CHIP CONFIGURATION BITS *** */
#pragma config PLLDIV = 5 , CPUDIV = OSC1_PLL2 , USBDIV = 2 // You can write this
way
// OR
#pragma config FOSC = HS
#pragma config FCMEN = OFF // OR this way
#pragma config BORV = 3
#pragma config WDT = OFF
#pragma config CPB = OFF
#pragma config CPD = OFF
#pragma config MCLRE = OFF
#pragma config PWRT = OFF, BOR = OFF, VREGEN = OFF
#pragma config LVP = OFF ////mexe com pino RB5

#define CS PORTCbits.RC0
#define SCLK PORTCbits.RC1
#define SDATA PORTCbits.RC2
```

```

#define led PORTDbits.RD0
#define ampli PORTDbits.RD1
#define col4 PORTBbits.RB0
#define col3 PORTBbits.RB1
#define col2 PORTBbits.RB2
#define col1 PORTBbits.RB3
void envia_dds(unsigned int dado);
void set_dds(unsigned long dado);
void dds_inic(void);
void calcula(double valor);
void parada(unsigned int tempo);
void lcd(unsigned char buf,unsigned char buf1);
void analisa(unsigned char caractere);
void keyboard();
void manual();
double valor,g,a,b,c,d;
unsigned char buffer[20],buffer1[20],dado[20],i;
unsigned int tempo,j;
char CaracterRx;
float angulo,magnitude,mak;
int volt;
char pc[20],ipc;
unsigned long dados,result;
unsigned int tempo,j;
char *parcial,*teste;
float freqi,freqf,inc,maxf,minf,maxang,minang;
int cont;
int k;
float y;
int keys =0;
unsigned int analis,analis1,analis2;
unsigned int linha,esc,cesc,pula;
int col,lin,varr,icol,ilin;
char as;
unsigned char texto[20], texto1[20], texto2[20];
int letra, letra1, letra2;
int info;

```

```

void main() {
    a=69000;
    b=85000;
    c=0.01;
    d=a;
    ampli=0;
    OpenUSART(USART_TX_INT_OFF &
        USART_RX_INT_ON & //Activar la interrupcion por la recepcion de dato del buffer
de Rx del USART
        USART_ASYNC_MODE & //Modo asincrono (fullduplex)
        USART_EIGHT_BIT & //8 bits de datos
        USART_CONT_RX & //Recepción continua
        USART_BRGH_HIGH, 77); //9600 Baudios 155 //19200 baud 77
INTCONbits.PEIE = 1; //Ativar interrupções de periféricos
INTCONbits.GIE = 0; //Ativar interrupções globais
ADCON1 = 0b00001101; //VSS, VDD ref. AN0 AN1 analog only
ADCON0 = 0x00; //limpar ADCON0 e seleccionar canal 0 (AN0)
ADCON2 = 0b10001000; //ADCON2 setup: Right justified, Tacq=2Tad, Tad=2*Tosc (or Fosc/2)
ADCON0bits.ADON = 0x01; //Enable A/D module
TRISA = 0b00000011;
TRISB = 0b00001110;
TRISC = 0b00000000;
TRISD = 0b00000000;
TRISE = 0b00000000;
PORTA=0;
PORTB=0;
PORTC=0;
PORTD=0;
PORTE=0;
cont=0;
freqf=10;
freqf=1;
inc=1;
d=4;
y=10000;
Lcd_Init ();
__delay_ms(20);

```

```

Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
__delay_ms(20);
Lcd_Cmd(LCD_CURSOR_OFF);
__delay_ms(20);
led=1;
Lcd_Out(1, 1, " Freq. em KHz");
parada(2000);
led=0;
Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
__delay_ms(20);
Lcd_Out(1, 3, "Set Freq?");
Lcd_Out(2, 1, "Sim (*) Nao (#)");
nalis=0;
nalis1=0;
nalis2=0;
linha=0;
esc=0;
cesc=0;
pula=0;
//Fim inicialização keyboard e LCD
info=0;
while(1) {
    if(cont==0) { keyboard(); }
    if(d>=freqf && cont !=0){
        parada(500);
        ampli=0;
        Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
        __delay_ms(20);
        sprintf(buffer, " %.2f Hz",maxf);
        Lcd_Out(1, 1, buffer);
        sprintf(buffer1, " %.2f Hz",minf);
        Lcd_Out(2, 1, buffer1);
        cont=0;
        info=1; } }
void parada(unsigned int tempo){for(j=0;j<tempo;j++) __delay_ms(1);}
void calcula(double valor){
    //g=(valor/125000000)*0xFFFFFFFF;

```

```

g=(valor/24000000)*0xFFFFFFFF;
set_dds(g);}

void set_dds(unsigned long dados){
envia_dds(0xF800);          //Coloca em modo SLEEP 0b1111100000000000
envia_dds(0x3300 | ((dados>>24)&0xFF)); //Parte MSBH 0b11001100000000
envia_dds(0x2200 | ((dados>>16)&0xFF)); //Parte MSBL 0b10001000000000
envia_dds(0x3100 | ((dados>>8)&0xFF)); //Parte LSBH 0b11000100000000
envia_dds(0x2000 | (dados&0xFF)); //Parte LSBL 0b10000000000000
envia_dds(0xC000);        //Retira do modo SLEEP 0b1100000000000000

SCLK=1;
__delay_us(1);
SCLK=0;
__delay_us(1);
CS=1;
__delay_us(1);
CS=0;
__delay_us(1);
envia_dds(dados&0xFF); //Parte LSBL 0b1000000000000000
envia_dds((dados>>8)&0xFF); //Parte LSBH 0b1100010000000000
envia_dds((dados>>16)&0xFF); //Parte MSBL 0b1000100000000000
envia_dds((dados>>24)&0xFF); //Parte MSBH 0b1100110000000000

envia_dds(0x00);
__delay_us(1);
CS=1;
__delay_us(1);
CS=0;}

void envia_dds(unsigned int dados){
unsigned int aux=0x8000;
CS=0;
__delay_us(10);
do {
if(aux & dados)
SDATA=1;
else
SDATA=0;
__delay_us(1);
}

```

```

    SCLK=0;
    __delay_us(1);
    SCLK=1;
    __delay_us(1);
    aux=aux>>1;}
while(aux);
    CS=1;
    SDATA=1;
    SCLK=1;}
void keyboard() {
    for(lin=128;lin>=16;lin=lin/2){
    PORTB=lin;
    for(col=8;col>=1;col=col/2){
    if (col1==1){  switch( lin ) {
                    case 128 : as='1';
                    break;
                    case 64 : as='4';
                    break;
                    case 32 : as='7';
                    break;
                    case 16 : as='*';
                    break; }
        analisa(as); }
    if (col2==1){  switch( lin ) {
                    case 128 : as='2';
                    break;
                    case 64 : as='5';
                    break;
                    case 32 : as='8';
                    break;
                    case 16 : as='0';
                    break; }
        analisa(as); }
    if (col3==1){ switch( lin ) {
                    case 128 : as='3';
                    break;
                    case 64 : as='6';

```

```

                break;
                case 32 : as='9';
                break;
                case 16 : as='#';
                break; }
        analisa(as);}
if (col4==1){ switch( lin ) {
                case 128 : as='/';
                break;
                case 64 : as='x';
                break;
                case 32 : as='-';
                break;
                case 16 : as='+';
                break; }
        analisa(as);} } }
        if(pula==1){pula=0; analisa(as);}
}
void analisa(unsigned char caractere){
        if(info==0){
                if(caractere=='#'){cesc=cesc+1;}
                if(caractere!='#'){if(cesc>=1){cesc=cesc-1;}}
                if (caractere=='*') {
                        linha=linha+1;
                        do{ } while(col1==1 | col2==1 | col3==1 | col4==1);
                        INTCONbits.GIE = 0; }
                if (caractere=='#'){
                        if(linha>=1){ esc=esc-1; if(esc==0 & linha>=2){linha=linha-1;}}
                        do{ } while(col1==1 | col2==1 | col3==1 | col4==1);
                        if(linha==0) {
                                Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
                                __delay_ms(20);
                                Lcd_Out(1, 1, "Esperando");
                                Lcd_Out(2, 1, "Comando");
                                INTCONbits.GIE = 1; } }
                if(linha==1){
                        if(esc==0) {

```

```

    esc=1;
    Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
    __delay_ms(30);
    Lcd_Out(1, 1, "Fi:");
    Lcd_Out(1, 5, "");
    for(letra=0;letra<=20;letra++){
        texto[letra]=" "; }
    letra=0; }
if(esc>=1 & caractere!='*' & caractere!='#'){
    Lcd_Chrcp(caractere);
    texto[letra]=caractere;
    letra=letra+1;
    do{ } while(col1==1 | col2==1 | col3==1 | col4==1); } }
if(linha==2){
    if(esc==1 & cesc <=1) {
        esc=2;
        Lcd_Out(2, 1, "Ff:      ");
        Lcd_Out(2, 5, "");
        for(letra1=0;letra1<=20;letra1++){
            texto1[letra1]=" "; }
        letra1=0;}
    if(esc>=2 & caractere!='*' & caractere!='#'){
        Lcd_Chrcp(caractere);
        texto1[letra1]=caractere;
        letra1=letra1+1;
        do{ } while(col1==1 | col2==1 | col3==1 | col4==1);}}
if(linha==3){
    if(esc==2 & cesc <=1) {
        esc=3;
        Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
        __delay_ms(20);
        Lcd_Out(1, 1, "Ic:      Hz");
        Lcd_Out(1, 5, "");
        //Lcd_Out(2, 5, "");
        for(letra2=0;letra2<=20;letra2++){
            texto2[letra2]=" "; }
        letra2=0;}

```

```

if(esc>=3 & caractere!='*' & caractere!='#'){
Lcd_Chr_CP(caractere);
texto2[letra2]=caractere;
letra2=letra2+1;
do{ } while(col1==1 | col2==1 | col3==1 | col4==1);} }
if(cesc>=3){pula=1;linha=2;esc=1;cesc=0;}
if(linha==4){
Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
__delay_ms(30);
freqi=atof(texto);
freqi=freqi*1000;
freqf=atof(texto1);
freqf=freqf*1000;
inc=atof(texto2);
sprintf(buffer1,"%0f lendo",freqi);
Lcd_Out(1, 1, buffer1);
sprintf(buffer1,"%0f %0.3f Hz",freqf,inc);
Lcd_Out(2, 1, buffer1);
a=freqi;
b=freqf;
d=a;
minang=180;
maxang=0;
cont=0;
ampli=1;
manual();}}
if(info==1){
Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
__delay_ms(20);
Lcd_Out(1, 3, "Set Freq?");
Lcd_Out(2, 1, "Sim (*) Nao (#)");
analisis=0;
analisis1=0;
analisis2=0;
linha=0;
esc=0;
cesc=0;

```

```

    pula=0;
    info=0; }}
void manual(){
while(d<freqf){
    __delay_ms(30);
    __delay_ms(30);
    calcula(d);
    cont=cont+1;
    ADCON0bits.CHS0 = 0;
    ADCON0bits.GO_DONE = 1;
    while(ADCON0bits.GO_DONE != 0);
    valor=((ADRESH <<8) + ADRESL);
    ADCON0bits.CHS0 = 1;
    ADCON0bits.GO_DONE = 1;
    while(ADCON0bits.GO_DONE != 0);
    volt=((ADRESH <<8) + ADRESL);
    angulo=((0.004887585533*valor*1000)-1800)/(-10);
    magnitud=((0.004887585533*volt*1000)-900)/30;
    if(angulo<minang && cont>9){ minang=angulo; minf=d;}
    if(angulo>maxang && cont>9){ maxang=angulo; maxf=d;}
    d=d+inc; }}
void interrupt Interrupcion() {
    CaracterRx = ReadUSART();
    while(BusyUSART());
    if(CaracterRx=='$'){
        getsUSART(pc,20);
        parcial= strtok(pc, ";");
        freqi=atof(parcial);
        parcial = strtok (NULL, ";");
        freqf=atof(parcial);
        parcial = strtok (NULL, ";");
        inc=atof(parcial);
        a=freqi;
        b=freqf;
        d=a;
        minang=180;
        maxang=0;

```

```

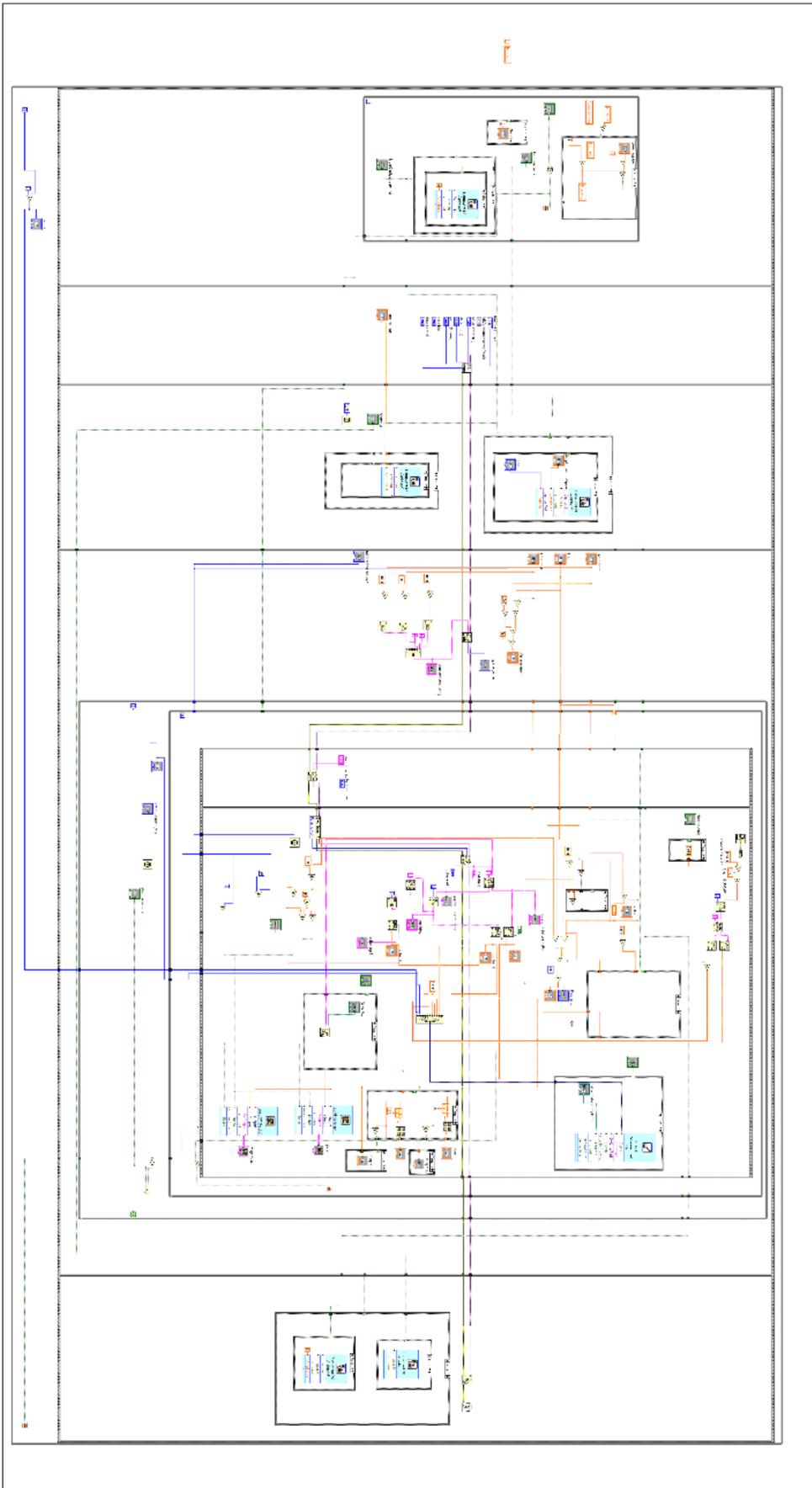
cont=0;
ampli=1;
calcula(d);
__delay_ms(30);
Lcd_Cmd(LCD_CLEAR);
__delay_ms(30);
Lcd_Out(1, 1, "Medindo");}
if(CharacterRx=='*'){
calcula(d);
cont=cont+1;
ADCON0bits.CHS0 = 0;
ADCON0bits.GO_DONE = 1;
while(ADCON0bits.GO_DONE != 0);
valor=((ADRESH <<8) + ADRESL);
ADCON0bits.CHS0 = 1;
ADCON0bits.GO_DONE = 1;
while(ADCON0bits.GO_DONE != 0);
volt=((ADRESH <<8) + ADRESL);
angulo=((0.004887585533*valor*1000)-1800)/(-10);
magnitud=((0.004887585533*volt*1000)-900)/30;
if(angulo<minang && cont>9){ minang=angulo; minf=d;}
if(angulo>maxang && cont>9){ maxang=angulo; maxf=d;}
sprintf(dado,"%0.2f %0.2f %0.2f@",magnitud,angulo,d);
putsUSART(dado);
d=d+inc; }
PIR1bits.RCIF = 0;}

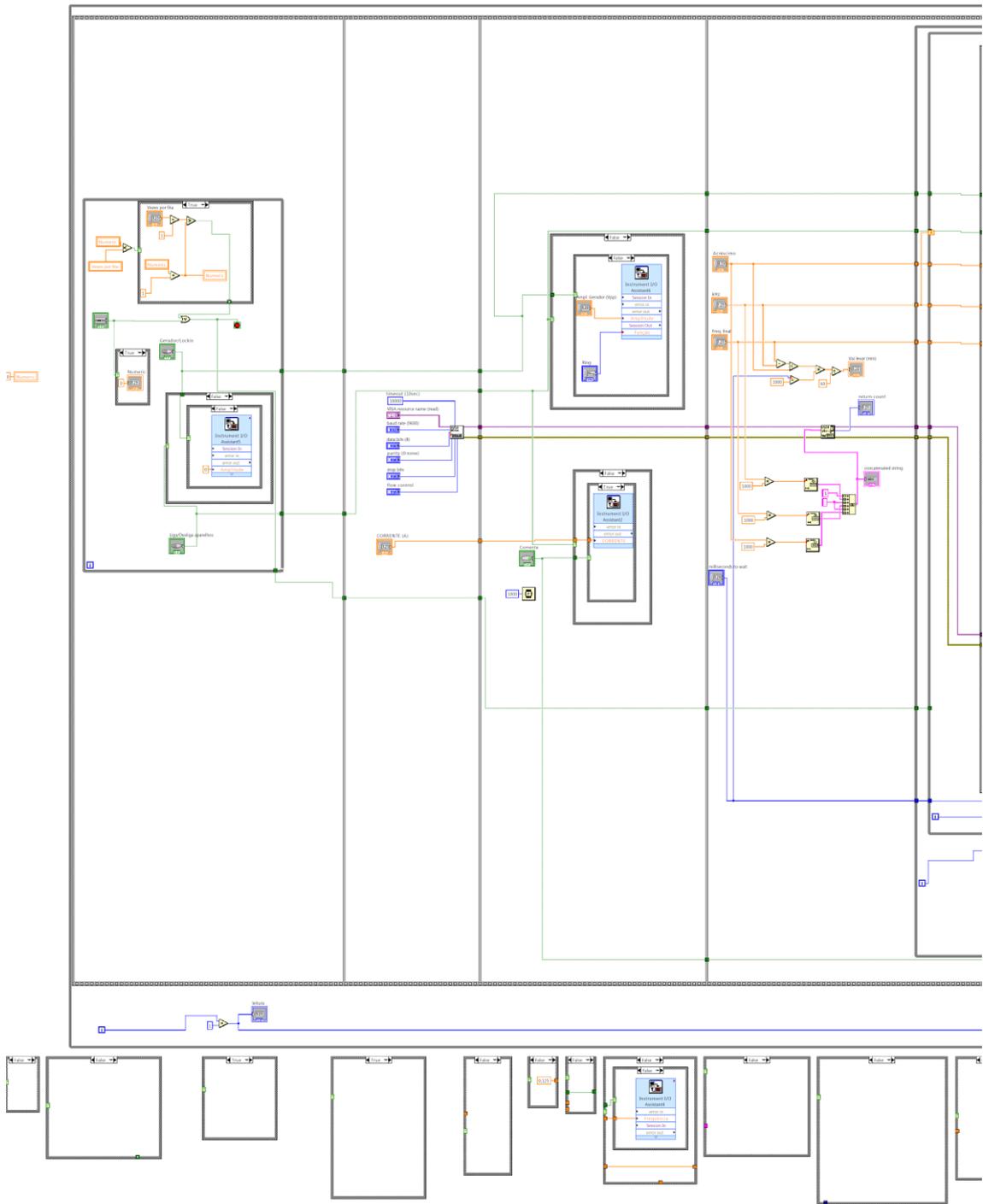
```

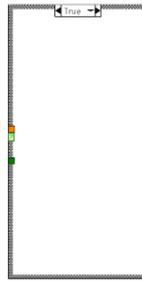
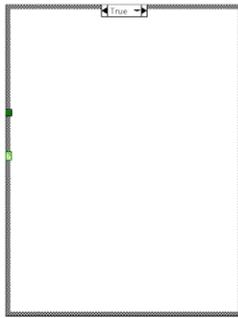
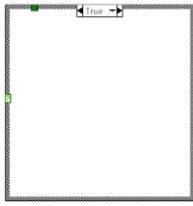
Apêndice 4: Software para computador gerenciar dispositivo portátil

The screenshot displays a software interface for managing a portable device. The interface is organized into several functional areas:

- Configuration Section (Top):**
 - Timing and Control:** Includes fields for 'milliseconds to wait' (130), 'Vezes por fits' (5), 'Numeric' (0), 'Horário verão' (0), 'leitura' (0), 'Iniciar Medição', 'Freq. inicial' (59 KHz), 'Freq. final' (95 KHz), 'Adesçimo' (0.01 KHz), 'Analisar sempre' (0), and 'Entre medidas (ms)' (0).
 - Serial Port Settings:** Includes 'baud rate (9600)' (19200), 'data bits (8)' (8), 'parity (none)' (None), 'stop bits' (1.0), and 'flow control' (None).
 - Flow Control:** Includes 'VISA resource name (read)' (COM4) and 'bytes read' (0).
 - Match and String Settings:** Includes 'string to write', 'bytes written' (0), 'match + rest of string', 'string 1' (C:\Users\UCSD\Desktop\matheus\teste AD08302\teste.txt), 'string 2', and 'string 3'.
 - Other Parameters:** Includes 'return count' (0), 'conconcatenated string', 'Gerador/Lockin Ligar/Desliga aparelho', 'Ampl. Gerador (Vpp)' (2), 'Ring', and 'Senoidal'.
- Data Display Section (Middle):**
 - File Path:** 'Salvar dados completos' (C:\Users\UCSD\Desktop\matheus\teste AD08302\dados.txt).
 - Graphs:** Two graphs are shown: 'Magnitude' and 'Angulo'. Both graphs have a y-axis from 0 to 12.9 and an x-axis labeled 'Frequência (KHz)' from 69200.0 to 71000.0. Both graphs show a flat line at 0.
 - Frequency Range:** 'freq max' (0), 'freq min' (0), 'max' (0), and 'min' (0).
 - Progress:** A progress bar is at 57.9%.
 - Other Values:** 'KHz 2' (0) and 'Val laser (mm)' (0).
- Control Section (Bottom):**
 - Buttons for 'Salvar' and 'Salvar dados completos'.
 - A 'Progressor' bar showing 57.9% completion.
 - Buttons for 'KHz 2' and 'Val laser (mm)'.







Apêndice 5: Esquema eletrônico utilizado no dispositivo portátil

