

INVESTIGAÇÃO DA HIDROFOBICIDADE DE SUPERFÍCIES DE AÇO INOXIDÁVEL AISI 304 PREPARADAS POR DIFERENTES TIPOS DE PROCESSOS DE USINAGEM

Leonardo Silva Barbosa¹

Vitor Tomás Guimarães Naves²

Emiliane Andrade Araújo Naves³

Rogério Valetim Gelamo⁴

Leticia Dias dos Santos Gonçalves⁵

Bruna Laís Pereira da Silva⁶

^{1,2,3,4} Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

¹leonardo.sil.barbosa@gmail.com

²vitor.naves@uftm.edu.br

³emiliane.naves@uftm.edu.br

⁴rogerio.gelamo@uftm.edu.br

⁵leticia.goncalves@uftm.edu.br

⁶d201810447@uftm.edu.br

Resumo: O controle de biofilmes na indústria de alimentos é muito importante, uma vez que a remoção do biofilme é muito difícil de ser alcançada, devido à sua complexa estrutura da matriz de exopolissacarídeos, assim, a funcionalização de superfícies tem sido uma estratégia de revestimento para inibir a fixação e/ou multiplicação de bactérias. Neste estudo objetivou-se funcionalizar superfícies de aço inoxidável, essas superfícies tiveram um acabamento superficial obtido por dois processos de usinagem distintos, o lixamento e o polimento. Com esses dois processos pode-se obter topografias superficiais diferentes, sendo necessário para esse estudo que se analisasse a correlação entre a rugosidade obtida com os processos de usinagem e o aparecimento de microrganismos nas distintas superfícies. A funcionalização foi realizada com óxidos de zinco e nióbio e analisou-se a capacidade antimicrobiana sobre células de *Escherichia coli*. Além da adesão, investigou-se a topografia da superfície funcionalizada, por meio da análise de rugosidade, bem como calculou-se a energia livre de interação hidrofóbica por meio da medida do ângulo de contato. Os resultados obtidos mostraram que a funcionalização da superfície com óxidos metálicos, apresentou-se eficiente no controle de adesão de *Escherichia coli*, alcançando mais que duas reduções decimais na população inicial. Verificou-se que a deposição dos óxidos, por pulverização catódica, modificou a hidrofobicidade da superfície de aço inox tornando-a hidrofílica, o que pode ter somado ao efeito da funcionalização, para a eficiência antimicrobiana da superfície obtida. As superfícies funcionalizadas com óxidos de zinco e nióbio possuíram as maiores rugosidades, portanto, o revestimento com óxidos metálicos pode também ser uma alternativa viável à etapa de polimento, comumente realizada, para superfícies de indústria de alimentos, viabilizando o processo. Assim, as superfícies com óxidos metálicos poderão ser uma alternativa promissora para aplicação na indústria de alimentos, visto a relação que esta apresentou com as características da rugosidade da superfície usinada das mesmas.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, biofilme, aço inoxidável, óxido de zinco e óxido de nióbio.

1. INTRODUÇÃO

À medida que a população global cresce, a demanda e consumo de alimentos está aumentando constantemente em todo o mundo (DeFlorio et al., 2021). Um dos maiores desafios contemporâneos globalmente é garantir a disponibilidade de alimentos seguros e nutritivos suficientes para uma população em crescimento (Katsigiannis et al., 2021).

A organização mundial da saúde (OMS) estima que o consumo de alimentos contaminados resulta em cerca de 600 milhões de casos de transmissão de doenças por alimentos que são responsáveis por 420.000 mortes a cada ano (OMS, 2020). Os Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) estima que a cada ano, aproximadamente, 48 milhões de pessoas contraem doenças transmitidas por alimentos, dos quais 128.000 são hospitalizados e 3.000 morrem (CDC, 2018).

Além de doenças e morte, o consumo de alimentos contaminados com patógenos também cria impactos econômicos que podem ser bastante devastadores para os consumidores, comerciantes de alimentos e empresas de alimentos (Bintsis, 2017). Bactérias patogênicas, vírus e protozoários podem ser introduzidos nos alimentos durante várias etapas de sua obtenção: produção primária, por exemplo, na fazenda onde as plantas são cultivadas ou os animais são criados para alimentação; na colheita e abate de produtos alimentares e animais para alimentação; transporte e processamento de alimentos; armazenamento; distribuição e preparação e serviço (dentro e fora de casa) (Bintsis, 2018).

De todos esses pontos de contaminação destaca-se as superfícies de contato com alimentos, visto que essas superfícies em contato com alimentos contaminadas por patógenos e a água na qual eles estiveram em contato, como bem como aquelas contaminadas por contato com outras fontes de patógenos, foram reconhecidas como um dos fatores significativos que levam a doenças transmitidas por alimentos (DeFlorio et al., 2021).

Na indústria de alimentos, para garantir a segurança dos alimentos, uma das ferramentas de prevenção mais importantes é a aplicação eficaz de métodos de limpeza e sanitização, sendo a etapa de sanitização como destaque para a remoção de patógenos. Sabe-se que sanitizantes à base de cloro são os mais amplamente utilizados na indústria alimentícia, no entanto, o cloro livre pode reagir com matéria orgânica natural e ser convertido em cloraminas inorgânicas para gerar trihalometanos, que além de ser cancerígeno, reduz a atividade antimicrobiana contra biofilmes.

Desta forma, existe uma tendência de estudos a fim de encontrar alternativas viáveis ao uso do cloro na indústria de alimentos. Assim, a modificação das superfícies de aço inoxidável, comumente utilizadas nas indústrias de alimentos, com óxidos metálicos, a fim de torná-las menos adesivas, pode ser uma estratégia promissora para a redução do uso do cloro na etapa de sanitização. Ressalta-se que, a obtenção dessas superfícies em combinação com material biocida, como óxido de metálico ou polímeros, pode aumentar as propriedades antimicrobianas e funcionar tanto como anti-incrustante como superfícies biocidas (Mahant, Khandelwal e Deshpande, 2021). Além disso, pode contribuir com a segurança dos alimentos por meio da redução da formação de biofilmes de patógenos nas superfícies, minimizando a contaminação dos alimentos.

Por outro lado, há estudos que buscam minimizar o impacto microbiano antes mesmo da confecção do produto final na indústria alimentícia, através da utilização de diferentes processos convencionais de usinagem tais como a retificação, lapidação, brunimento, fresamento, dentre outros para resultar em superfície lisas e homogêneas e combinado ou não com o uso de dois processos não convencionais que vem crescendo muito nessa área, o lixamento e polimento das superfícies em busca de uma melhora na rugosidade do material.

Para se alcançar uma correção da superfície e consequente diminuição do biofilme e tendo como referência um menor custo para a indústria alimentícia são utilizados os polimentos mecânicos-manuais e quando se exige que o material tenha uma criticidade maior é utilizado o polimento eletrolítico (Lu et al., 2017).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi analisar a adesão microbiana em superfícies de aço inoxidável AISI 304 de diferentes rugosidades obtidas por dois processos distintos, o polimento e o lixamento da superfície, bem como analisar se há uma correlação entre a adesão microbiana e a rugosidade da superfície e por final analisar as superfícies funcionalizadas em função da adesão bacteriana.

2. METODOLOGIA

2.1. Preparo dos cupons de prova

No preparo da superfície do aço inoxidável foram utilizadas 5 amostras de aço inoxidável AISI 304 com dimensões de 50 x 90 mm e espessura de 5 mm, sendo três delas preparadas somente com o processo de lixamento e as outras duas foram lixadas e após polidas. Esses dois processos distintos foram realizados para que houvesse rugosidades superficiais diferentes entre as amostras, sendo possível através da utilização de lixas com diferentes granulometrias, tendo, por conseguinte dois tipos de topografias.

Ambos os processos foram realizados de forma manual, sempre levando em conta a experiência do operador para se alcançar um bom acabamento. O lixamento foi realizado com o uso de um moto esmeril, tendo o uso de três discos de lixas (150x50mm) com distintas granulometrias. A primeira lixa utilizada foi de grão 220, seguida por outra de grão 320 e finalizada com a de grão 600. A Figura 1 mostra a lixadeira e os diferentes tipos de lixa.



Figura 1. Lixadeira e os diferentes tipos de lixas.

Já o polimento também contou com a utilização do moto esmeril, porém em vez de utilizar as lixas anteriormente utilizadas, foi utilizado um pano ventilado (Fig. 3) para efetuar o polimento e para auxiliar no contato entre o cupom e o pano foi utilizado uma massa própria para polir – Nicrotex.



Figura 2. Pano ventilado utilizado (esquerda) e massa de polir (direita) utilizados no processo de polimento.

Posteriormente aos processos de polimento e lixamento as amostras foram esterilizadas com detergente neutro, enxaguadas com água destilada, secas e limpas com álcool 70 % (v/v). Após a esterificação, foram enxaguadas novamente com água destilada, secas a 60 °C e autoclavadas a 121°C/15 minutos.

2.2. Análise de rugosidade das superfícies

Com as amostras lixadas, polidas e esterilizadas foi realizado a mensuração da rugosidade superficial das cinco amostras, para essa etapa foi utilizado um rugosímetro portátil Surtronic 3+ - Taylor Hobson. Este instrumento possui agulha do apalpador de diamante com raio de ponta de 5 μm , resolução de 0,01 μm e trabalha com carga de 150 a 4300 mg. Este equipamento é pertencente ao Laboratório de Usinagem do curso de Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

O valor do Cut-off para as medições da rugosidade foi de 0,25 que corresponde aos valores médios de rugosidade superficial entre 0,02 a 0,1. Para a medição da rugosidade coletou-se cinquenta pontos de diferentes regiões distribuídas de forma ordenada na superfície da amostra e foi obtido a rugosidade média (R_a) da superfície da amostra. A Figura 3 mostra o rugosímetro utilizado e um desenho de casa uma das regiões onde foram coletas as medidas de rugosidade nas amostras de aço inoxidável.

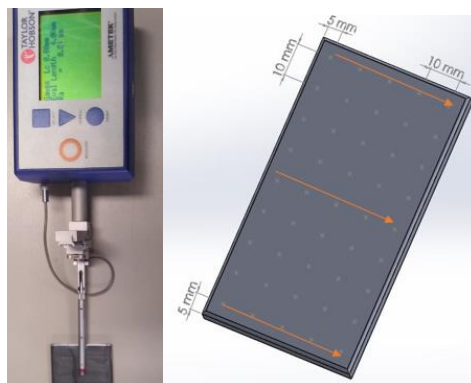


Figura 3. Rugosímetro portátil Surtronic (esquerda) e a distribuição dos pontos de medição da rugosidade (direita)

2.3. Medida da hidrofobicidade das superfícies

Os ângulos de contato das diferentes superfícies foram determinados e medidos por meio de gotas sésseis (água destilada, formamida e α bromonaphthaleno) com auxílio do equipamento goniômetro – Kruss Advance for Drop Shape Analyzers (Fig. 4). Este equipamento é pertencente ao Laboratório de Bioprocessos do Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica da UFTM.



Figura 4. Amostra posicionada no goniômetro para averiguação do ângulo de contato da gota sésil com o material.

Para a mensuração da hidrofobicidade foi utilizado a energia de interação hidrofóbica na superfície, aplicando a teoria dos componentes interfaciais (Van OSS, 1994) e após as aproximações envolvidas na teoria, tem-se a tensão na superfície (γ_1^{ToT}) através da Equação 1:

$$\gamma_1^{ToT}(1 + \cos(\theta)) = 2(\gamma_S^{LW}\gamma_1^{LW})^2 + 2(\gamma_S^-\gamma_1^+)^{\frac{1}{2}} + (\gamma_S^+\gamma_1^-) \quad (1)$$

Em que γ_1^{ToT} é a tensão superficial do líquido usado na medida, θ é o ângulo de contato medido e S e 1 indicam superfície e líquido, respectivamente, γ^{LW} representa o componente da interação de Lifshitz-van der Waals, γ^+ refere-se ao componente da interação de ácido de Lewis e γ^- é o componente da interação da base de Lewis.

2.4. Estudo da adesão microbiana nas superfícies de diferentes graus de polimento

Após a medição da hidrofobicidade as amostras são novamente esterilizadas e passam a serem submetidas ao estudo da adesão microbiana utilizando a bactéria *Escherichia coli*.

A estirpe bacteriana foi ativada duas vezes em caldo BHI. A seguir, as superfícies foram adicionadas em placas de Petri contendo o caldo BHI. EM cada placa foi acrescentado 1 ml de cultura bacteriana e incubadas à 37 °C por 24 horas. Em seguida, as superfícies foram removidas e lavadas com água peptonada (0,1%), removendo-se assim as células não aderidas. Em sequência, aplicou-se a metodologia do *swab* para a remoção das células sésseis. Após, o *swab* foi transportado para um tubo contendo água peptonada e submetido a rotação no *vortex* para a remoção das células e posteriormente contagem, nas placas de Petri, contendo o meio PCA para a análise das células aderidas às superfícies. Todo o procedimento foi realizado em duplicata, tendo o resultado obtido em Unidade Formadora de Colônia por área avaliada, UFC.cm⁻².

2.5. Funcionalização dos cupons de aço inoxidável com óxidos de zinco e nióbio

Por fim parte-se para uma última análise em que foi pego outros dois cupons que estavam somente lixados (Ra próximo de 1,0 μm) e foi realizado a funcionalização desse material, sendo um desses com óxidos de zinco e o outro com óxido de nióbio, assim sendo também se comparou as rugosidades com a adesão microbiana na superfície.

Os filmes de óxidos de zinco e de nióbio foram depositados sobre os cupons de aço inoxidável lixados por uma técnica de deposição denominada pulverização catódica (*sputtering*). Para obter filmes de alta qualidade, um alvo Ag de 2 polegadas diâmetro e pureza de 99,9%, adquirido de Kurt Lesker foi usado em uma câmara a 0,006 mTorr de pressão residual. A deposição foi realizada em Argônio (99,99%), de acordo com condições de pressão e tempo necessários.

Após a funcionalização, os cupons foram encaminhados para a análise microbiana, conforme metodologia apresentada no item 2.4. Além da análise microbiológica, os cupons foram também submetidos às medidas do ângulo de contato, e rugosidade, conforme itens 2.2 e 2.3, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para o primeiro resultado desse estudo tem-se a análise da topografia das amostras com a mensuração da rugosidade, sendo que as cinco amostras foram lixadas e logo após somente duas das cinco foram polidas para se obter uma diferenciação na rugosidade e consequentemente trazer uma superfície mais espelhada e com uma rugosidade mais baixa.

Essa primeira etapa resultou em superfícies polidas e lixadas, essa diferente é notável a olho nu como é demonstrado na Figura 5 que é dividida com a superfície polida (a) e com a superfície lixada (b).

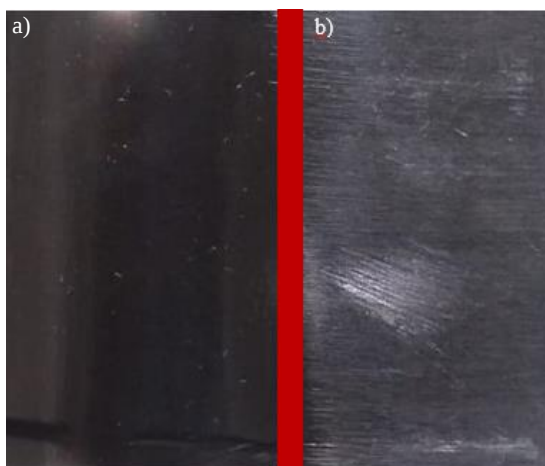


Figura 5. Amostra com os dois processos realizados, o polimento (esquerda) e o lixamento (direita).

Para o segundo resultado é demonstrado através da Tabela 1, que evidencia os ângulos de contato com as gotas sésseis e os resultados da hidrofobicidade.

Tabela 1. Valores do ângulo de contato com a água, dos componentes polar (ΔG_{sas}^{AB}) e apolar (ΔG_{sas}^{LW}) da energia livre de interação (ΔG_{sas}^{TOT})

Amostras	Ângulo de contato (°) com a água	(ΔG_{sas}^{LW}) mJ m ⁻²	(ΔG_{sas}^{AB}) mJ m ⁻²	(ΔG_{sas}^{TOT}) mJ m ⁻²
Superfície 1	63,52 ± 2,8	-3,110	-10,557	-13,667
Superfície 2	76,84 ± 11,09	-2,803	-32,726	-35,530
Superfície 3	65,90 ± 2,14	-3,023	-16,082	-19,105
Superfície 4	74,96 ± 3,45	-4,335	-75,818	-80,152
Superfície 5	74,83 ± 2,61	-1,960	-82,158	-84,118
Zinco	47,19 ± 6,92	-5,756	6,019	0,263
Nióbio	39,41 ± 2,55	-2,744	13,699	10,955

A partir dos resultados dos valores do ângulo de contato com a água, nota-se que as superfícies 2, 4 e 5 foram as consideradas mais hidrofóbicas. Esta análise é uma metodologia qualitativa. Há divergências na literatura quanto a classificação da superfície em hidrofóbica ou hidrofílica em função do valor do ângulo formado com a água. Para os autores Choi et al. (2010), a superfície é hidrofóbica quando o ângulo de contato for maior que 70°, enquanto a superfície hidrofílica possui ângulo de contato menor que 70°. Para Van Oss e Giese (1995), ângulos inferiores a 50 ° indicam superfície hidrofílica e ângulos superiores a 50 °, hidrofóbica. Já para Vogler (1998), uma superfície hidrofóbica deve apresentar ângulo de contato com a água superior a 65 °. Considerando todas essas classificações apenas as superfícies com deposição de zinco e nióbio são consideradas hidrofílicas, isso quando apenas a água foi levada em conta para determinação do ângulo de contato.

A Tabela 1 também apresenta a energia livre de interação hidrofóbica (ΔG_{sas}^{TOT}), observa-se que o maior valor obtido foi para a superfície 5, cuja energia calculada é -84,118 mJm⁻², classificando-a como a superfície mais hidrofóbica e a superfície menos hidrofóbica foi a superfície funcionalizada com zinco, apresentando ΔG_{sas}^{TOT} de 0,263 mJm⁻². Percebe-se também que a maior contribuição na energia livre é decorrente do componente polar (ΔG_{sas}^{AB}). Destaca-se ainda, que a superfície funcionalizada com nióbio, com valor de ΔG_{sas}^{TOT} de 10,955 mJm⁻², é também menos hidrofóbica que as demais superfícies (superfícies 1, 2, 3, 4 e 5) sem funcionalização de óxidos. Isso evidencia que o processo de *sputtering* dos óxidos sob as superfícies de aço inox teve a capacidade de ocasionar mudança nos valores da hidrofobicidade das superfícies de aço inox.

O terceiro resultado que o estudo trouxe foi em relação a mensuração das rugosidades em função da forma que foi tratada a superfície do aço inoxidável, sendo lixada, polida ou funcionalizada, assim sendo os resultados estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de Rugosidade média -Ra (µm) das superfícies de aço inoxidável estudadas (Autor, 2022)

Amostras	Preparo	Ra (µm)
Superfície 1	Polida	0,04
Superfície 2	Polida	0,02
Superfície 3	Lixada	0,27
Superfície 4	Lixada	0,22
Superfície 5	Lixada	0,28
Óxido de Zinco	Lixada	0,78
Óxido de Nióbio	Lixada	0,91

A Tabela 2 apresenta os valores médios de rugosidades das superfícies testadas. Percebe-se que as superfícies polidas (1 e 2) apresentam os menores valores de rugosidade, o que já era esperado, visto que a técnica proporciona uma superfície lisa e espelhada. Essa condição de superfície pode viabilizar o processo de esterificação, uma vez que reduz o risco de adesão de resíduos orgânicos sobre as superfícies.

As superfícies que receberam apenas o lixamento obtiveram maiores valores de rugosidade. As superfícies 4 e 5 com os valores de rugosidade de 0,78 e 0,91 (μm) foram as escolhidas para deposição dos óxidos de zinco, a fim de observar se esta etapa poderia ser substituída pela funcionalização com o óxido que possui efeito antimicrobiano, o que acarretaria otimização e viabilidade do processo.

Em geral, uma maior a rugosidade da superfície aumenta a área de superfície disponível para fixação bacteriana e fornece uma estrutura para adesão (Yoda et al., 2014). Embora a rugosidade da superfície seja frequentemente correlacionada positivamente com o grau de adesão bacteriana e formação de biofilme, na literatura, notou-se que maior rugosidade da superfície, em alguns casos, pode também resultar em adesão bacteriana reduzida (Wu et al., 2018; Torqueti et al, 2019; Matalon et al., 2020). Assim, o fator rugosidade não deve ser considerado isoladamente em um estudo de adesão microbiana, uma vez que existem outros fatores que vão estar associados à adesão e formação de biofilmes, como a hidrofobicidade já discutida, bem como carga elétrica e presença de apêndices celulares (Bernardes et al., 2019).

Por fim o último resultado está compreendido na avaliação das células aderidas nas superfícies, esse é o resultado que irá trazer as respostas sobre se há uma correlação entre a rugosidade do material e a adesão microbiana e se o tipo de processo utilizado para preparar a superfície também há uma relação com a adesão, ou até mesmo a junção das duas correlações anteriores juntamente uma influenciando a outra. O resultado foi apresentado pela Tabela 3 e está demonstrado a diferenciação das superfícies na Figura 6.

Tabela 3. Valores UFC.cm⁻² de Escherichia coli aderidas em diferentes superfícies de aço inoxidável 304 (Autor, 2022)

Amostras	Preparo	Log UFC.cm ⁻²
Superfície 1	Polida	6,91
Superfície 2	Polida	6,73
Superfície 3	Lixada	7,90
Superfície 4	Lixada	6,39
Superfície 5	Lixada	8,24
Óxido de Zinco	Lixada	5,50
Óxido de Nióbio	Lixada	5,39

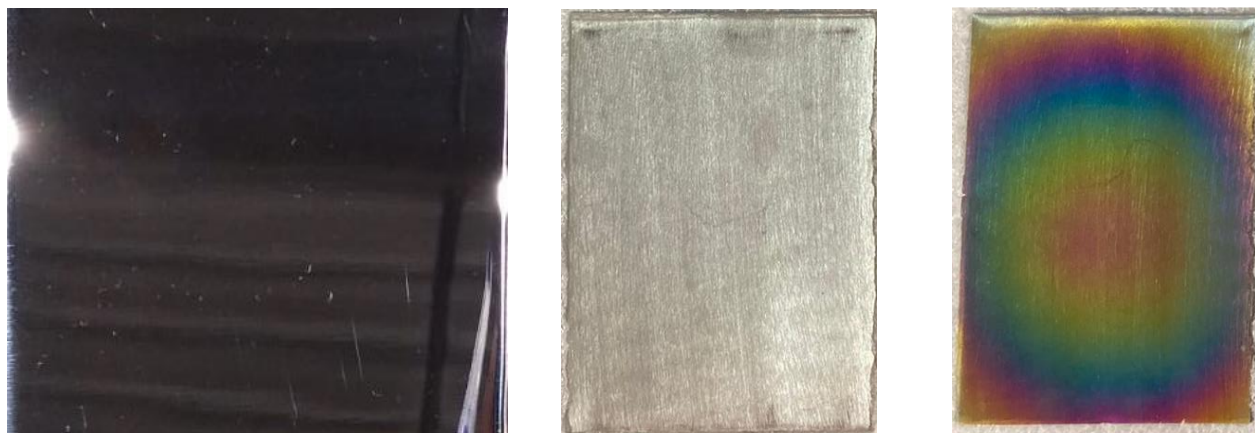


Figura 6 – Amostras dos três tipos de superfície, a esquerda tem-se a superfície polida, no centro a lixada e a direita compreende a superfície que foi atacada com óxido.

Neste presente estudo, maiores quantidades de células aderidas foram encontradas nas superfícies 3 e 5, ambas lixadas, onde se espera uma rugosidade maior em comparação as superfícies polidas. Dessas, a superfície 5, alcançou o valor de 8,24 log UFC.cm⁻² de E. coli aderidas e essa é também a superfície de maior hidrofobicidade. Schwibbert et al., 2019 também reportam essa correlação entre rugosidade e hidrofobicidade. Relataram que tratamento a laser de femtosegundo adiciona uma rugosidade em nanoescala à superfície do PE, aumentando sua hidrofobicidade. O que pode ser visto por uma mudança do ângulo de contato da água de ~65° para ~120° após o processamento a laser.

É importante observar como essas alterações nas características morfológicas das superfícies podem influenciar o processo de adesão bacteriana sobre ela.

A análise dos resultados indica que a funcionalização da superfície permitiu uma redução na adesão celular quando se compara às superfícies lixadas, uma vez que a contagem após a funcionalização dos óxidos foi de log 5,50

UFC.cm⁻² para a superfície com óxido de zinco e log 5,39 UFC.cm⁻² para o óxido de nióbio (Tabela 3). Quando se calcula a redução decimal (RD) proporcionada pelos óxidos na superfície, verifica-se que se obtém 2,68 RD para a superfície funcionalizada com óxido de nióbio quando se compara a média das superfícies lixadas e 2,57 RD para a superfície funcionalizada com óxido de zinco. Destaca-se que o cálculo da RD foi feita levando-se em conta os valores de células aderidas nas superfícies lixadas, pois as superfícies funcionalizadas também estavam previamente apenas lixadas.

De acordo com os resultados apresentados, pode-se afirmar que a mudança no valor da hidrofobicidade pode ser um bom indicativo, neste estudo, de modificação na superfície proveniente da deposição do óxido, tornando-a menos adesiva. Gomes et al (2015), também revelam em seu trabalho que a adesão bacteriana foi menor em superfícies hidrofílicas, onde observaram que materiais hidrofóbicos (ângulos de contato com a água de $115,4 \pm 0,4$, $67,0 \pm 1,7$ e $79,3 \pm 0,9$) apresentaram maior colonização bacteriana do que material hidrofílico (ângulo de contato com água de $47,0 \pm 0,4$). Por outro lado, Oh et al. (2018) observaram que a extensão da adesão de *E. coli* e *S. aureus* foi maior em substratos hidrofílicos (ângulos de contato com água $54,5 \pm 1^\circ$ e $59,3 \pm 0,7^\circ$) do que em substratos hidrofóbicos (ângulos de contato com água $92,5 \pm 0,7$, $98,6 \pm 0,8$ e $108,4 \pm 0,7$) e Pranzetti et al. (2012) relataram, para *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* e *Cobetia marina*, que a adesão bacteriana foi maior em superfícies de cloridrato de 11-aminoundecanotiol, que apresentaram um ângulo de contato com a água de $60 \pm 2^\circ$ (ou seja, hidrofílico), do que em superfícies de 1-hexadecanotiol, que apresentaram um ângulo de contato de $105 \pm 4^\circ$ (ou seja, hidrofóbico). Ou ainda, que o aumento da hidrofobicidade levou a uma diminuição da adesão, como o caso de trabalho anterior deste grupo de pesquisa de Torqueti et al. (2019) em que a superfície de aço inox funcionalizada com prata teve sua hidrofobicidade aumentada em relação a superfície controle (isenta de íons prata) e também a adesão por *E. coli* e *S.aureus* reduzidas.

Destaca-se também que material hidrofóbico muitas vezes inibem a adesão de bactérias devido à sua propriedade específica de autolimpeza (Bartlet et al., 2018) e que alguns materiais hidrofílicos ou superhidrofílicos, também exibem efeito anti-adesão devido às suas fortes camadas de hidratação induzidas eletrostaticamente que constroem uma barreira estérica à adesão (Zhang et al., 2018). O fato de não haver resultados claros sobre adesão e hidrofobicidade pode estar nos vários métodos e cepas bacterianas empregadas, e na interação geral provavelmente sendo estabelecida por várias razões (CARRASCOSA et al., 2021).

Neste estudo, a redução decimal pode ter sido um efeito sinérgico entre a alteração na hidrofobicidade da superfície e o efeito antimicrobiano dos óxidos formados que promoveram a inativação microbiana quando as células microbianas foram depositadas sobre elas.

Ao contrário do uso de agentes antimicrobianos tradicionais, é improvável que as características destas superfícies funcionalizadas com óxidos contribuam para a formação de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos. Isto é porque os mecanismos de inativação bacteriana não envolvem atacar alvos específicos dentro da célula bacteriana. (Kaur e Liu, 2016). Além disso, a morte por contato, em teoria, pode funcionar por um tempo relativamente mais longo, assumindo que a superfície pode ser reativada depois que os micro-organismos mortos são removidos (Siedenbiedel e Tiller, 2012).

Já os autores Dwivedi et al. (2014) tem sido sugerido que o mecanismo da atividade antibacteriana de ZnO-NPs é baseado em sua capacidade de induzir estresse oxidativo. Os íons Zn²⁺ liberados interagem com o grupo tiol das enzimas respiratórias bacterianas, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e causando estresse oxidativo na célula bacteriana. Este estresse oxidativo danifica as membranas bacterianas, DNA e mitocôndrias, resultando na morte da bactéria (Mishra et al, 2017; Kumar et al., 2017).

Estudos recentes demonstraram que os NPs de ZnO são eficientes no combate a bactérias multirresistentes (Tiwari et al., 2018) e na prevenção da formação de biofilme (Alves et al., 2017). Outros estudaram a aplicação de ZnO em filmes recobrimos diversas superfícies e seu efeito antimicrobiano. Como em trabalho de Mizielińska et al. (2018) onde filmes de PLA (ácido polilático) com nanopartículas de ZnO incorporadas obtiveram redução de 1,7 ciclos log no número de *S.aureus* e Fontecha-Umañ et al. (2020) em que superfícies de poliéster revestidas com ZnO tiveram reduções de até 1,19 ciclos log para *S. aureus* e 2,07 para *E. coli*.

Pelos resultados expostos pode-se afirmar que a técnica de deposição de óxidos de zinco e de nióbio por pulverização catódica é promissora para ser utilizada em superfícies de processamento de alimentos por promover a redução da adesão bacteriana, visto que as superfícies modificadas com óxidos foram as que apresentaram menores valores de células aderidas comparadas as todas as outras superfícies com diferentes polimentos e sem modificação. Além disso, mostra-se também como uma alternativa economicamente favorável as indústrias de alimentos uma vez que é conhecido o alto custo de polimento da superfície de aço inoxidável. É importante mencionar que são escassos na literatura, trabalhos semelhantes utilizando o nióbio, reforçando-se ainda mais a contribuição deste trabalho.

4. CONCLUSÃO

As superfícies avaliadas apresentaram diferenças nos valores de hidrofobicidade e número de células aderidas. Neste estudo, o número de células aderidas de *E.coli* foi influenciado pela característica da superfície. Os resultados obtidos mostram que o polimento oferecido à superfície de aço inoxidável é um tratamento importante para auxiliar no controle de adesão microbiana, bem como a funcionalização da superfície com óxidos metálicos, a qual apresentou mais eficiente

que o polimento. A indústria de alimentos deve-se preocupar com a topografia da superfície, uma vez que precisa oferecer ao consumidor produtos de qualidade microbiológica que não ofereçam riscos à saúde.

5. AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos vão para as empresas parceiras que participaram com o estudo fornecendo os processos de lixamento e polimentos das amostras. Sendo o processo de lixamento, as amostras foram devidamente preparadas em uma empresa parceira a esta pesquisa localizada na cidade de Batatais, no estado de São Paulo, onde se produz equipamentos destinados à indústria alimentícia, especificamente tanques resfriadores de leite. Já o processo de polimento foi realizado em outra empresa, já na cidade de Uberaba, no estado de Minas Gerais, onde também se produz equipamentos voltados para a indústria alimentícia, porém não somente nessa área, tendo a fabricação de equipamentos destinados a indústria química e farmacêutica.

6. REFERÊNCIAS

- Alves MM, Bouchami O, Tavares A, et al. New insights into antibiofilm effect of a nanosized ZnO coating against the pathogenic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(34):28157–28167. doi:10.1021/acsami.7b02320
- Bartlet, K., Movafaghi, S., Dasi, LP, Kota, AK, & Popat, KC (2018). Atividade antibacteriana em matrizes de nanotubos de titânia superhidrofóbicas. *Colóides e Superfícies B: Biointerfaces*, 166, 179-186.
- Bernardes, P.C.; Araújo, E. A.; Rosario, D. K. A. Formação de Biofilmes Microbianos. In: Jackline Freitas Brilhante e de Monise Viana Abranches. (Org.). *Microbiologia e Higiene de Alimentos - Teoria e Prática*. 1ed.: Rubio Editora, 2019, v. 1, p. 167-174.
- C. J. Choi, Z. Xu, H.-Y. Wu, G. L. Liu, and B. T. Cunningham, "Surface-enhanced Raman nanodomains," *Nanotechnology*, vol. 21, no. 41, Article ID 415301, 2010.
- Fontecha-Umaña, F., Ríos-Castillo, A. G., Ripolles-Avila, C., & Rodríguez-Jerez, J. J. (2020). Antimicrobial activity and prevention of bacterial biofilm formation of silver and zinc oxide nanoparticle-containing polyester surfaces at various concentrations for use. *Foods*, 9(4), 442.
- Kaur, R.; Liu, S. Antibacterial Surface Design Contact Kill. *Prog. Surf. Sci.* 2016, 91 (3), 136–153.
- Kumar, R.; Umar, A.; Kumar, G.; Nalwa, H.S. Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review. *Ceram. Int.* 2017, 43, 3940–3961.
- J.Lu, D.Q. Wei, R. Wang, X.M. Sui, J.W. Yin, Surface polishing and modification of 3Cr2Mo mold steel by electron beam irradiation, *Vacuum* 143 (2017) 282-287.
- Mahanta, U., Khandelwal, M., & Deshpande, A. S. (2021). Antimicrobial surfaces: a review of synthetic approaches, applicability and outlook. *Journal of Materials Science*, 1-27.
- Matalon, S., Safadi, D., Meirowitz, A., and Ormianer, Z. (2020). The effect of aging on the roughness and bacterial adhesion of lithium Disilicate and Zirconia ceramics. *J. Prosthodont.* (in press).
- Mishra, P.K.; Mishra, H.; Ekielski, A.; Talegaonkar, S.; Vaidya, B. Zinc oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for biomedical applications. *Drug Discov. Today* 2017, 22, 1825–1834.
- Mizielińska, M., Kowalska, U., Jarosz, M., Sumińska, P., Landercy, N., & Duquesne, E. (2018). O efeito do envelhecimento UV nas propriedades antimicrobianas e mecânicas de filmes de PLA com nanopartículas de óxido de zinco incorporadas. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15 (4), 794.
- Oh, JK, Yegin, Y., Yang, F., Zhang, M., Li, J., Huang, S., ... & Akbulut, M. (2018). A influência da química de superfície na cinética e termodinâmica da adesão bacteriana. *Relatórios científicos*, 8 (1), 1-13.
- Pranzetti, A., Salaün, S., Mieszkien, S., Callow, ME, Callow, JA, Preece, JA, & Mendes, PM (2012). Modelo de superfícies orgânicas para sondar a cinética de adesão bacteriana marinha por ressonância de plasmon de superfície. *Materiais Funcionais Avançados*, 22 (17), 3672-3681.
- Schwibbert, K., Menzel, F., Epperlein, N., Bonse, J., & Krüger, J. (2019). Adesão bacteriana em polietileno modificado com laser de femtosegundo. *Materiais*, 12 (19), 3107.
- Siedenbiedel, F.; Tiller, J. C. Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers* 2012, 4 (1), 46–71.
- Tiwari V, Mishra N, Gadani K, Solanki PS, Shah N, Tiwari M. Mechanism of anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticle against carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2018;9:1218. doi:10.3389/fmicb.2018.01218
- Toloi Torqueti, F., Lino Freitas, G., Carneiro Ferreira, D., Valetim Gelamo, R., Dias dos Anjos Gonçalves, L., & Andrade Araújo Naves, E. (2019). Stainless steel surface functionalized with silver by cathodic sputtering. *Journal of Food Safety*, 39(5), e12668.
- Van Oss, C.J. Giese, R. F. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. *Clays and Clay Minerals*, v. 43, p. 474-477, 1995.

- Vogler, E. A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in colloid and interface science*, v. 74, p. 69-117, 1998.
- Wu, S., Altenried, S., Zogg, A., Zuber, F., Maniura-Weber, K., and Ren, Q. (2018). Role of the surface nanoscale roughness of stainless steel on bacterial adhesion and microcolony formation. *ACS Omega* 3, 6456–6464. doi: 10.1021/acsomega.8b00769
- Wu, S., Zhang, B., Liu, Y., Suo, X., & Li, H. (2018). Influência da topografia de superfície na adesão bacteriana: Uma revisão. *Biointerphases*, 13 (6), 060801.
- Yoda, I., Koseki, H., Tomita, M., Shida, T., Horiuchi, H., Sakoda, H., et al. (2014). Effect of surface roughness of biomaterials on *Staphylococcus epidermidis* adhesion. *BMC Microbiol.* 14:234. doi: 10.1186/s12866-014-0234-2
- Zhang, XH, Wu, HX, Huang, L., & Liu, CJ (2018). Do homogêneo ao heterogêneo: uma abordagem simples para preparar superfícies modificadas com escova de polímero para anti-adesão de bactérias. *Colloid and Interface Science Communications*, 23, 21-28.

5. RESPONSABILIDADE PELAS INFORMAÇÕES

Os autores são os únicos responsáveis pelas informações incluídas neste trabalho.

FUNCTIONALIZATION OF STAINLESS STEEL WITH ZINC AND NIOBIUM OXIDES FOR ANTIMICROBIAL EFFECT

Leonardo Silva Barbosa¹

Vitor Tomás Guimarães Naves²

Emiliane Andrade Araújo Naves³

Rogério Valetim Gelamo⁴

^{1,2,3,4} Federal University of Triângulo Mineiro – UFTM

¹leonardo.sil.barbosa@gmail.com

²vitor.naves@uftm.edu.br

³emiliane.naves@uftm.edu.br

⁴rogerio.....

Abstract. This study aimed to functionalize stainless steel surfaces, these surfaces had a surface finish obtained by two different machining processes, sanding and polishing. With these two processes it is possible to obtain different surface topographies, being necessary for this study to analyze the correlation between the roughness obtained with the processes and the appearance of microorganisms on the different surfaces. The functionalization was performed with zinc and niobium oxides and to analyze the antimicrobial capacity on *Escherichia coli* cells. In addition to the adhesion study, the topography of the functionalized surface was investigated, through the analysis of roughness, as well as the free energy of hydrophobic interaction was calculated through the measurement of the contact angle. The results obtained showed that surface functionalization with metallic oxides was efficient in controlling *E. coli* adhesion, achieving more than two decimal reductions (RD) in the initial population. It was found that the deposition of oxides, by cathode pulverization, modified the hydrophobicity of the stainless steel surface, making it hydrophilic, which may have added to the effect of functionalization, for the antimicrobial efficiency of the obtained surface. The surfaces functionalized with zinc and niobium oxides had the highest roughness, therefore, the coating with metallic oxides can also be a viable alternative to the polishing stage, commonly done, for surfaces of food industry, enabling the process. Thus, surfaces with metal oxides can be a promising alternative for application in the food industry, to help control microbial adhesion and the obtaining of the final product of microbiological quality.

Keywords: *Escherichia coli*, biofilm, stainless steel, zinc oxide and niobium oxide.

RESPONSIBILITY NOTICE

The authors are the only responsible for the printed material included in this paper.