

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**Microbioma do fluido de corte utilizado na indústria metal-mecânica brasileira:
composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de
microrganismos, biodegradação e impacto nas propriedades lubri-refrigerante.**

Marcília Batista de Amorim Finzi

Uberlândia - MG
Julho/2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**Microbioma do fluido de corte utilizado na indústria metal-mecânica brasileira:
composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de
microrganismos, biodegradação e impacto nas propriedades lubri-refrigerante.**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial a obtenção do título de Doutor.

Marcília Batista de Amorim Finzi

Orientador: Paulo P. Gontijo Filho

Co-orientadores: Prof^ª. Dr^ª. Rosineide Marques Ribas

Prof. Dr. Álisson Rocha Machado

Uberlândia - MG

Julho/2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F516m
2015 Finzi, Marcília Batista de Amorim, 1978-
Microbioma do fluido de corte utilizado na indústria metal-mecânica brasileira [recurso eletrônico]: composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de microrganismos, biodegradação e impacto nas propriedades lubri-refrigerante / Marcília Batista de Amorim Finzi. - 2015.

Orientador: Paulo P. Gontijo Filho.

Coorientadores: Rosineide Marques Ribas, Álisson Rocha Machado.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.3009>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Imunologia. I. Gontijo Filho, Paulo P. (Orient.). II. Ribas, Rosineide Marques, 1974-, (Coorient.). III. Machado, Álisson Rocha, 1956- (Coorient.). IV. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. IV. Título.

CDU: 612.017



Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicada

Ata da defesa de Tese de Doutorado junto ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa da Tese de Doutorado número 81 do PPIPA.

Data: 31 de julho de 2015

Discente: MARCÍLIA BATISTA DE AMORIM FINZI

Matrícula: 11113IPA004

Título do Trabalho: "Bioma do Fluido de Corte utilizado na indústria metal mecânica Brasileira composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de microrganismos, biodegradação e a qualidade do produto fabricado"

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Às 8 horas do dia 31 de julho do ano de 2015 no Anfiteatro do Bloco 5 O - A - Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, assim composta: Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan Huenuman – USP/SP, Prof. Dr. Anderson Clayton Alves de Melo – UFRN, Prof. Dr. Wisley Falco Sales – FEMEC/UFU, Dra. Cristiane Silveira de Brito – ICBIM/UFU e Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho – ICBIM/UFU, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da banca Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho apresentou a comissão examinadora e o(a) candidato(a). Agradeceu a presença do público e concedeu ao(à) discente a palavra para exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

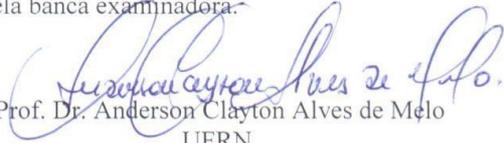
A seguir o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

Em face do resultado obtido, a banca examinadora considerou o(a) candidato(a) aprovado(a).

Esta defesa de tese é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de doutor(a). O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação e regulamentação interna da UFU, e Conselho de Pós-graduação e Pesquisa desta Universidade.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 12 horas e 30 minutos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela banca examinadora.


Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan Huenuman
USP/SP


Prof. Dr. Anderson Clayton Alves de Melo
UFRN


Prof. Dr. Wisley Falco Sales
FEMEC/UFU


Dra. Cristiane Silveira de Brito
ICBIM/UFU


Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho – orientador
ICBIM/UFU

www.imunoparasito.ufu.br - E-mail: cojpa@ufu.br - Telefax: (034) 3225-8672
Av. Amazonas, s/n - Bloco 4C, Sala 4C218 - Campus Umuarama
Uberlândia, MG, Brasil - CEP: 38.405-320

Este trabalho é dedicado ao pequeno Lucca, cujas descobertas futuras da vida, do mundo e para o mundo, possam deixar sua vida, a dos que o cercam e a daqueles que jamais irá conhecer mais deleitosa.

“Se vi mais longe foi por estar apoiado sobre ombros de gigantes”

ISAAC NEWTON

AGRADECIMENTOS

Existem certas prioridades na vida das quais não podemos e não devemos fugir. Nossa origem, percurso e fim, em trajetória geometricamente tortuosa, é resultado da vontade Dele, e a Ele, agradeço por cada segundo de significado, de cor e de amor recebido. Sob a sua luz, caminho protegida. Obrigada!

Permitir minha vinda a este mundo e a esta vida foi o maior presente que poderia receber, mas não se contentaram apenas com isso. Me ensinaram como seguir em frente, deixando as pedras do caminho para trás. Me deram tranquilidade para crescer com elas. Seus não e os seus sim me moldaram e não teria sentido alcançar os sonhos que imaginei, sem lhes prestar meus agradecimentos, por tê-los deixado emergir. Aos meus amados pais Valdemar e Joana meu MUITO OBRIGADO!

Minhas doces irmãs Geórgia e Débora, com vocês me sinto acolhida e amada. Tenho sorte de tê-las por perto ou ao longe, compartilhando esta minha vida que ganha ainda mais sentido em nosso laço de amor e cumplicidade. Obrigada por acreditarem!

Meu amado esposo Roberto, me lembro que tudo começou pelo seu incentivo e hoje posso agradecê-lo por mais esta conquista, antes mesmo de concluir a faculdade já pensava em seguir os seus passos, tamanha era e é minha admiração por sua linda trajetória acadêmica. Obrigada pelo apoio de todas as horas, felizes ou tristes, e pelo imenso suporte sem o qual essa “batalha” jamais seria vencida.

Ao meu amado filho Lucca, inesgotável fonte de inspiração, em qualquer ocasião, mas principalmente naquelas em que eu possa ultrapassar os meus próprios limites. Por você terei o maior prazer de tentar tornar o impossível possível.

Aos meus demais familiares agradeço todo o carinho recebido e declaro meu orgulho em compartilhar as mesmas origem, valores e sentimentos. Vocês tem sido uma grande inspiração e incentivo, e por todo amor a mim dedicado, retribuo em infinitos agradecimentos.

Palavras foram ditas para orientar, instruir, investigar, corrigir, instigar, informar e até mesmo fazer rir. Ora receadas, ora reveladoras, mas na maior parte do tempo, inesquecíveis. Teria

sido muito ruim completar uma tarefa como esta sem privilegiadamente compartilhar as suas sábias palavras, Prof. Paulo Gontijo, meu querido orientador, e a quem agradeço imensamente pelo tempo, pelos esforços, pela atenção e principalmente pelo aceite de mais esse desafio, num momento divisor de águas em minha vida. Meu muito obrigada!

Aos meus co-orientadores Prof^a. Dr^a. Rosineide Marques Ribas por tornar este trabalho possível e ao Prof. Dr. Álisson Rocha Machado, por torna-lo factível. Suas contribuições foram infinitas e a minha gratidão por todo o carinho dispensado ao trabalho e a minha pessoa são de mesmo tamanho.

Ninguém anda sozinho neste caminho que escolhi seguir, e por este motivo agradeço aos professores Dr. Geraldo Melo, Prof^a. Dr^a. Denise Von Dolinger de Brito, Prof^a. Dr^a. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges, Prof^a. Dr^a. Karinne Spirandelli pela convivência e técnicos, Ricardo, Samuel, e muito especialmente as queridas Cristiane Brito, Claudete Freitas, Lícia Ludendorff, Ângela, e Cláudio Nascimento por todos os esforços dispensados na realização deste trabalho, como também pelo acolhimento e amizade.

Se chorei, sofri, ou ri, o importante é que viveram comigo o que vivi. Obrigada a todos vocês pelo compartilhamento de emoções, do sucesso ao fracasso nas bancadas do laboratório, nas disciplinas e nas salas de estudantes, pois tendo vocês ao meu lado, minhas dores com certeza foram minimizadas e minhas alegrias multiplicadas. Obrigada as queridas amigas Juliana Martins e Nayara Akegawa pela rica e valorosa convivência, e aos demais amigos e colegas de laboratório Lisandra, Bruno, Deborah, Waléria, Arthur, André Grub, André Resende, Melina, Paola, Sabrina, David, Bruna, Iara, Raquel, Ana Luiza, Daiane, Iolanda, Cely.

Aos colaboradores da UFRJ, em especial ao Prof. Dr. Rafael Silva Duarte, ao ilustríssimo técnico Marley pelos preciosos ensinamentos e gargalhadas, aos doutorandos e doutorandas que tornaram minha estadia inesquecível, e equipe do Dr. Flavio Alves Lara, na FIOCRUZ pelos treinamentos e convivência especiais.

Aos integrantes da banca pela honrosa presença e aceite: Cristiane Silveira de Brito, Wisley Falco Sales, Anderson Clayton Alves de Melo, Nilton Erbet Lincopan Huenuman, Helisângela de Almeida Silva e Dayane Otero

Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES, FAPEMIG e a Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas por viabilizarem o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço ainda a todas as pessoas envolvidas direta ou indiretamente neste trabalho, pois honoríficas foram suas contribuições.

RESUMO

Introdução: Fluidos de corte (FC) são misturas complexas de produtos químicos utilizados na indústria metal-mecânica para refrigeração e lubrificação de diferentes tipos de processos de usinagem, e o seu desempenho pode afetar diretamente a produtividade desses processos. **Objetivos:** foram: i.) determinar o bioma dominante em fluidos de corte miscíveis em água; ii.) analisar quantitativa e qualitativamente esse bioma, incluindo quanto a presença de *M. immunogenum*; iii.) determinar os parâmetros físico-químicos como pH, e outros como temperatura e concentração do fluido no decorrer da biodegradação; iv.) avaliar a influência de biocidas na contaminação dos FCs; v.) determinar o desempenho lubri-refrigerante de dois FCs contaminados artificialmente "*in vitro*", quando contaminados em 10^5 UFC/mL (fase lag de crescimento) e após biodegradação artificial "*in vitro*" (última fase de crescimento), comparados com fluidos novos/não contaminados e com ambiente seco; e, vi.) avaliar aspectos de gestão do fluido, quanto a utilização de práticas de prevenção de acidentes de trabalho/saúde dos funcionários, de agravos que resultem em absenteísmo e de higiene e limpeza. **Material e métodos:** No total, foram analisadas microbiologicamente 114 amostras de nove diferentes FCs utilizados em três indústrias metal-mecânicas brasileiras todas não automotivas. O monitoramento microbiano de bactérias e fungos foi realizado por contagem de viáveis em meios específicos. A investigação da contaminação microbiana e biodegradação dos FCs contendo (7) ou não biocida (2) foi realizada através de monitoramentos, aleatório (três indústrias) e contínuo (duas indústrias). Adicionalmente, foram selecionados dois FCs (um de base mineral, semissintético com biocida e outro de base vegetal emulsionável, sem biocida), para estudo de contaminação artificial "*in vitro*", por 70 dias, utilizando-se como inóculo, microrganismos mais prevalentes. Durante e após período de biodegradação, esses FCs foram submetidos ao ensaio de esclerometria pendular para avaliação da influência da contaminação microbiana no desempenho de suas propriedades lubri-refrigerantes. Foram coletadas informações e documentos relativos as práticas de higiene e limpeza das indústrias, assim como de agravos a saúde e absenteísmos. **Resultados:** observou-se uma contaminação microbiológica elevada nos FCs analisados, usualmente acima de 10^6 UFC/mL, com um bioma comum, constituído de bacilos Gram-negativos (75,0%), com a predominância de bactérias de metabolismo oxidativo (55,0%) do gênero *Pseudomonas*, associado com baixo risco da doença "pulmão do operador da máquina". Na maioria das situações avaliadas, quando do monitoramento aleatório, a presença de altas densidades de microrganismos nos FCs não foi afetada pela presença de biocidas, mas com a maioria contendo biocida (77,7%), bioconceito (11,1%), bioconceito mais biocida (11,1%) e apenas um sem esse preservativo (11,1%), mostrou contagens médias de viáveis de, respectivamente, de $3,7 \times 10^7$ UFC/mL, $2,0 \times 10^5$ UFC/mL, $3,6 \times 10^7$ UFC/mL e $5,8 \times 10^7$ UFC/mL. No monitoramento contínuo dos fluidos, o FC de base mineral contendo biocida, de uma das indústrias, manteve-se descontaminado por 16 meses. Os FCs biodegradados por 70 dias, em procedimento de contaminação artificial "*in vitro*" apresentaram diminuição significativa ($P < 0,05$), no desempenho lubri-refrigerante, comparados aos respectivos fluidos novos/não contaminados, em ensaio de esclerometria pendular. As práticas de higiene e limpeza do ambiente de trabalho, variaram nas três indústrias e foram aquém do ideal, com sujidade aparente, e, observando-se uma inexistência de documentos por escrito sobre estes dois aspectos. Por outro lado, os gestores relataram a não ocorrência de doença profissional e insignificância no absenteísmo de funcionários. **Conclusões:** medidas como: a utilização de FCs com biocidas mais efetivos, que sejam submetidos ao monitoramento microbiológico rotineiro, para uma resposta precoce quando da contaminação, numa indústria com boas práticas de produção, são necessárias para evitar a contaminação, multiplicação e formação de biofilme, além de garantir uma usinagem produtiva.

Palavras chave: fluido de corte, contaminação microbiológica, biodegradação, desempenho lubri-refrigerante

ABSTRACT

Introduction: Cutting fluids (CF) are complex mixtures of chemicals used in the metalworking industry for cooling and lubricating of different types of machining processes, and their performance can directly affect the productivity of these processes. **Objectives:** i.) determine the dominant biome in miscible cutting fluids in water; ii.) analyze quantitatively and qualitatively this biome, including for the presence of *M. immunogenum*; iii.) determining the physic-chemical parameters such as pH, and others such as temperature and concentration of the fluid during biodegradation; iv.) evaluate the influence of biocides in the contamination of CFs; v.) determine the lubrication and cooling performance of two CFs after artificial contamination "in vitro" in two moments of biodegradation: when it reaches 10^5 CFU / mL (lag growth phase) and after 70 days of artificial biodegradation "in vitro" (last growth phase), compared with new cutting fluids / uncontaminated and dry environment; and, vi.) to evaluate aspects of fluid management, as the use of prevention practices of accidents / health of employees, of injuries resulting in absenteeism and hygiene and cleanliness. **Methods:** In total, 114 samples were analyzed microbiologically of FCs three metal-mechanical industries located in the Brazilian Southeast (2) and South (1), all non-automotive. The microbial monitoring of bacteria and fungi was performed by viable count by specific means. The investigation of microbial contamination and degradation of CFs containing (7) or not biocide (2) was performed by monitoring, random (three industries) and continuous (two industries). Additionally, in one industry two CFs were selected for a study artificial contamination "in vitro" for a period of 70 days using as the most prevalent microorganism's inoculum when the ongoing monitoring this industry. The test pendulum rebound hammer was used to evaluate the influence of microbial contamination in the performance of the properties of FCs as well as possible effects on the quality of the machined parts. Information and documents relating hygiene practices and cleaning industries, as well as health and absenteeism grievances were collected. **Results:** there was a high microbiological contamination in CFs analyzed, usually above 10^6 CFU / mL, regardless of the investigated industry with a common microbial biome consisting of Gram-negative bacilli (75.0%), with the prevalence of bacteria oxidative metabolism (55.0%) with *Pseudomonas* sp. as main representative, associated with low risk of the disease "lung machine operator". In most situations evaluated when the random monitoring the presence of high densities of microorganisms in CFs was not affected by the presence of biocides, but most CFs containing biocide (77.7%), bioconcept (11.1%), bioconcept + biocide (11.1%) and only one without this condom (11.1%), showing mean counts of viable, respectively, 3.7×10^7 CFU / mL 2.0×10^5 CFU / mL, 3.6×10^7 CFU / mL and 5.8×10^7 CFU / mL. Similar results were also observed when the continuous monitoring of fluids, except for the mineral base containing biocide, with no contamination by 16 months of observation. The lubrication and cooling performance of two CFs, a mineral-based and vegetable-based, was determined by the energy consumed during scratching, in two moments of artificial biodegradation "in vitro" of these CF, after reaching 10^5 CFU / mL and 70 days, being significantly higher ($P < 0.05$) in the second evaluation (70 days) compared when using new / non-contaminated FC. Hygiene practices and cleanliness of the workplace were less than ideal, with apparent dirt, and varied in the three industries, observing a lack of written documents on relevant aspects to hygiene and cleanliness. On the other hand, managers reported no occurrence of occupational disease and insignificance in absenteeism of employees. **Conclusions:** measures are needed such as: the use of CFs more effective biocides, which are subject to routine microbiological monitoring for early response when the contamination in an industry with good manufacturing practices, which are necessary to avoid contamination, multiplication and biofilm formation, and ensure a productive machining.

Keywords: cutting fluid, microbiological contamination, biodegradation, lubrication and cooling performance.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

“A”	Indústria “A”
“B”	Indústria “B”
“C”	Indústria “C”
°C	Graus centígrados
μL	Microlitro (s)
BHI	<i>Brain and Heart Infusion</i>
BGN	Bacilos Gram-negativos
CGP	Cocos Gram-positivos
DO	Densidade óptica
et al.	e colaboradores
FC	Fluido de Corte
FCA	Fluido de Corte do fabricante A
FCA _M	Fluido de Corte do fabricante A de base mineral
FCB	Fluido de Corte do fabricante B
FCB _v	Fluido de Corte do fabricante B de base vegetal
FCC	Fluido de Corte do fabricante C
FCC _M	Fluido de Corte do fabricante C de base mineral
FCD	Fluido de Corte do fabricante D
FCD _M	Fluido de Corte do fabricante D de base mineral
FCD _v	Fluido de Corte do fabricante D de base vegetal
FCD _{M/v}	Fluido de Corte do fabricante D de base mista mineral e vegetal
FCE	Fluido de Corte do fabricante E
FCE _v	Fluido de Corte do fabricante E de base vegetal
FCE _{M/v}	Fluido de Corte do fabricante E de base mista mineral e vegetal
FCF	Fluido de Corte do fabricante F
FCF _M	Fluido de Corte do fabricante F de base mineral
H	Horas
ICBIM	Instituto de Ciências Biomédicas
LEPU	Laboratório de Ensino e Pesquisa em Usinagem
LTAD	Laboratório de Tribologia Atrito e Desgaste
mg	Miligrama (s)

MH	Ágar Mueller Hinton
min	Minutos
mL	Mililitro (s)
MA	Monitoramento Aleatório
MC	Monitoramento contínuo
“MOL”	“ <i>Machine Operator’s Lung</i> ”
pH	Potencial de hidrogênio
PPIPA	Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas
SD	Desvio Padrão
POM	Pulmão do Operador da Máquina
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro
UFU	Universidade Federal de Uberlândia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fatores associados ao desempenho em usinagem.....	20
Figura 2. Figura 2. Fluxograma contendo as etapas realizadas para determinar o impacto da contaminação microbiológica dos FC nas indústrias brasileiras bem como comportamento do desempenho lubri-refrigerante após contaminação microbiológica “ <i>in vitro</i> ” por sete e setenta dias.....	33
Figura 3. Centrífuga utilizada no preparo do inóculo para contaminação dos FCs	38
Figura 4. Sistema “sanduiche” montado no microscópio ferramenteiro para visualização das gotículas de fluido em água.....	40
Figura 5. Processos de usinagem, materiais usinados e médias de contagens de viáveis nos nove diferentes fluidos de corte investigados.....	45
Figura 6. Caracterização do bioma encontrado nos dois Fluidos de Corte analisados da indústria “A”, quando do monitoramento contínuo. Em 6a observa-se o FC do fabricante A (FCA) e em 6b o fluido de corte do fabricante C (FCC)	51
Figura 7. A média de contagens obtidas no monitoramento contínuo realizado na indústria “B” é mostrada nas figuras 7a e 7b. As setas sinalizam os momentos de recarga completa do reservatório.....	52
Figura 8. Bioma predominante em cada indústria investigada. Os microrganismos recuperados nas indústrias “A”, “B” e “C”, são mostrados na figura 1a, 1b, e 1c. O total de microrganismos recuperados nas três indústrias é mostrado na figura 1d.....	54
Figura 9. Curva de crescimento microbiano e pH dos FCs submetidos a contaminação artificial “ <i>in vitro</i> ”.	55

Figura 10. Energia consumida e massa perdida nos ensaios de esclerometria pendular do alumínio comercial puro, com profundidade de riscamento de 120 μm (Corpos de prova com dimensões de 9 x 9 x 50 mm^3), nas condições ambientais: seco e úmido.....56

Figura 11. FCs antes e após contaminação artificial “*in vitro*”. O tamanho das gotículas de fluido de corte em água é mostrado nas figuras 11a e 11c (emulsão base vegetal - fabricante E) e 11b e 11d (semissintético de base mineral - fabricante F).....57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Vantagens e desvantagens dos FCs integrais e miscíveis em água.....	21
Tabela 2. Princípio de ação de biocidas não-oxidantes mais comumente utilizados em sistemas que utilizam fluido de corte.....	24
Tabela 3. Caracterização de FCs coletados nas três indústrias, em conformidade com o processo de usinagem, tipo de monitoramento, materiais usinados e suas características físico-químicas.....	35
Tabela 4. Características e médias de contagens de microrganismos (bactérias e fungos) nos nove diferentes fluidos de corte, monitorados aleatoriamente, utilizados nas três indústrias investigadas.....	44
Tabela 5. Contagens médias de microrganismos, em UFC/mL, nos fluidos de corte com e sem biocida/bioconceito, no monitoramento aleatório realizado nas indústrias “A”, “B” e “C”.....	46
Tabela 6. Contagens medias de microrganismos em dois fluidos de corte submetidos ao monitoramento contínuo na indústria “A”.....	48
Tabela 7. Contagens medias de microrganismos em dois Fluidos de Corte submetidos ao monitoramento contínuo na indústria “B”.....	49
Tabela 8. Evolução da contaminação microbiológica de quatro fluidos de corte e superfícies das máquinas operatrizes que os utilizam, quando do monitoramento contínuo, nas indústrias “A” e “B”.....	50
Tabela 9. Microrganismos recuperados em cada uma das indústrias.....	54

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	viii
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE TABELAS	xvii
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. Monitoramento aleatório microbiológico e de fatores físico-químicos.....	34
3.1.1. <i>Indústrias</i>	34
3.1.2. <i>Fluidos de corte</i>	34
3.1.3. <i>Técnicas microbiológicas:</i>	36
3.2. Monitoramento contínuo de FCs utilizados nas indústrias “A” e “B”	36
3.2.1. <i>Máquinas operatrizes e FCs</i>	36
3.3. Contaminação artificial “ <i>in vitro</i> ” de FCs utilizados na indústria “B”	37
3.3.1. <i>Fluidos de Corte</i>	37
3.3.2. <i>Microrganismos contaminantes</i>	37
3.3.3. <i>Técnica microbiológica</i>	37
3.4. Teste de Esclerometria Pendular	39
3.5. Análise microscópica dos FCs.....	39
3.6. Características físico-químicas, ambientais e de gestão.....	40
3.7. Análise estatística.....	40
4. RESULTADOS	41
4.1. Monitoramento aleatório dos FCs nas indústrias “A”, “B” e “C”	42
4.2. Monitoramento contínuo dos FCs	47
4.3. Análise qualitativa dos microrganismos recuperados durante o monitoramento aleatório e contínuo dos FCs.....	53
4.4. Contaminação artificial “ <i>in vitro</i> ” de dois FCs.....	55
4.5. Desempenho lubri-refrigerante.....	55
4.5. Saúde do operador.....	57
5. DISCUSSÃO	58
6. CONCLUSÕES	67
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
APÊNDICE 1	88

Bioma do fluido de corte utilizado na indústria metal-mecânica Brasileira: composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de microrganismos, biodegradação e desempenho lubri-refrigerante.

1. INTRODUÇÃO

O termo “fluido de corte” (FC) do inglês “*metalworking fluid*” (MWF) corresponde a misturas complexas de produtos químicos, utilizados na indústria metal-mecânica e metalúrgica, para refrigeração e lubrificação de diferentes tipos de processos de usinagem, tais como: torneamento, fresamento, retificação, rosqueamento, furação dentre outros (ROSSMOORE, 1995; CHANG et al. 2004; CHENG; PHIPPS; ALKHADDAR, 2005; GILBERT; VEILLETTE; DUCHAINE, 2010; SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2011). Os FCs ainda são amplamente utilizados e desempenham um papel significativo nesses processos, apesar de algumas dessas operações serem realizadas em ambiente seco (ausência de fluido de corte), (MACHADO et al., 2011; KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013).

Esses fluidos, afetam diretamente a produtividade das operações de usinagem, pois interferem tanto na vida útil da ferramenta de corte, devido a sua capacidade de aumentar o tempo de uso, quanto na qualidade da peça de trabalho, melhorando o acabamento final. Suas propriedades não só reduzem a temperatura na interface ferramenta de corte/peça usinada/cavaco, como previnem que o sistema sofra corrosão, tornando seu uso um requisito vital (VAN DER GAST et al. 2003; VAN DER GAST; THOMPSON, 2004; CETIN et al., 2011; MACHADO et al., 2011; LUCCHESI; EGUCHI; MORAES, 2012; KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013).

Em geral, a sua utilização não só melhora o desempenho do processo de usinagem, como também deve obedecer a uma série de exigências em sua formulação e manipulação durante o uso. Sua formulação deve melhorar a produtividade, sem elevar os custos, além de estar livre de componentes inflamáveis e tóxicos ao operador e ao meio ambiente. Em relação a gestão, deve aumentar a competitividade da indústria através da fabricação de produtos de melhor qualidade, respeitando também a legislação ambiental (IOWA, 1996; KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013).

A importância do FC somada a de outros itens associados aos processos de usinagem é fundamental para a qualidade do produto final, com destaque para os fatores relacionados na figura 1 (adaptado de KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013), que devem ser levados em

consideração para se obter o melhor desempenho em usinagem.

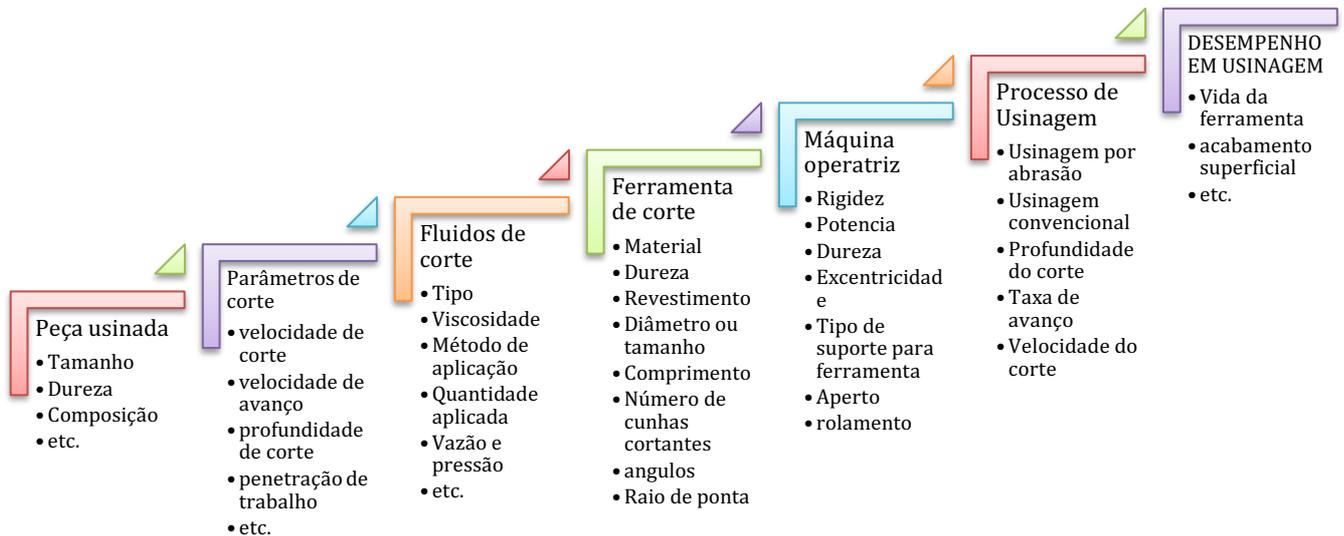


Figura 1. Fatores associados ao desempenho em usinagem (adaptado de KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013)

Há quatro classes de FCs: (1) óleo integral, (2) óleo solúvel em água, (3) óleo semissintético, e (4) o óleo sintético (ROBERTSON; WEIR; SHERWOOD BURGE, 1988; NIOSH 2001; GAUTHIER 2003; MACHADO et al., 2011; KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013). As formulações de base mineral geralmente incluem: petróleo (1 a 5%), sulfonatos de petróleo (0,1 a 0,5%), e ácidos graxos livres (< 0,1%), principalmente ácidos linoleico e oleico, que são fontes primárias de carbono para o crescimento microbiano (FOXALL-VANAKEN et al., 1986; CYPROWSKI et al. 2007); enquanto aquelas de base vegetal, consistem de triacilglicerídeos (triglicerídeos), que acrescentam propriedades lubrificantes a este tipo de fluido, devido a suas cadeias longas de ácidos graxos, de natureza polar, proporcionarem um filme lubrificante, que interage fortemente com superfícies metálicas, reduzindo assim o atrito e o desgaste (FOX; STACHOWIAK, 2007).

Atualmente, o uso de FC de base vegetal é mais recomendado por suas características que incluem: renovável, biodegradável, não tóxico, viscosidade adequada, e elevado ponto de fulgor (MALAQUE et al., 2003). As vantagens e desvantagens das quatro classes de FCs relacionadas, incluindo as propriedades: lubrificante, refrigerante e anticorrosiva, bem como a facilidade de contaminação por microrganismos são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Vantagens e desvantagens dos FCs integrais e miscíveis em água.

Tipo	Vantagens	Desvantagens
Integrais	Excelente lubricidade Excelente controle de corrosão	Baixa refrigeração Risco de incêndio Cria neblina ou fumaça Limitado a baixas velocidades e operações de corte pesadas
Emulsões	Boa lubricidade e Boa refrigeração	Problemas no controle de corrosão Contaminação microbiana Perda por evaporação
Semissintéticos	Boa refrigeração Bom controle de corrosão Controle da contaminação microbiana	Formação de espuma A estabilidade é afetada pela dureza da água Contamina facilmente por outros fluidos da máquina
Sintéticos	Excelente refrigeração Controle da contaminação microbiana Bom controle de corrosão Não inflamável Não forma espuma Aerossolização reduzida	Pobre em lubricidade Contamina facilmente por outros fluidos da máquina

Fonte: adaptado de KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013

Em relação ao óleo solúvel em água, uma desvantagem importante é a presença de fungos e sobretudo bactérias aquáticas, que diminuem a sua vida útil e podem representar riscos a saúde do operador (KURAM; OZCELIK; DEMIRBAS, 2013). A presença de bactérias no FC pode afetar a emulsão resultando numa menor capacidade lubri-refrigerante, além de acarretar uma diminuição no pH, intensificando a corrosão da peça e da máquina-ferramenta (HONG; BROOMER, 2000).

O regime de utilização do FC na máquina-ferramenta, de circulação contínua e prolongada, é consequência direta das pressões sofridas na linha de produção, por redução de custos. Esta grande exposição a agentes físicos, químicos e biológicos (ROSSMOORE, 1994; VAN DER GAST et al., 2001; BYERS, 2006), também o fragiliza quanto a outros contaminantes como: o cavaco e as graxas da própria máquina-ferramenta, dentre outras, bem como a sua evaporação durante uso, levando ao aumento na concentração de sais dissolvidos, que contribuem para o aumentando a dureza da água. Essas modificações sofridas ao longo do seu uso, resultam no desenvolvimento de diferentes biomas (MURAT et al., 2012), pois o torna um sistema dinâmico (FOLTZ, 2003; KOCH, 2008).

A análise microbiológica de FCs, evidencia altos níveis de contaminação, podendo variar de 10^4 a 10^{10} UFC/mL (MATTSBY-BALTZER et al., 1989; SLOYER; NOVITSKY; NUGENT, 2002; VAN DER GAST et al., 2003; SAHA; DONOFRIO, 2012). Uma grande variedade de bactérias são usualmente detectadas, tais como: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, Alcaligenes, bactérias redutoras de sulfato (BRS), e as conhecidas como

Acinetobacter habitam os FCs (MATTSBY-BALTZER et al 1989; SANDIN; MATTSBY-BALTZER; EDEBO, 1991; VIRJI et al., 2000; VAN DER GAST et al., 2003; PERKINS; ANGENENT, 2010), além de patógenos oportunistas tais como: *Legionella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Escherichia coli* (BAKALOVA et al., 2007; ELSMORE, 2003; LUCCHESI; EGUCHI; MORAES, 2012). Há pouco tempo, uma nova espécie de *Mycobacterium* (*Mycobacterium immunogenum*) foi isolada a partir de FCs e associada a uma doença pulmonar, denominada “pulmão do operador da máquina” – POM, do inglês, “MOL” – “*machine operator's lung*” (MOORE et al., 2000; WALLACE et al., 2002; RHODES et al. 2011).

Os biomas microbianos de FCs contém principalmente bacilos Gram-negativos (BGN), como referido acima, constituído principalmente por representantes do gênero *Pseudomonas* (KREISS; COX-GANSER, 1997; LONON; ABANTO; FINDLAY, 1999; DILGER; FLURI; SONNTAG, 2005; GILBERT; VEILLETTE; DUCHAINE, 2010; MURAT et al., 2012). As *Pseudomonas* comumente encontradas são: *Pseudomonas oleovorans* subsp. *oleovorans*, *Pseudomonas oleovorans* subsp. *pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, e a recentemente descrita *Pseudomonas oleovorans* (BAECKER; ROUX; AV, 1989; CHAZAL 1995; KREISS; COX-GANSER, 1997; WILSON et al., 2001; KHAN; YADAV, 2004; NARAYAN RAO; SATYANARAYANA; VENKATASUBBAIAH, 2011; SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2011). A existência de outro bioma microbiano mais rico em bacilos Gram-positivos (BGP), particularmente micobactérias e fungos filamentosos, incluindo especialmente espécies de *Fusarium*, também foi relatada na literatura (KREISS; COX-GANSER, 1997). Outra fonte de contaminação para os FCs, contribuindo com microrganismos como: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e vários *Staphylococcus* sp. e *Micrococcus* sp., é a microbiota normalmente encontrada nos operadores de máquinas-ferramentas (NIOSH, 2001).

A exposição ocupacional através da inalação de aerossóis produzidos a partir de FCs de óleos emulsionáveis, semissintéticos e sintéticos (KREISS & COX-GANSER, 1997; FALKINHAM, 2003), contaminados por microrganismos, são uma preocupação para a saúde do operador da máquina-ferramenta, pois está associada com doenças respiratórias e cutâneas (ROSSMOORE 1995; VAN DER GAST et al., 2001; AWOSIKA-OLUMO; TRANGLE; FALLON, 2003), destacando-se a asma e a pneumonite por hipersensibilidade - PH (“*hypersensitivity pneumonitis*”, HP), também conhecida como “MOL” - “*machine operator's lung*” como referido anteriormente (ROSENMAN, 2009).

A partir dos primeiros casos de pneumonite (MUILENBERG; BERGE; SWEET, 1993; BERNSTEIN et al., 1995), verificou-se que a maioria foi diagnosticada na indústria automobilística americana (HODGSON et al., 2001; BECKETT et al., 2005, GUPTA; ROSENMAN, 2006; KREISS; COX-GANSER, 1997, O'BRIEN 2003; ROBERTSON et al., 2007; ,37, TROUT et al., 2003, WEISS et al., 2002). Os primeiros “clusters” dessa doença pulmonar foram também posteriormente relatados em fábricas na Grã-Bretanha (DAWKINS et al., 2006) e na França (TILLIE-LEBLOND et al., 2011).

O “MOL” - “*machine operator's lung*” é atribuído especificamente a espécie de *M. immunogenum*, e as evidências em favor dessa etiologia vem: da presença de anticorpos precipitantes específicos (BERNSTEIN, 1995, FOX J, et al.1999, ROBERTSON et al., 2007) e/ou presença de *M. immunogenum* no ambiente de trabalho (WEISS et al., 2002; TROUT et al., 2003; BECKETT et al., 2005; GUPTA; ROSENMAN, 2006). O *M. immunogenum* é uma micobactéria de crescimento rápido, com colônias não pigmentadas e do complexo *M. chelonae-M. abscessus* (WILSON et al., 2001; GUPTA; ROSENMAN, 2006), definido com base nos testes fenotípicos de incorporação de ferro e de nitrato-redutase (SILCOX et al., 1981).

As espécies incluídas nesse complexo são mais resistentes ao cloro do que bactérias coliformes (COLLINS et al., 1984; CARSON et al., 1988), e estão presentes, juntamente com outras espécies de micobactérias (PICARDEAU et al., 1997), e BGNs na água (CARSON et al., 1988; SCHULZE-ROSBBECKE; JANNING; FISCHEDER, 1992; SAHA; DONOFRIO; BAGLEY, 2010a). Adicionalmente apresentam potencial de formação de biofilmes (SCHULZE-ROSBBECKE; JANNING; FISCHEDER, 1992) e são também mais resistentes aos desinfetantes como glutaraldeído alcalino e formaldeído, além de crescerem em água destilada (CARSON et al., 1978). Estas características aumentam a capacidade destes microrganismos de sobreviver e proliferar em sistemas de água de hospitais, que representam o reservatório/fonte de infecção da maioria dos surtos de micobacterioses hospitalares (SZABO; SARKOZI, 1980; HOFFMAN et al., 1981; BAND et al., 1982; KURITSKY et al., 1993; BERNSTEIN et al., 1995; VILLANEUVA et al., 1997).

Investigação epidemiológica realizada na França (MURAT et al., 2012), relatou biomas distintos nas indústrias automotiva e não automotiva, sugestivo de uma associação de micobactérias, com um risco maior de “MOL”, de acordo com o material usinado, estando associado ao silício, ao contrário de materiais como: cromo, níquel e ferro.

Além da natureza da indústria aspectos como: uma menor carga microbiana total, portanto, menor competição por nutrientes, e a interferência de biocidas são fatores que favorecem a proliferação de *M. immunogenum* (MURAT et al., 2012). Adicionalmente, foi

relatado que FCs sintéticos são menos contaminados que as emulsões, e essas que, quando de base vegetal, são mais contaminadas por BGP, enquanto os de base mineral por BGN (MURAT et al., 2012).

Com a finalidade de reduzir a carga microbiana nos FCs, são adicionados biocidas (BYERS, 2006) tais como: alcanol, aminas, formaldeído, e outras substâncias pertencentes a outras classes, também são frequentemente utilizadas. Entretanto, informação limitada é disponível sobre a avaliação desses biocidas (SELVARAJU et al., 2005; FALKINHAM, 2009), incluindo: as formulações mais adequadas, sua avaliação em uso, os tipos de aplicação mais indicados para cada tipo de fluido de corte disponível no mercado, são aspectos que necessitam ser melhor investigados, bem como: toxicidade para o operador, corrosão do material usinado e custos resultantes de sua adição e descarte (LUTEY, 1995; CAPELLETTI, 2006; SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2011).

Os biocidas, de acordo com Burk (1984), podem ser classificados, considerando sua constituição química, em dois grandes grupos: dos oxidantes e não oxidantes. O grupo dos oxidantes tem como representantes o ozônio, peróxido de hidrogênio, e compostos de cloro, e os não-oxidantes é representado por compostos sulfurados, estanho, isotiazolinonas, sais de cobre, aldeídos, sais quaternários de amônio, dentre outros. No caso dos FCs, a aplicação de biocidas oxidantes, é desfavorável ao sistema, pois podem acelerar o processo de corrosão a curto prazo, e desta forma, para esse segmento, biocidas não-oxidantes são mais indicados. O princípio de ação dos biocidas não-oxidantes é mostrado na tabela 2.

Tabela 2. Princípio de ação de biocidas não-oxidantes mais comumente utilizados em sistemas que utilizam fluido de corte.

Grupo	Nome comercial de ativos	Componente celular-alvo
Compostos sulfurados	Tiocianometiltiobenzotiazol (TCMTB)	Membrana (reação com enzimas e grupos S-H)
Compostos de Isotiazolinona	Clorometilisotiazolinona Metilisotiazolinona	Parede; membrana; citoplasma (coagulação de proteínas)
Aldeídos	Triazina Dimetiluréia	Parede;
Derivados halogenados	Bronopol iodopropinilbutilcarbamato (IPBC)	Parede; membrana (enzimas e grupos S-H); citoplasma (grupos tiol e amino)

Fonte: Burk (1984).

Contudo, a simples adição do biocida ao FC pode ser ineficaz em reduzir a densidade da contaminação por microrganismos, podendo até mesmo agravar a situação (CAPELLETTI, 2006). Por tanto, tão importante quanto a seleção do biocida mais adequado para cada situação, também o é, o modo de aplicação, que pode ser de forma continuada, em baixas porem efetivas

concentrações, ou em aplicações de choque, realizadas em intervalos de tempo regulares, em altas concentrações (LUTEY, 1995; CAPELLETTI, 2006). Na primeira abordagem o intuito da aplicação do biocida é de prevenção ou inibição da formação inicial do biofilme (WILLS; BOTT, 1997), já na segunda, é realizada em três situações: presença de biofilme espesso; sistema de circulação do FC com altos níveis de contaminação; e, quando as condições do sistema de circulação do FC promovem rápida recontaminação (LUTEY, 1995).

A resistência bacteriana a esses biocidas deve ser considerada, quando do controle efetivo da contaminação bacteriana (SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2011). Eles podem contribuir para seleção de bactérias resistentes destacando-se sobretudo as micobactérias (VAN DER GAST et al., 2003; WATT, 2003). Esta maior resistência desse grupo de microrganismos é atribuída a sua capacidade de formar biofilmes no interior da tubulação da máquina-ferramenta, através da adesão a superfícies e produção posterior de uma matriz polimérica extracelular (MPE), responsável pela proteção e desempenhando um importante papel na morfologia, estrutura, integridade operacional e coesão ao biofilme (FLEMMING; WINDENGER, 1999). A composição química desta matriz é heterogênea contendo proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos, bem como componentes ambientais, material orgânico e outros microrganismos (WIMPENNY; PETERS; SCOURWELD, 1993; PASMORE; COSTERTON, 2003; FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Alguns dos problemas resultantes da presença de biofilmes na indústria são: bloqueio da tubulação que o conduz, contaminação do produto e a deterioração do equipamento industrial (biocorrosão) (LUCCHESI; EGUCHI; MORAES et al. 2012). Quando a contaminação do FC é de baixa intensidade, a formação de biofilme por *Pseudomonas* pode ser retardada por 24 h, indicativo de que a aplicação de biocidas, juntamente com um sistema adequado de gestão do fluido prolonga sua vida (SAHA; DONOFRIO; BAGLEY, 2011).

Estudo realizado por Lucchesi, Eguchi e Moraes (2012), mostrou que o tipo de material utilizado na indústria teve pouca influência na formação do biofilme e na concentração de biocida utilizado para controlar a sua formação. A limpeza e a utilização do biocida têm menos impacto no consórcio bacteriano dentro dos biofilmes em comparação com as bactérias planctônicas presentes nos FCs contaminados. Devido à liberação contínua de microrganismos a partir do biofilme (MATTSBY-BALTZER et al., 1989; VEILLETTE et al., 2004), há uma concentração de microrganismos (10^7 UFC/mL), após 12 h de limpeza (VEILLETTE et al., 2004), o que torna sua aplicação crítica para controle da contaminação microbiana em FCs que possuem biofilmes (SKERLOS et al., 2001).

A origem da contaminação microbiológica dos FCs pode variar, mas destaca-se a água utilizada na sua diluição como principal fonte (DUCHAIINE et al., 2012). O FC residual nas máquinas, que permanece usualmente após a limpeza da tubulação ou nos espaços mortos, também pode levar a uma contaminação rápida após a recarga do sistema. Além da água, esses microrganismos podem ser provenientes das peças de trabalho, mãos dos funcionários e do próprio ambiente de trabalho (aerossóis de FC, poeira, máquina) (RABENSTEIN, 2009).

Há três implicações associadas a contaminação dos FCs: i.) entupimento de tubulações e filtros, resultante da biomassa microbiana aderida as paredes, com redução de sua vazão no sistema e recontaminação (MATTSBY-BALTZER et al., 1989; LUCCHESI; EGUCHI; MORAES, 2012; VEILLETTE et al., 2004); ii.) utilização dos componentes de sua formulação, bem como reação de seus produtos metabólitos com componentes da fórmula, ambas causando alterações químicas e levando a instabilidade do FC, incluindo redução no pH, entre outros, tendo como resultado, acelerado processo de biodegradação, principal responsável pelo descarte precoce do FC (van der GAST, 2001) e iii.) a presença de antígenos, endotoxinas, e dos microrganismos, representando risco potencial a saúde do operador da máquina, sobretudo para doenças cutâneas e respiratórias (CASTELLAN et al, 1987; SANDIN; ALLENMARK; EDEBO, 1990; GORDON, 1992; BRUZE et al., 1995; THORNE; DEKOSTER, 1996; KREISS; COX-GANSER, 1997; THORNE, 2000; GORDON et al., 2006; THORNE et al, 2006; ROSENMAN, 2009).

A biodegradação dos FCs ocorre tanto no óleo base quanto nos aditivos, e não ocorre como uma redução simultânea de todos os componentes, mas sucessivamente. Os compostos mais facilmente biodegradáveis serão os primeiros, o que inevitavelmente, irá afetar gravemente o desempenho das propriedades do FC, conferidas por esses aditivos, durante seu uso. A biodegradação dos aditivos de inibição da corrosão, por exemplo, resulta em redução desta proteção. Outros aditivos presentes no fluido, que conferem as propriedades lubri-refrigerante, juntamente com o óleo base, quando reduzidos pela ação de microrganismos, acarretam em aumento no desgaste de ferramentas e particularmente nos custos, devido à perda em produtividade, causada pela queda da eficiência do processo de usinagem (RAKIC; RAKIC, 2002; THEAKER, THOMPSON, 2010).

Já para o descarte de efluentes industriais, existe um interesse significativo no processo de biodegradação (van der GAST, 2001; RABENSTEIN, 2009), em decorrência de potenciais danos ao meio ambiente e dos custos resultantes cuidados com manutenção e descarte. O consumo de FC na Alemanha em 2004, foi de cerca de 30.000 toneladas, mas considerando que foi utilizada uma emulsão a 5%, resultou em 600.000 toneladas métricas. Nesse sentido, a

utilização de microrganismos naturalmente responsáveis pela biodegradação nas indústrias pode ser explorada e utilizada em sistemas de biorreatores para eliminação de resíduos de FCs (van der GAST, 2001; RABENSTEIN, 2009).

Os FCs, também podem ter seu desempenho comprometido, através de reações químicas, com os sólidos dissolvidos na água utilizada para diluição. O exemplo mais comum é o efeito de “dureza” da água, que é, essencialmente decorrente do seu conteúdo de cálcio e magnésio. Estes íons bivalentes reagem com sabões, agentes umectantes e emulsionantes, de modo a formar compostos com solubilidade limitada. A formação destes materiais insolúveis acarreta na diminuição dos inibidores da oxidação, resultando em peças e máquinas mais oxidadas. A água dura é aquela contendo carbonato de cálcio superior a 250 ppm e quanto maior for sua dureza, maior a corrosão (FOLTZ, 2003).

A questão do desempenho do FC, biodegradado ou não, se torna ainda mais complexa, quanto necessita ser avaliada nos diferentes processos de usinagem que o utilizam (LIMA, 2013; GRUB, 2013, et al., 2014;), inclusive quanto a aspectos tribológicos, também envolvidos quando da usinagem de diferentes materiais. Os FCs podem também ser avaliados em ensaios de esclerometria pendular, recomendada para os testes de cisalhamento, em que uma marca de desgaste é realizada através de riscamento da superfície, com remoção de material sob altas taxas de deformação plástica (FRANCO,1989). A energia dissipada para produzir o risco é determinada pela variação da energia potencial do pêndulo do equipamento, de maneira similar ao obtido no ensaio Charpy (CHIAVERINI, 1986).

Contudo, desde que o teste seja padronizado (FRANCO,1989), uma grande diversidade de materiais pode ser submetida a este tipo de ensaio, e a energia específica para promover o risco, em cada material, representa a resistência que cada material possui ao cisalhamento (CALLISTER, 2007). As ligas de alumínio por exemplo, quando comparadas as ligas ferrosas, apresentam boa usinabilidade, com baixas forças de corte envolvidas, excelente acabamento da superfície usinada, incluindo um bom controle dimensional e aumento da vida útil da ferramenta (WEINGAERTNER; SCHROETER, 1991; ABAL, 2007).

A avaliação da relação entre a qualidade técnica de usinagem e a carga microbiana de FCs somente recentemente tornou-se uma preocupação em trabalhos científicos (PASSMAN, 1988; BRINKSMEIER et al., 2009; RABENSTEIN et al., 2009). Na contramão da demanda por recursos e energia, dentro de uma produção eficiente, a parte que cabe a qualidade de produção, exige que o desgaste da ferramenta de corte seja mínimo durante sua vida útil, e que o FC contribua com o processo, exercendo integralmente suas propriedades lubri-refrigerante (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). Com este propósito, o seu monitoramento

contínuo, incluindo a análise da carga microbiana é imprescindível (PASSMAN, 2006). Embora a contaminação microbiana não possa ser evitada nas condições de trabalho, o seu tempo de utilização pode ser prolongado através da adoção de um bom sistema de manutenção (RABENSTEIN et al., 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Determinar o bioma e impacto da contaminação microbiana por bactérias e fungos em fluidos de corte de base vegetal e mineral, miscíveis em água nos processos de usinagem industriais.

2.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os protocolos de limpeza e desinfecção do fluido de corte e da máquina-ferramenta realizados nas indústrias considerando os microrganismos isolados.
- Realizar análises microbiológicas quantitativa e qualitativa de FCs de indústrias metal-mecânicas brasileiras, incluindo a pesquisa de *M. immunogenum*, pela estimativa da densidade populacional microbiana através de cultivo com contagem em placas.
- Avaliar os seguintes parâmetros físico-químico e outros dos FCs: pH, temperatura e concentração/Brix em função da cinética de contaminação microbiana.
- Avaliar o impacto da presença de biocidas na contaminação dos FCs.
- Determinar o desempenho lubri-refrigerante de dois FCs submetidos a biodegradação artificial “*in vitro*” por 70 dias, em dois tempos dessa biodegradação: com sete dias (fase lag de crescimento microbiano) e após 70 dias (fase de declínio de crescimento) em comparação com os FCs novos, não contaminados e com ambiente seco.
- Avaliar aspectos de monitoramento, descontaminação e utilização de medidas de prevenção de acidentes de trabalho/saúde dos funcionários, bem como agravos resultando em absenteísmo, em fluidos de corte utilizados em diversos processos de usinagem, na indústria metal-mecânica, em função da contaminação encontrada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O impacto da contaminação microbiológica em FCs utilizados em diversos processos de usinagem foi investigado em três indústrias metal-mecânicas do país, sem e com cooperação/supervisão da equipe de cuidados/gestão, segundo o fluxograma mostrado na figura 2. A coleta de amostras de FCs que foi realizada sem a cooperação da equipe gestora, ocorreu de maneira aleatória, através de duas e/ou três visitas a indústria, em diferentes momentos da vida útil dos nove FCs investigados. Já as coletas realizadas com a cooperação dos gestores, foi realizada de maneira contínua, na qual as primeiras coletas dos quatro fluidos avaliados, coincidiram com os primeiros dias de utilização dos FCs nas máquinas-ferramenta. O nível de contaminação microbiológica foi avaliado através de monitoramento aleatório nas indústrias “A”, “B” e “C” e de forma contínua, acompanhando a utilização do FC durante cerca de dois ciclos de vida, nas indústrias “A” e “B”.

Adicionalmente foi determinado o desempenho lubri-refrigerante de dois FCs utilizados na indústria “B” quando submetidos previamente e exclusivamente a contaminação artificial “*in vitro*”, feita pela adição periódica de inóculo, contendo um “*pool*” de microrganismos, incluindo bactérias e fungos provenientes de FC contaminados desta mesma indústria.

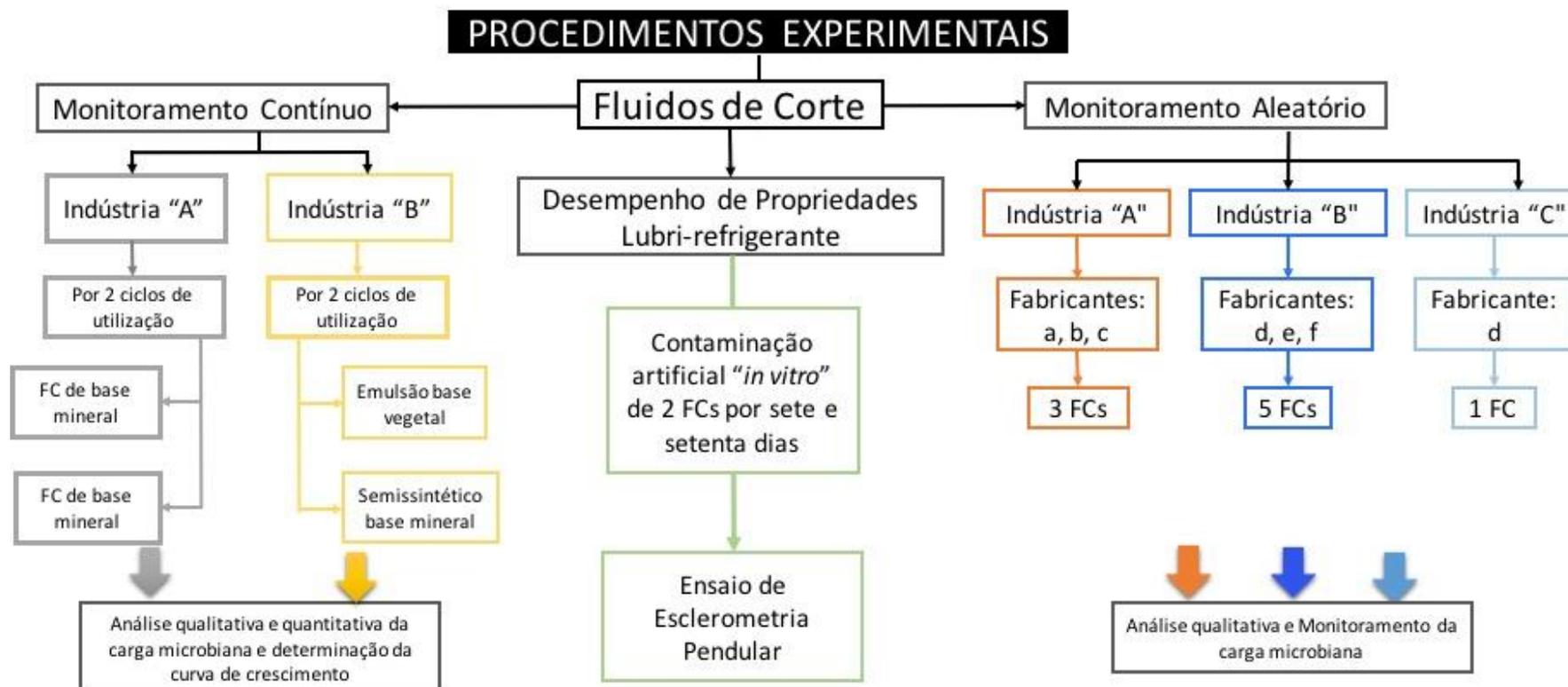


Figura 2. Fluxograma contendo as etapas realizadas para determinar o impacto da contaminação microbológica dos FC nas indústrias brasileiras bem como comportamento do desempenho lubri-refrigerante após contaminação microbológica “*in vitro*” por sete e setenta dias.

Nas indústrias “A” e “B” foram realizados monitoramentos aleatórios e contínuos e na indústria “C” apenas o monitoramento aleatório. A base dos fluidos de corte analisados foi mineral, vegetal e mista (mineral e vegetal). As análises das amostras de FCs coletadas nas indústrias foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Molecular (MICROMOL) e os testes de desempenho dos fluidos de corte contaminados foram realizados no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Usinagem (LEPU).

FC: fluido de corte. Fabricantes: a, b, c, d, e, f.

3.1. Monitoramento aleatório microbiológico e de fatores físico-químicos

3.1.1. Indústrias

O estudo foi realizado em três indústrias metal-mecânicas brasileiras (“A”, “B” e “C”), no período de setembro de 2012 a dezembro 2013. Estas indústrias rotineiramente não realizam o controle de contaminação microbiológica dos FCs. Outros aspectos acessados durante a coleta de amostras de FCs foram: o procedimento utilizado na limpeza e desinfecção de máquinas-ferramentas, os processos de usinagem realizados por cada máquina e os diferentes materiais usinados. No total foram monitoradas 24 máquinas-ferramentas, 23 delas como unidades individuais e uma unidade centralizada (Tabela 1).

3.1.2. Fluidos de corte

Os FCs analisados, classificados quanto ao fabricante e origem: i.) base mineral (3); ii.) base vegetal (4) e iii.) base mista (mineral/vegetal) (2); e quanto a natureza (emulsionável ou semissintético); estão relacionados na tabela 1, bem como as respectivas indústrias, tipo de monitoramento, número de coletas, concentração, pH e presença de biocida entre outros. Na investigação, volumes de 50 mL de nove FCs, correspondentes a seis diferentes fabricantes (a, b, c, d, e e f) foram coletados de forma aleatória em três indústrias, todos são mostrados na tabela 1. Os FCs incluídos no estudo foram provenientes de máquinas em funcionamento, recuperados em duas regiões próximas ao corte e a partir do reservatório.

TABELA 3. Caracterização de FCs coletados nas três indústrias, em conformidade com o processo de usinagem, tipo de monitoramento, materiais usinados e suas características.

Indústria	MO	Processo de usinagem/	Tipo de monitoramento microbiológico	Material usinado	Fabricante (Base)	Coletas (N=114)	Tipo/natureza	Concentração de uso (%)	pH de uso	Presença de Biocida
A	1	F/Ro/F _u	Contínuo ^a	Alumínio 6262	a – (M)	10	Semissintético	6,0	8,0 – 10,0	+
	2	T/Ro/F _u /F	Contínuo	Latão	c – (M)	16	Semissintético	3,0	7,0 – 9,5	+
	3	T/F _u /R	Aleatório ^b	Aço e Latão	c – (M)	2	Semissintético	3,0	7,0 – 9,5	+
	4	T/F _u /Ro	Aleatório	Latão E280	c – (M)	2	Semissintético	3,0	7,0 – 9,5	+
	5	T/F _u	Aleatório	Madeira	b – (V)	2	Semissintético	2,0 – 4,0	9,0 – 10,0	+
	6	F	Aleatório	Alumínio 6262	a – (M)	2	Semissintético	6,0	8,0 – 10,0	+
	7	F/Ro/F _u	Aleatório	Aço, Alumínio Madeira, Tecnell	c – (M)	2	Semissintético	3,0	7,0 – 9,5	+
	8	-	Aleatório	Alumínio 6262	a – (M)	2	Semissintético	6,0	8,0 – 10,0	+
B	1	R	Aleatório	Aços	d – (M)	3	Semissintético	5,0 – 7,0	>8,8	+
	2	R	Aleatório		d – (V)	3	Semissintético	5,0 – 7,0	>8,8	+
	3	T _d	Contínuo		19	Emulsão	8,5 – 9,0	8,6 – 9,0	-	
	4	T _d	Aleatório		3	Emulsão	8,5 – 9,0	8,6 – 9,0	-	
	5	T _d	Aleatório		3	Emulsão	8,5 – 9,0	8,6 – 9,0	-	
	6	T _d	Contínuo		f – (M)	18	Semissintético	5,0	9,0	+
	7	T _d	Aleatório		3	Semissintético	5,0	9,0	+	
	8	R	Aleatório		3	Micro emulsão	8,0 – 15,0	9,6 – 9,8	- ***	
	9	R	Aleatório		e – Mista**	3	Micro emulsão	8,0 – 15,0	9,6 – 9,8	- ***
	10	R	Aleatório		3	Micro emulsão	8,0 – 15,0	9,6 – 9,8	- ***	
C	1*	-	Aleatório	Ferro fundido nodular	d – Mista**	2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***
	2	-	Aleatório	Ferro fundido nodular		2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***
	3	-	Aleatório	Ferro fundido Vermicular		2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***
	4	-	Aleatório	Ferro fundido Vermicular		2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***
	5	-	Aleatório	Ferro fundido nodular		2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***
	6	-	Aleatório	Ferro fundido nodular		2	Micro emulsão	5,0 – 15,0	10,0	+ ***

(-) Dados não recuperados da indústria, MO: Máquina Operatriz, F: Fresamento, R_o: Rosqueamento; T: Torneamento; F_u: Furação, T_d: Torneamento (descascadeira); R_c: Retificação. (M), FC de base mineral; (V), FC de base vegetal

*Máquina-operatriz centralizada, as demais 23 máquinas-operatrizes são individuais; **Fluido de Corte contendo óleo mineral e vegetal. ***Presença de bioconceito microbiano.

^aMonitoramento contínuo realizado do início ao fim do ciclo de vida útil do fluido de corte. ^bMonitoramento aleatório realizado em dois e/ou três momentos da vida útil do fluido de corte.. Fabricantes: A, B, C, D, E e F.

3.1.3. Técnicas microbiológicas:

3.1.3.1. Cultivo e identificação microbiana

O cultivo primário dos fluidos foi realizado pela técnica de plaqueamento de volumes de 100 µL de FC previamente homogeneizado, utilizando-se “*swab*” estéril, e 4 meios de cultura: Ágar Müeller-Hinton (BD Difco) para recuperação de microrganismos da família Enterobacteriaceae e outras bactérias, com incubação a 37 °C por 5 dias; Ágar Sabourraud (BD Difco) suplementado com 50 mg/L de cloranfenicol (Sigma-Aldrich Chimie, Lyon, France) para fungos leveduriformes e filamentosos com incubação por 14 dias a temperatura ambiente; Agar Middlebrook 7H10 suplementado com a mistura catalase-dextrose-albumina ácido oléico (BD Difco) e Lowenstein Jensen (BD Difco) para crescimento de micobactérias de crescimento rápido, com incubação a 37 °C por 7 dias. Foram realizadas diluições seriadas, 10^{-3} a 10^{-7} do inóculo quando o crescimento em placas de Ágar Müeller-Hinton foi inotável, para aumentar a possibilidade de detecção de micobactérias assim como a descontaminação com a solução hidróxido de sódio (4%), verde de malaquita e ciclo-heximida, de acordo com o método de Wolinsky e Rynearson (1968). Inicialmente, as colônias de bactérias e fungos foram caracterizadas quanto as propriedades morfo-tintoriais após a realização de esfregaços corados pelas técnicas de Gram e Ziehl-Neelsen e posteriormente as bactérias foram identificados nos respectivos gênero/espécie através de técnicas fenotípicas utilizando os sistemas: Bactray I, II e III, (Laborclin) destinado à identificação bioquímica de BGN com oxidase negativa ou positiva, fermentadores ou não da glicose ou não fastidiosos, e kit para não fermentadores (Probac do Brasil), para bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose, bem como testes adicionais quando necessário (HOLT, 1994; de HOOG, 2000). Os fungos foram identificados se filamentosos ou leveduriformes através das características morfológicas, utilizando-se a coloração de azul de algodão. A fim de facilitar a comparação entre os dados dos resultados das culturas para o monitoramento aleatório e contínuo, as contagens foram transformadas em log₁₀.

3.2. Monitoramento contínuo de FCs utilizados nas indústrias “A” e “B”

3.2.1. Máquinas operatrizes e FCs

A contaminação microbiológica de quatro FCs utilizados em quatro máquinas operatrizes (duas instaladas na indústria “A” e duas instaladas na indústria “B”), foi executado no período de Abril de 2011 a Outubro de 2012 (indústria “A”) e Março de 2012 a Dezembro

de 2013 (indústria “B”). Adicionalmente aos procedimentos referidos nos itens 3.1.3.1, foram monitorados: as superfícies das máquinas-operatrizes, utilizando-se “swabs” estéreis em três ou mais regiões distintas da máquina-ferramenta e a água utilizada para diluição dos FCs. Foram investigados dois FCs semissintéticos de base mineral na indústria “A” correspondentes a dois fabricantes: A (FC_{AM}) e C (FC_{CM}). Na indústria “B” foram incluídos 2 FCs dos fabricantes: E de base vegetal, emulsionável (FCE), e F de base mineral, semissintético (FCF). O procedimento de limpeza rotineiro só não foi realizado antes da coleta de amostra do FCC, pois o mesmo já havia sido recarregado na máquina há alguns dias antes do início do estudo nesta indústria.

3.3. Contaminação artificial “*in vitro*” de FCs utilizados na indústria “B”

3.3.1. Fluidos de Corte

Para a contaminação artificial “*in vitro*” foram utilizados os FCs dos fabricantes E (FCE_V) e F (FCF_M), na concentração/Brix de 8%. As diluições foram feitas em água destilada estéril e avaliadas por refractômetro digital (modelo PDR50B com taxa de medição de 0 a 50% BRIX e precisão de $\pm 0,1\%$ BRIX). Nenhum outro contaminante, excetuando-se o cavaco, devido ao protocolo adotado de contaminação, foi adicionado aos FCs, de forma que apenas os microrganismos fossem responsáveis pela sua degradação (biodegradação)

3.3.2. Microrganismos contaminantes

Os seguintes microrganismos mais frequentemente recuperados de cada um dos dois FCs, quando do monitoramento contínuo na indústria “B”, foram utilizados na contaminação artificial “*in vitro*”: *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiela oxytoca*, *Aeromonas* spp., *Brevundimonas diminuta*, *Citrobacter freundii* e fungos leveduriformes. Eles foram cultivados em caldo BHI (Himédia) acrescido de 15% de glicerol e estocadas a temperatura de -20 °C. A reativação das suspensões de cada amostra, foi feita em 200 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) por 72 hs, totalizando 1 litro de inóculo/dia. Essa suspensão foi preparada para contaminação de 80 L de FC, correspondente a capacidade em litros do reservatório da máquina-operatriz que o recebeu.

3.3.3. Técnica microbiológica

A contaminação foi realizada no laboratório de microbiologia de acordo com a norma ASTM E2275 (2013), com modificações. As diversas suspensões microbianas (200 mL) foram centrifugadas a 10.000 rpm, a temperatura de 4 °C por 10 minutos (Figura 3), no laboratório de Parasitologia. Os “*pellets*” resultantes foram lavados 2 vezes com solução salina e ressuspendidos em solução isotônica (20 mL), numa concentração de $2,0 \times 10^{24}$ Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL), e transportados para o Laboratório de Ensino e Pesquisa em Usinagem (LEPU) sob refrigeração em tubo falcon de 50 mL até o reservatório da máquina-ferramenta “CNC” (“*central numeric command*”, modelo Multiplic 35D PAIS) com capacidade de 80 litros. Os FCs foram mantidos em repouso por dois dias para cada cinco dias de circulação contínua na máquina-ferramenta.



Figura 3. Centrifuga utilizada no preparo do inóculo para contaminação dos FCs

Os FCs utilizados na contaminação artificial “*in vitro*” foram monitorados durante todo o experimento, quanto as seguintes características: formação de anel oleoso na superfície do reservatório, coalescência (separação de fases óleo e água), produção de produtos químicos orgânicos voláteis malcheirosos, viscosidade, cor e pH (PASSMAN, 1988; MANG; FREILER; HÖRN, 2007; KOCH, 2008). Adicionalmente, volumes de 100 μ L dos FCs diluídos (10^{-3} a 10^{-7}) foram analisados microbiologicamente, qualitativa e quantitativamente, a cada 48 H, antes de receber novo inóculo, através de subcultivo nos seguintes meios: Mueller-Hinton e Sabouraud, as temperaturas de 37 °C e ambiente, respectivamente, para quantificação de bactérias e fungos.

3.4. Teste de Esclerometria Pendular

A determinação do desempenho dos FCs submetidos a biodegradação, foi realizada utilizando-se penetradores piramidais truncados que atingiram uma velocidade de riscamento de 4,1 m/s (246 m/min) (FRANCO, 1989). Os corpos de prova para os testes foram de alumínio puro comercial em formato de paralelepípedos (9x9x50mm³) e suas superfícies foram retificadas e polidas em lapidadora, inicialmente com abrasivos SiC 80 mesh, e em seguida 600 mesh, e posteriormente com pasta de diamante de 3 µm.

Foram testadas duas condições ambientais: ausência (ambiente seco) e presença de FC, utilizando-se: FCE_V e FCF_M, ambos em 2 momentos de biodegradação: i.) quando foi possível recuperar 10⁵ UFC/mL do “pool” de microrganismos inoculados como descrito no item 3.3.2., ainda na fase lag de crescimento e ii.) após 70 dias (fase final da curva de crescimento). O teste foi também realizado com FC não contaminado (controle).

A profundidade de riscamento foi de 120 µm do movimento pendular, para garantir a remoção de massa do material testado, considerando a massa do pêndulo e a energia disponível. A taxa de material removido foi analisada através da pesagem dos corpos de prova antes e depois do ensaio (diferencial de massa perdida) e o consumo de energia necessário para a produção de cada risco foi registrado pelo equipamento.

3.5. Análise microscópica dos FCs

Para analisar as gotículas de óleo dos dois FCs (FCE_V e FCF_M), submetidos a contaminação artificial “*in vitro*”, um microscópio óptico (figura 4) foi adaptado de forma a obter imagens de estruturas que transmitem parte da luz proveniente da fonte e outras que a refletem, adaptando uma estrutura reflexiva em um microscópio ferramenteiro.

A análise microscópica foi realizada gotejando sobre uma lâmina de vidro de 2 mm de espessura um volume padronizado de 10 µL desses fluidos. Na sequência, um espelho com bordas elevadas foi posicionado abaixo da lâmina, impedindo seu contato com o espelho (Figura 4). As gotículas dos FCs biodegradados por 70 dias, foram comparadas, quanto ao tamanho, as gotículas de FCs novos (recém diluídos/livres de microrganismos), com a finalidade de gerar imagens de fenômenos descritos na literatura, responsáveis pela sua desestabilização (promotores de coalescência). Todos eles foram focados no microscópio em ampliação de 400 vezes.

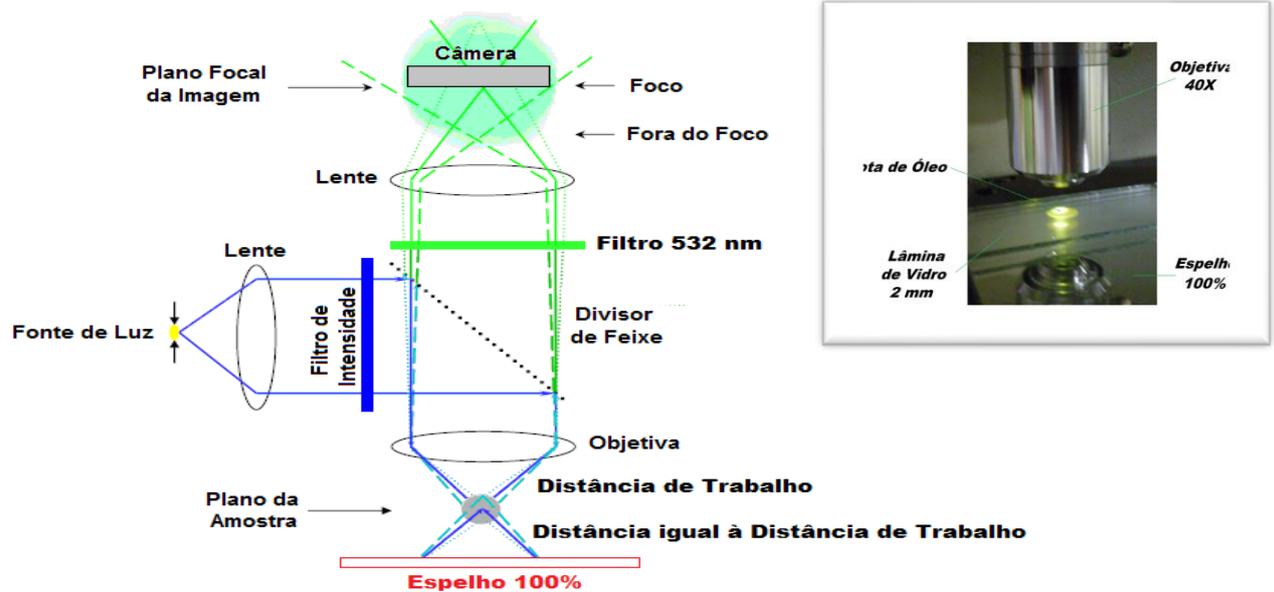


Figura 4. Sistema “sanduíche” montado no microscópio ferramenteiro para visualização das gotículas de óleo em água.

3.6. Características físico-químicas, ambientais e de gestão

As seguintes características físico-químicas dos FCs foram avaliadas: pH, concentração, utilizando pHmetro e refractômetro, respectivamente. Adicionalmente, foi também determinada a sua temperatura. Os seguintes dados foram obtidos a partir dos gestores: fabricante do FC, tipo de FC (miscíveis em água), sua natureza (emulsionável e semi-sintético) e origem do óleo (vegetal e mineral); material usinado (metais ferrosos, níquel, cromo, silício, dentre outros). Além disso, foram registradas informações relacionadas a gestão/ambiente de trabalho, incluindo: limpeza das máquinas, rotina de reposição dos FCs e uso de EPIs e absenteísmos de operadores de máquina-ferramenta.

3.7. Análise estatística

A análise estatística univariada foi realizada utilizando os seguintes testes: ANOVA, qui-quadrado e correlação de *Sperman*. Os efeitos das variáveis sobre as contagens microbiológicas encontrados foram avaliados estatisticamente com uma confiabilidade de 95% de nível de significância. O valor de *P* inferior a 0,05 foi considerado significativo. Todos os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o software GraphPad Prism 5.0 ®.

4. RESULTADOS

Neste estudo foi proposto investigar os efeitos da contaminação microbiológica no desempenho dos fluidos de corte, e na saúde do operador da máquina ferramenta, porem das cinco indústrias abordadas para realização do estudo, apenas três concordaram em participar de nossa investigação.

4.1. Monitoramento aleatório dos FCs nas indústrias “A”, “B” e “C”

Nas indústrias investigadas foram obtidas amostras de fluidos de corte de seis diferentes fabricantes (A, B, C, D, E, F). As amostras obtidas a partir de oito máquinas operatrizes da indústria “A”, representaram os fabricantes: A, B, C. Nas amostras coletadas a partir de dez máquinas da indústria “B” foram detectados os fabricantes D, E e F, e um único fabricante (D) foi detectado para as amostras coletadas em seis máquinas operatrizes da indústria “C” conforme é mostrado na tabela 3.

Durante a coleta de amostras nas três indústrias observou-se a utilização de menor volume foi o do fabricante B (FCB_V), presente em apenas uma máquina-ferramenta na indústria “A”.os FCs provenientes do fabricante D (FCD), com um volume total de mais de 185.000 litros, tornaram este fabricante, através de seu produto de base mista, o mais utilizado, comparado aos demais, estando presente em duas das três indústrias, em oito máquinas-ferramentas (33,3%). Seus produtos avaliados foram: de base mineral (FCD_M), de base vegetal (FCD_V) e de base mista ($FCD_{M/V}$), os dois primeiros de natureza semissintética e o último micro emulsionável. Considerando apenas as bases de origem dos FCs, (se vegetal, mineral ou misto), o mais utilizado nas três indústrias foi o FC de base mineral, presente em 9 (37,5%) máquinas-ferramentas. Um percentual de 66,6% dos FCs investigados foi de semissintéticos e 33,3% emulsionáveis.

Cabe ressaltar que, dentre os seis fabricantes analisados, o fabricante D foi o único que fez análises microbiológicas periódicas dos seus produtos de base vegetal e mineral (utilizados na indústria “B”), e a partir dos resultados, sugere mudanças no gerenciamento desses FCs (controle da dureza da água, concentração, pH e necessidade de adição de biocida).

Independente da indústria avaliada e da base dos fluidos analisados, as contagens medias de microrganismos viáveis foram altas ($FCA_{(M)} = 1,8 \times 10^8$ UFC/mL, $FCB_{(V)} = 3,0 \times 10^5$ UFC/mL, $FCC_{(M)} = 2,4 \times 10^6$ UFC/mL, $FCD_{(M)} = 1,4 \times 10^6$ UFC/mL, $FCD_{(V)} = 3,6 \times 10^7$ UFC/mL, $FCD_{(M/V)} = 3,6 \times 10^7$ UFC/mL, $FCE_{(V)} = 5,8 \times 10^7$ UFC/mL, $FCE_{(M/V)} = 2,0 \times 10^5$ UFC/mL), e

superiores as relatadas na literatura (10^4 UFC/mL), exceto para o fabricante $FCF_{(M)} = 1,5 \times 10^2$ UFC/mL, utilizado na indústria “B”. As características, médias de contagens de microrganismos viáveis (bactérias e fungos), e informações obtidas sobre os biocidas utilizados nos FCs, são mostrados na tabela 4.

Todos os FCs analisados, apresentaram medidas de pH, de concentração, ou ambas, diferentes daquelas recomendadas para uso e indicado pelo fabricante do FC. Em relação a temperatura, em geral observou-se uma pequena variação (26,4 a 29,0 °C), excetuando-se para fabricante E ($FCE_{(M/V)} = 35,6$ °C; $FCE_{(V)} = 21$ °C) e fabricante F ($FCF_{(M)} = 35,6$ °C).

As maiores médias de contagens de viáveis ($1,8 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) foram observadas no FCA (base mineral, com biocida) utilizado no processo de fresamento, rosqueamento, e de furação do alumínio, na indústria “A”, seguido pelo FCE ($5,8 \times 10^7$ UFC/mL) de base vegetal e emulsionável, utilizado no processo de torneamento de várias ligas de aço inoxidável, contendo diferentes concentrações de diversos materiais, na indústria “B”. Na segunda posição ficou a contaminação dos fluidos: FCD_V ($3,6 \times 10^7$ UFC/mL) contendo biocida, e $FCD_{(M/V)}$ ($3,6 \times 10^7$ UFC/mL), o primeiro utilizado no processo de diferentes ligas de aço inoxidável na indústria “B”, e o segundo, utilizado em vários processos de usinagem, cujos detalhes quanto ao tipo não foram obtidos da indústria “C”. A figura 5 mostra as médias de contagens de viáveis de FC relacionadas ao tipo de processo e de material usinados.

A menor média de contaminação microbiana foi observada na indústria “B”, no FCF_M ($1,5 \times 10^2$ UFC/mL), contendo biocida, utilizado no processo de torneamento do aço inoxidável. Nesta indústria não houve diferença entre os materiais usinados (Carbono, Silício, Manganês, Fósforo, Cobre, Ferro, Molibdênio, Níquel, Cromo, Cobalto) em cada máquina-ferramenta, desta forma os cinco diferentes FCs analisados, dela analisados, estiveram em contato com os mesmos materiais. Cabe registro que, a troca de FCs foi realizada raramente pelas indústrias no decorrer do estudo. Adicionalmente, quando a reposição dos FCs aconteceu, observou-se que foram realizados, na maioria dos casos, sem considerar as indicações do fabricante quanto ao pH recomendado, ao índice Brix de uso e no tocante aos procedimentos de limpeza. Além disso, também foi constatado ausência de procedimentos de limpeza prévia adequada das máquinas.

Tabela 4. Características e médias de contagens de microrganismos (bactérias e fungos) nos nove diferentes fluidos de corte, monitorados aleatoriamente, utilizados nas três indústrias investigadas.

Característica	Fluidos de Corte								
	Indústria "A"			Indústria "B"				Indústria "C"	
	A - (M)	B - (V)	C - (M)	D - (M)	D - (V)	E - (V)	E - (Misto)	F - (M)	D - (Misto)
pH recomendado	8,0-10,0	9,0-10,0	7,0-9,5	>8,8	>8,8	8,6-9,0	9,6-9,8	9,0	9,8
pH determinado	8,0	8,2	8,8	9,2	8,8	9,0	9,3	9,0	9,0
BRIX** de uso [%]	6,0	2,0-4,0	3,0	5,00	5,00	8,5-9,0	8,00	5,00	-*
BRIX determinada [%]	4,7	5,0	5,2	6,0	5,8	9,8	4,9	5,2	7,5
Temperatura determinada (°C)	29,0	27,0	27,5	28,1	28,0	21,0	35,7	33,3	26,4
UFC/mL (x)	1,8x10 ⁸	3,0x10 ⁵	2,4x10 ⁶	1,4x10 ⁶	3,6x10 ⁷	5,8x10 ⁷	2,0x10 ⁵	1,5x10 ²	3,6x10 ⁷
Biocida na formulação	+	+	+	+	+	-	***Bioconceito	-	***Bioconceito
Adição de biocida durante o uso	-	-	-	+	+	-	-	+	+
Tipo de adição de biocida	-	-	-	Contínua	Contínua	-	-	Contínua	Choque

*, dados não recuperados, **Brix: escala de refractância do FC, ***Bioconceito, "substancia preservativa" representada pela presença de microrganismos; (V): FC de base vegetal; (M): FC de base mineral, (Misto) FC de base vegetal e mineral. Fabricantes: A, B, C, D, E e F. UFC/mL, Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC.

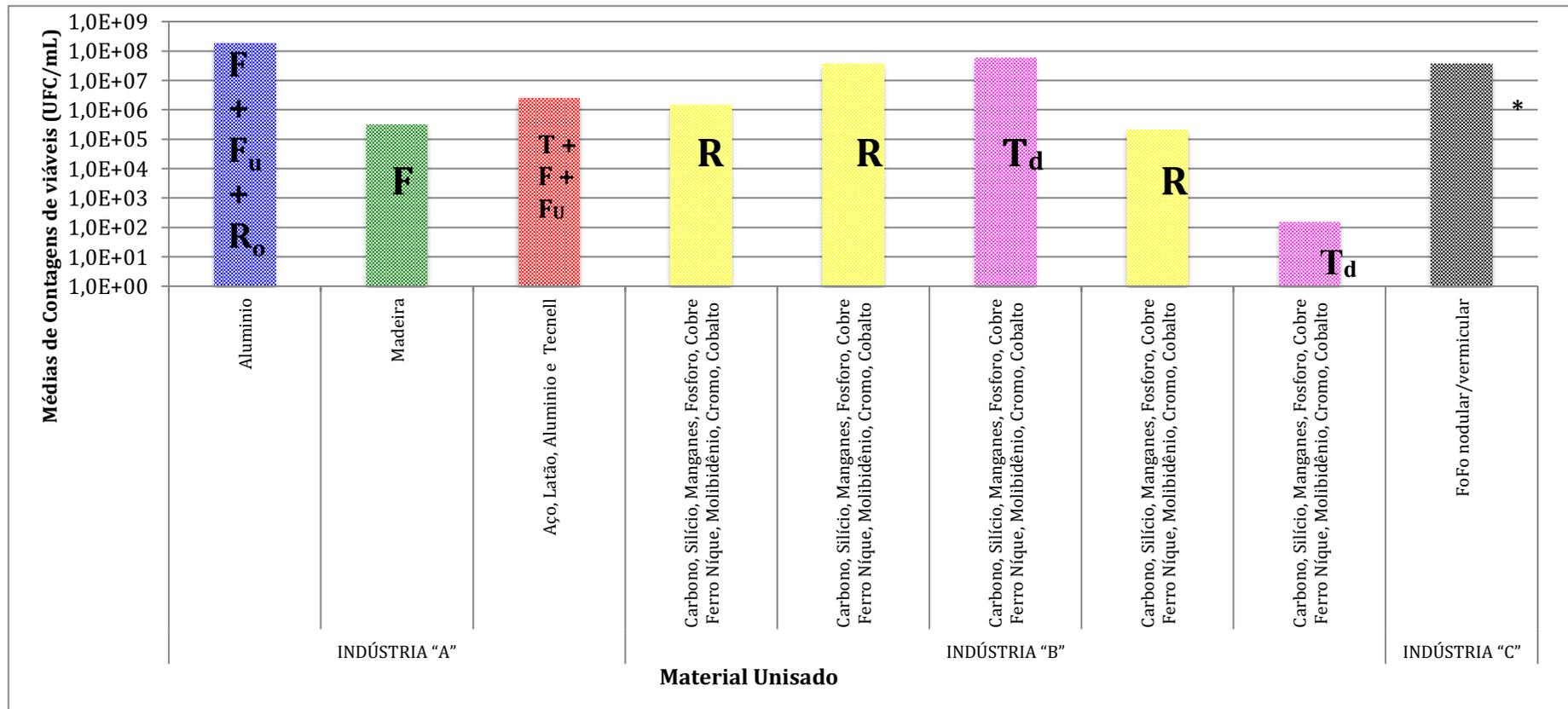


Figura 5. Processos de usinagem, materiais usinados e médias de contagens de viáveis nos nove diferentes fluidos de corte investigados. Na indústria "B" as máquinas usinam os mesmos materiais.

Processos de usinagem: F: Fresamento, Ro: Rosqueamento; T: Torneamento; Fu: Furação, Td: Torneamento (descascadeira); R: Retificação; *, diversos processos de usinagem. UFC/mL, Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC.

Os resultados da avaliação do papel da presença de biocidas nas contagens microbianas, detectadas nos FCs, estão na tabela 5. No total, apenas dois FCs ($FCE_{(V)}$ e $FCF_{(M)}$) de nove FCs avaliados ($FCA_{(M)}$, $FCB_{(V)}$, $FCC_{(M)}$, $FCD_{(M)}$, $FCD_{(V)}$, $FCD_{(M/V)}$, $FCE_{(V)}$, $FCE_{(M/V)}$ e $FCF_{(M)}$), não tinham biocidas na sua formulação, entretanto houve a adição a um deles ($FCF_{(M)}$) durante o uso, restando apenas um ($FCE_{(V)}$). Outrossim, em dois ($FCD_{(M/V)}$ e $FCE_{(M/V)}$) destes oito FCs com biocida, a “substancia preservativa” é na verdade representada pela presença de microrganismos, sem maiores informações da indústria ou do fabricante, denominados no mercado de FC, como “bioconceito”.

A presença de biocida/bioconceito não resultou em contagens mais baixas em todos os FCs (de bases vegetal, mineral e mista) incluídos no estudo, das três indústrias (Tabela 5). Na mesma tabela observa-se contagens acima de 10^5 UFC/mL, independentemente se o biocida foi um produto químico ou microbiológico (bioconceito). A comparação da contaminação dos FCs com e sem biocida só foi realizada na indústria “B”, verificando-se contagens acima de 10^5 UFC/mL nas duas situações e sem diferença estatística significativa entre elas. O $FCD_{(M/V)}$ além do microrganismo presente como substância preservativa do fluido, recebe tratamento de choque com biocida periodicamente na indústria que o utiliza.

Tabela 5 Contagens médias de microrganismos, em UFC/mL, nos FCs com e sem biocida/bioconceito, no monitoramento aleatório realizado nas indústrias “A”, “B” e “C”.

Indústria	Fluidos de Corte					
	Base Vegetal		Base Mineral		Base Mista (Bioconceito*)	
	B ⁺	B ⁻	B ⁺	B ⁻	B ⁺	B ⁻
“A”	$3,0 \times 10^5$	-	$9,0 \times 10^7$	-	-	-
“B”	$3,6 \times 10^7$	$5,8 \times 10^7$	$7,0 \times 10^5$	-	-	$2,0 \times 10^5$
“C”	-	-	-	-	$3,6 \times 10^{7**}$	-

B⁺, presença de biocida; B⁻, ausência de biocida; Base Mista: FC de base vegetal e mineral. UFC/mL, Contagens demonstradas em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC. *Bioconceito, “substancia preservativa” representada pela presença de microrganismos.

4.2. Monitoramento contínuo dos FCs

Antes do início de nossa investigação, as máquinas operatrizes das indústrias “A” e “B”, foram submetidas a manutenção, limpeza e recarga completa do reservatório com FC novo/recém diluído. Na primeira, os reservatórios das máquinas-operatrizes com capacidade de até 100 litros, não recebem supervisão técnica dos fabricantes dos fluidos utilizados, enquanto na segunda, os dois reservatórios das máquinas-operatrizes com capacidade de 5700 litros, e 8000 litros recebe de 4 a 6 visitas mensais dos respectivos representantes técnicos dos fabricantes de FC utilizados nessas máquinas, nas quais são medidos: pH, dureza da água, concentração/Brix e nível de FC no reservatório. A partir deste relatório gerado, o técnico sugere: acréscimo de FC no reservatório, controle da dureza da água, adição de biocida (no caso do FC mineral) e controle do pH.

Os resultados da avaliação microbiológica quantitativa desses FCs, são mostrados nas tabelas 6 (indústria “A”) e 7 (indústria “B”). Na indústria “A”, embora se trate de dois FCs contendo biocida e de base mineral ($FCA_{(M)}$, $FCC_{(M)}$), as diferenças nas contagens de viáveis são expressivas, com uma contaminação mais rápida ocorrida no FCA, e contagem, maior que 10^4 UFC/mL, após apenas 24 horas de uso e de recarga completa do reservatório. Por outro lado, em relação ao FCC, além da constatação visual e microbiológica (análise das superfícies através de esfregaço utilizando “*swab*” estéril – Tabela 8) evidenciarem que a máquina-ferramenta estava mais limpa e que o FC não havia sido trocado, a contaminação do FCC só foi detectada após 16 meses de uso.

A recarga total de FCs nesta indústria, nas duas máquinas selecionadas para o estudo foi realizada minutos antes da primeira coleta de amostras do FCA, e alguns dias antes da primeira coleta de amostra do FCC. A periodicidade de coleta das amostras do FCA foi diária, do início ao fim do seu ciclo de vida, com duração de 5 dias de uso contínuo. Para o FCC as três primeiras coletas de amostras foram diárias, seguida de coletas semanais, mensais e bimestrais até que foi observada a contaminação do FC, momento em que o mesmo foi descartado pela indústria. O regime de utilização de FCs é de 8 horas diárias, 5 dias por semana, com paradas aos sábados e domingos.

Tabela 6. Contagens medias de microrganismos em dois FCs de base mineral submetidos ao monitoramento contínuo na indústria “A”.

Coleta (dias)	Fabricante A			Coleta (dias)	Fabricante C		
	Contagem UFC/mL	Brix* (%)	Brix de uso** (%)		Contagem UFC/mL	Brix (%)	Brix de uso (%)
1	-(¹)	6	6	1	-(¹)	6	3
2	3,00E+07	6	6	2	-	6	3
3	2,90E+08	6	6	3	-	6	3
4	4,00E+06	6	6	10	-	6	3
5	5,60E+08	6	6	18	-	6	3
8	-(¹)	6	6	24	-	6	3
9	3,00E+07	6	6	55	-	6	3
10	4,00E+06	6	6	85	-	6	3
11	5,60E+08	6	6	110	-	6	3
12	2,00E+07	6	6	160	-	6	3
				230	-	6	3
				292	-	6	3
				355	-	6	3
				401	-	6	3
				453	-	6	3
				493	7,80E+06	6	3

-, Contagem zero. *Brix (%): índice de refractância do FC determinado no momento da coleta de amostras, ** índice Brix recomendado pelo fabricante do fluido, (¹)Troca completa do FC no reservatório da máquina. UFC/mL, Unidade Formadora de Colônia por mililitro de FC.

O monitoramento microbiológico contínuo, realizado na indústria “B” durante 22 meses (Tabela 7), com coletas iniciais quinzenais ou menos, e posteriormente, com espaçamentos de 30 a 45 dias, evidenciou níveis de contaminação elevados (acima de 10^4 UFC/mL), em relação aos dois FCs utilizados (FCE e FCF). Houve um atraso de 7 dias na recarga inicial do reservatório da máquina-ferramenta contendo o FCF em relação a máquina contendo FCE, razão pela qual a segunda coleta ocorreu com apenas 4 dias de intervalo da primeira coleta da amostra de FCF. As demais seguiram o intervalo já referido. Observando-se que a contaminação foi mais precoce no FCF, apesar da presença de biocida, comparado ao FCE sem biocida, 4 dias x 25 dias, respectivamente, e da existência de um reservatório maior: 8000 litros x 5700 litros, respectivamente. Nesta indústria, foi realizada a reposição completa dos FCs (iniciando um novo ciclo de vida) em dois momentos para o FCE e em um momento para o FCF. Essas recargas foram seguidas de contagens microbianas acima de 10^4 UFC/mL, apenas para FCE, na primeira recarga. Nestas reposições, observou-se que o procedimento de limpeza das máquinas-ferramenta, realizado no início do estudo não foi reproduzido, bem como relato de limpeza sem utilização de um protocolo documentado. Como demonstrado na tabela 6 tanto o índice de refractância (Brix) quanto o pH não estiveram de acordo com o que

é recomendado/de uso pelo fabricante, como é mostrado na tabela 1 em materiais e métodos. O regime de circulação na máquina para os dois FCs é de 24 horas/dia, sete dias por semana, ou seja, sem paradas.

Tabela 7. Contagens medias de microrganismos em dois Fluidos de Corte submetidos ao monitoramento contínuo na indústria “B”.

Fluidos de Corte (FC)									
Coleta (dias)	FCE _V sem biocida				FCF _M com adição de biocida				
	Contagem UFC/mL	Brix ¹ (%)	pH ²	Adição FC (L)	Contagem UFC/mL	Brix (%)	pH	Adição FC (L)	Adição Biocida
1	-	7,0	8,7	5700 ³	Não houve coleta neste dia para este FC				
8*	Não houve coleta neste dia para este FC				-	**	**	8000 ³	**
11	- ⁴	7,0	8,7	0	2,00E+05	4,0	9,0	**	**
25	3,00E+05	6,5	8,7	0	2,40E+07	4,0	8,0	100	10L
70	4,00E+06	6,0	8,1	0	2,30E+06	4,0	9,0	**	**
88	4,70E+02	9,0	8,7	0	- ⁴	5,0	9,0	**	**
109	1,60E+02	9,0	8,7	320	3,20E+05	4,5	9,0	**	**
129	1,30E+03	8,0	8,7	364	1,80E+05	4,5	9,0	**	**
151	8,00E+04	8,0	8,7	0	9,30E+05	5,0	9,0	**	**
165	3,20E+07	7,5	8,7	406	2,40E+05	4,0	9,0	**	**
200	1,00E+06	7,5	8,7	313	3,10E+06	2,8	9,0	**	**
222	- ⁴	8,5	8,7	177	1,50E+06	4,0	9,0	100	**
238	- ⁴	8,0	8,7	325	8,80E+05	4,0	8,0	***	**
368	1,10E+07	8,0	6,5	400	Não houve coleta neste dia para este FC				
399	3,80E+06 ⁵	11,0	8,7	5700 ³	2,40E+07	3,0	9,0	**	**
421	1,60E+06	10,0	8,7	**	1,40E+05	5,0	9,0	160	**
477	9,00E+02	11,0	9,2	**	-	6,0	9,0	8000 ³	**
498	1,40E+03	6,0	8,7	**	2,00E+03	3,0	9,0	100	**
522	-	**	**	5700 ³	9,20E+02	5,0	9,0	**	**
672	2,90E+03	**	**	**	2,00E+02	5,0	9,0	**	**

-, Contagem zero, UFC/mL, Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC. *Primeira coleta de amostras do FCF, **Dados não recuperados,

¹BRIX: escala de refractância do FC. O Brix foi determinado no momento da coleta de amostras de FC, sendo que o recomendado pelo fabricante do FC é de 8,5 a 9,0 para o FC de base vegetal e 5,0 para o FC de base mineral,

²pH determinado pela equipe de cuidados do fluido. O pH recomendado pelo fabricante é de 8,6 a 9,0 para o FC de base vegetal e 9,0 para o FC de base mineral,

³ Recarga completa do FC após limpeza do reservatório e manutenção da máquina.

⁴Essas contagens com valores igual a zero estão associadas com dias em que a máquina não estava operante por manutenção ou falha durante o funcionamento

⁵Pode estar relacionado com o procedimento de limpeza da máquina.

No monitoramento contínuo, foi possível observar a contaminação da água (dados não mostrados), a partir de três coletas realizadas em dias aleatórias desse monitoramento, e das superfícies das máquinas ferramentas, realizadas durante as três primeiras coletas de amostras de FC. Apenas uma das máquinas não apresentou sujidade nas suas superfícies, coincidindo, exatamente com aquela cujo FC (FCC_M) levou 16 meses para apresentar contaminação microbiológica. O FC desta máquina também teve sua concentração monitorada, e essa, sempre esteve duas vezes acima do que é recomendado pelo fabricante do FC.

Tabela 8. Evolução da contaminação microbiológica, quando do monitoramento contínuo, nas indústrias “A” e “B”, das superfícies das máquinas-ferramenta e respectivos fluidos de corte investigados.

Coleta (dias)	Indústria “A”				Indústria “B”			
	Máquina 1		Máquina 2		Máquina 3		Máquina 4	
	Superfícies	FCA_M	Superfícies	FCC_M	Superfícies	FCE_V	Superfícies	FCF_M
1º	+	-	-	-	+	-	+	-
2º	+	+	-	-	*	*	*	*
3º	+	+	*	*	*	*	*	*
4º	*	2	*	*	*	*	+	+
11º	*	*	*	*	+	-		
21º	*	*	-	-	*	*	+	+
25º	*	*	*	*	+	+	*	*

As superfícies das Máquinas-operatrizes foram coletadas com “swab” estéril apenas nas três primeiras coletas de amostras de fluido de corte.

+, contaminação microbiológica detectada; -, sem contaminação microbiológica; * Não houve coleta.

A caracterização do bioma detectado quando da utilização do FCA na indústria “A” (Figura 6a) evidencia uma contaminação predominante por bacilos Gram-negativos (BGN) nos dois momentos de coleta (1º e 2º ciclo de vida útil do FC na máquina), mais intensa por microrganismos de metabolismo oxidativo, sobretudo por *Pseudomonas* spp., e um aumento daqueles com metabolismo fermentador (*Enterobacteriaceae*) quando da segunda avaliação, momento em que as contagens dessas duas variedades de BGN foram semelhantes, mas com cerca de três microrganismos diferentes por amostra de FC. A presença de fungos leveduriformes também só foi detectada em culturas realizadas após a reposição do FC. Embora isolados de cocos Gram-positivos (CGP) fossem recuperados quando da primeira coleta de FCA, houve uma predominância de BGN nas amostras de FC, e os cocos foram substituídos na sequência pelos fungos.

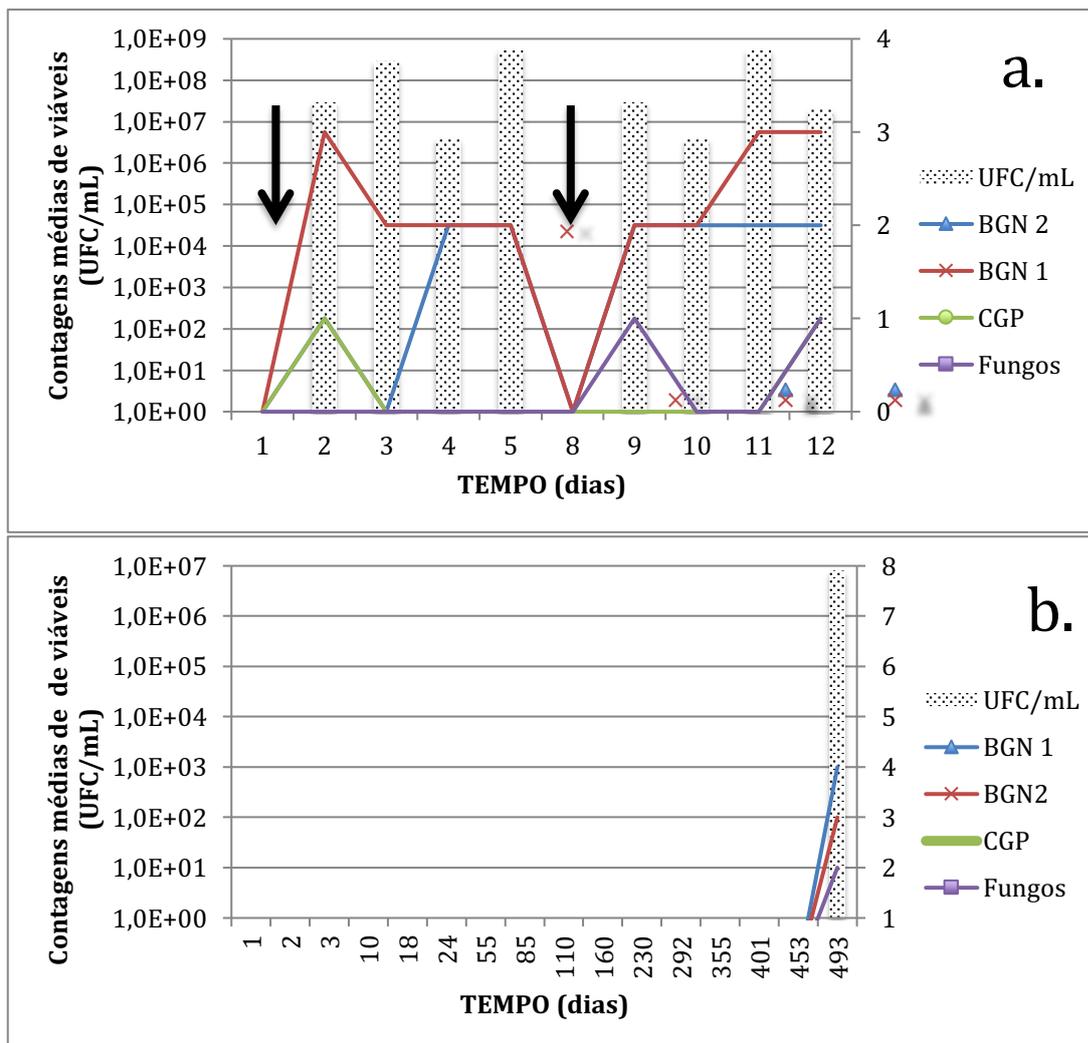


Figura 6. Caracterização do bioma encontrado nos dois Fluidos de Corte analisados da indústria “A”, quando do monitoramento contínuo. Em 6a observa-se o FC do fabricante A (FCA). Cada ciclo de vida útil deste FC teve duração de 5 dias na máquina, com início no 1º e 8º dias de coleta, conforme sinalizado pelas setas. Em 6b é mostrada a evolução da contaminação do FC do fabricante C (FCC). UFC/mL, Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC, BGN 1: Bacilos Gram-negativos de metabolismo oxidativo, BGN 2: Bacilos Gram-negativos fermentadores, CGP: Cocos Gram-negativos.

Na indústria “B”, as curvas de crescimento dos diferentes microrganismos recuperados, quando da avaliação microbiológica contínua, a partir de dois FCs, um de base vegetal sem biocida (FCE) e outro de base mineral com biocida (FCF), são mostradas nas figuras 7a e 7b, respectivamente. Elas mostram: para o FCE, contagens com maior variação de densidade ao longo de todo o monitoramento, com uma recontaminação mais rápida, quando da recarga, aos 399 dias de coleta, ao contrário do FCF que apresentou uma diminuição na contagem, esta decorrente de um maior rigor por parte dos gestores em relação a limpeza e cuidados com o procedimento; contagens com menor variação, no FC de base mineral (FCF), com uma maior predominância (3,36 representantes em média) de BGN de metabolismo oxidativo, nos

primeiros 392 dias, mas com queda na coleta seguinte (414 dias) acompanhada de uma substituição, com um aumento de BGNs fermentadores, observando-se pico de 4 representantes (figura 7b).

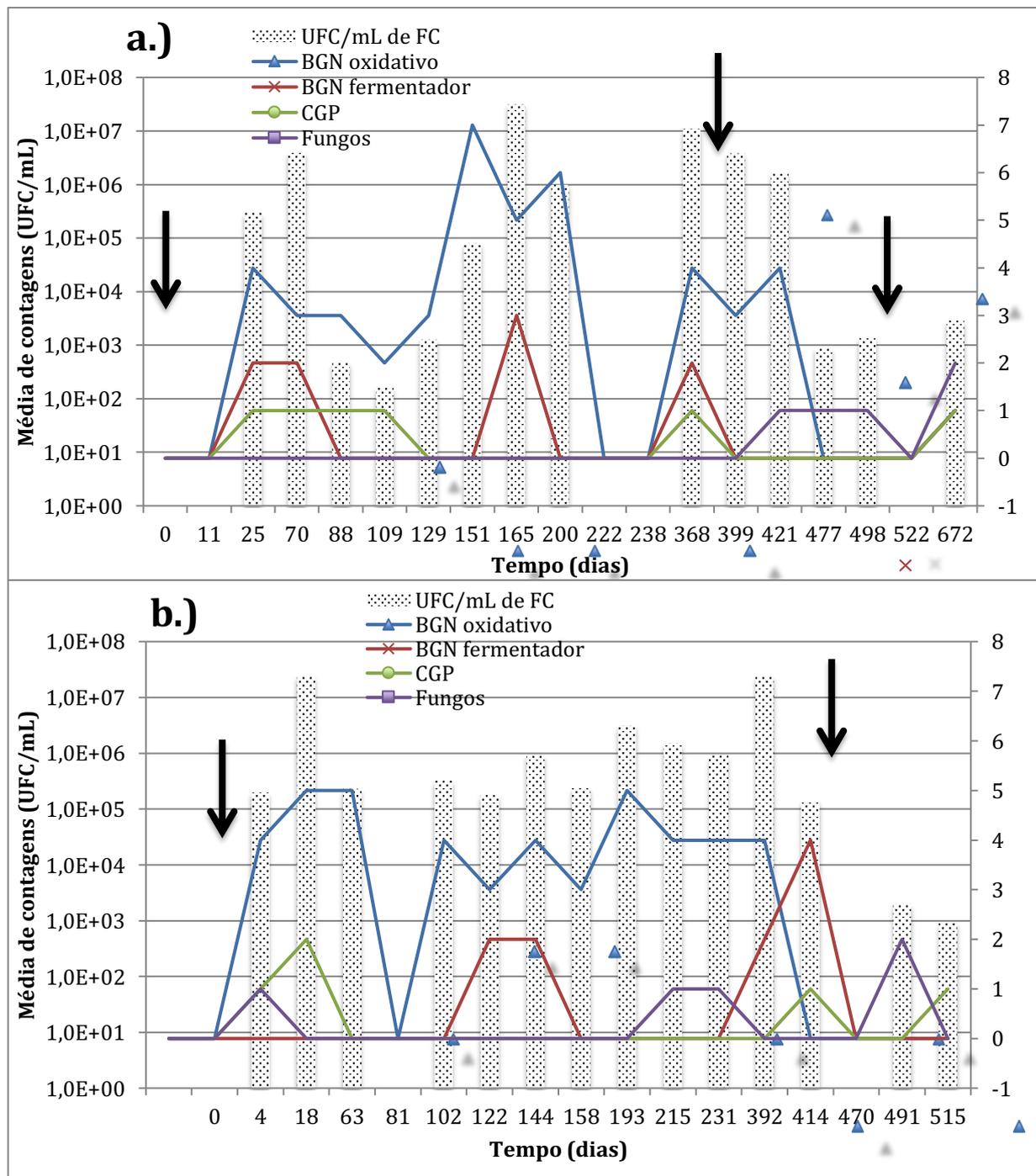


Figura 7. A média de contagens obtidas no monitoramento contínuo realizado na indústria “B” é mostrada nas figuras 7a e 7b. As setas sinalizam os momentos de recarga completa do reservatório.

UFC/mL, Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de FC, BGN 1: Bacilos Gram-negativos de metabolismo oxidativo, BGN 2: Bacilos Gram-negativos fermentadores, CGP: Cocos Gram-negativos.

4.3. Análise qualitativa dos microrganismos recuperados durante o monitoramento aleatório e contínuo dos FCs.

No total foram isoladas 225 cepas, incluindo bactérias (n = 207) e fungos (n = 18). Os resultados revelaram predominantemente (76,3%) presença de bacilos Gram-negativos (BGN), seguido de cocos Gram-positivos (CGP) (15,7%) e fungos (8,0%). O bioma predominante em cada indústria investigada é mostrado na figura 8. A presença de micobactérias de crescimento rápido não foi detectada nas três indústrias incluídas no estudo, apesar da utilização de meios de cultura adequados, de descontaminação prévia dos FCs pelo tratamento com hidróxido de sódio, de forma a eliminar outros microrganismos que não os deste gênero. Nas três indústrias analisadas houve predomínio de BGN de metabolismo oxidativo (não fermentadores) com destaque para o gênero *Pseudomonas* (31,7%), seguido da espécie *Burkholderia cepacia* (12,3%). Uma proporção significativa de microrganismos da família Enterobacteriaceae (31,0%) foi observada na indústria “A” com destaque para *Proteus mirabilis* (15,0%). Os fungos representaram 8,0% do bioma do FCs analisados (Figura 8, Tabela 9).

A diversidade microbiana (número de isolados diferentes por amostra de FC foi de 4,2. A variabilidade de gêneros/espécies encontrada neste estudo é mostrada na tabela 9 de acordo com cada indústria e diferentes tipos de FCs analisados em ambos os monitoramentos (aleatório e contínuo). Foram recuperados microrganismos, principalmente bactérias, nos nove FCs analisados de maneira aleatória, e nas indústrias “A” e “B” todos em fluidos estavam contaminados em algum momento durante o monitoramento contínuo. Durante o monitoramento aleatório na indústria “C”, não foi detectada a presença de microrganismos em dois momentos de coleta, em uma das máquinas analisadas, reflexo provavelmente da preparação recente do FC pelos responsáveis (3 dias de uso na primeira coleta e 60 dias de uso na segunda coleta de amostra).

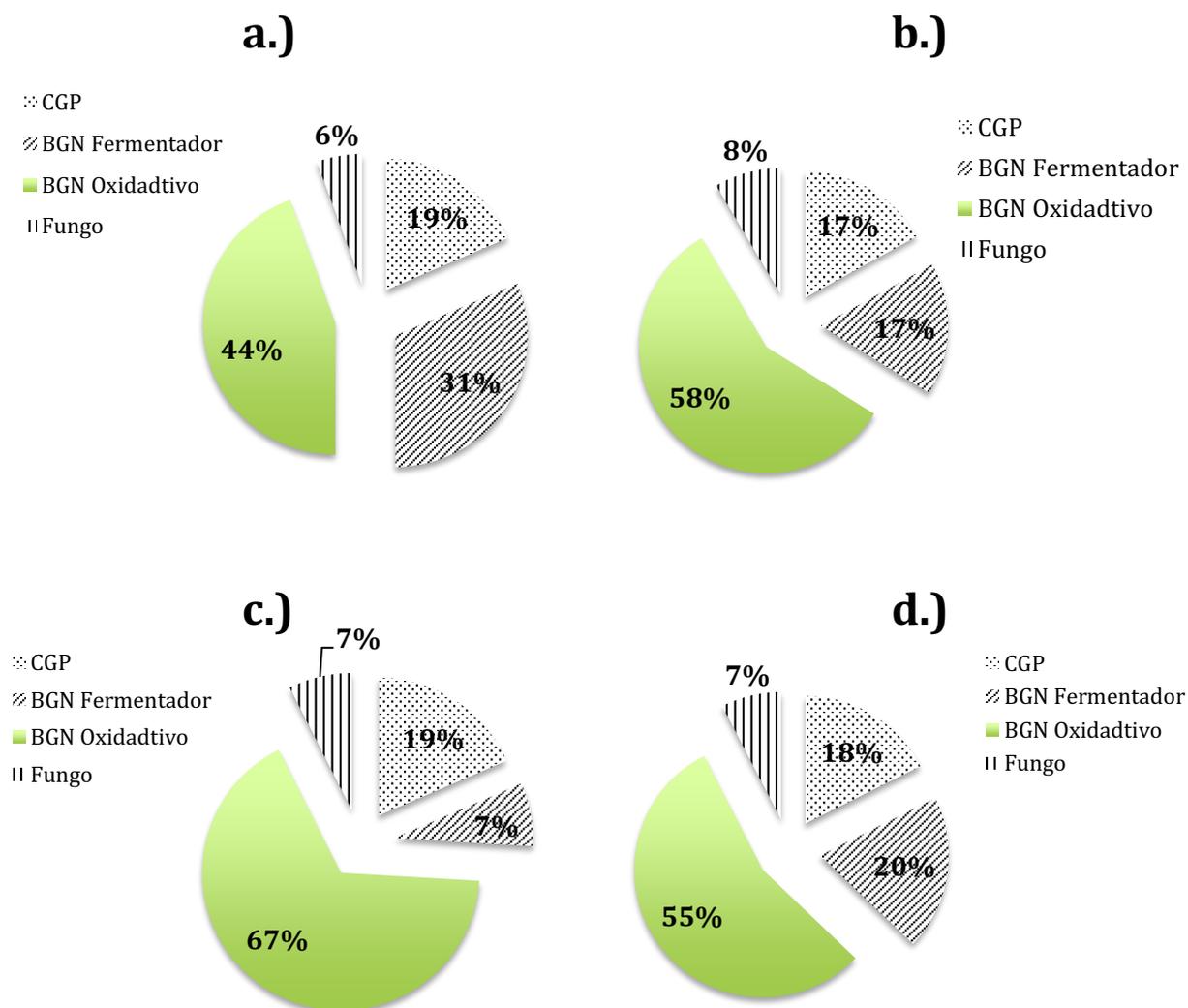


Figura 8. Bioma predominante em cada indústria investigada. Os microrganismos recuperados nas indústrias “A”, “B” e “C”, são mostrados na figura 1a, 1b, e 1c. O total de microrganismos recuperados nas três indústrias é mostrado na figura 1d.

Tabela 9. Microrganismos recuperados em cada uma das três indústrias

Indústria	Fabricante – (base)	Número médio de microrganismos	Microrganismos mais frequentes
“A”	A – (M)	3,9	<i>Klebsiela ornithinolytica</i>
	B – (V)	5	<i>Pseudomonas sp.</i>
	C – (M)	3,7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	D – (M)	4,3	<i>Achromobacter denitrificans</i>
“B”	D – (V)	3	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
	E – (V)	7,2	<i>Acinetobacter baumannii</i>
	E – (Misto)	3,3	<i>Serratia liquefaciens</i>
	F – (M)	3	Fungos leveduriformes
“C”	D – (Misto)	4	<i>Proteus Mirabilis</i>

(V): FC de base vegetal; (M): FC de base mineral, (Misto) FC de base mineral e vegetal. Totalizando 6 fabricantes A, B, C, D, E e F de 9 tipos de fluido de corte.

4.4. Contaminação artificial “*in vitro*” de dois FCs

Os resultados da contaminação artificial “*in vitro*” dos dois FCs (FCE_V e FCF_M) fornecidos por seus fabricantes são mostrados na figura 9. Neste experimento, não houve retroalimentação de FC no reservatório da máquina-ferramenta. Observou-se um crescimento log nas primeiras avaliações, com picos em torno do 18º a 22º dias, com um declínio nas avaliações posteriores (com contagens semelhantes as observadas inicialmente), até o final do experimento. Na mesma figura estão os valores de pH relacionados a esses dois FC investigados, verificando-se uma queda de aproximadamente 1,0 para o FCF (9,5 a 8,5) e 1,1 para o FCE (8,8 a 7,6).

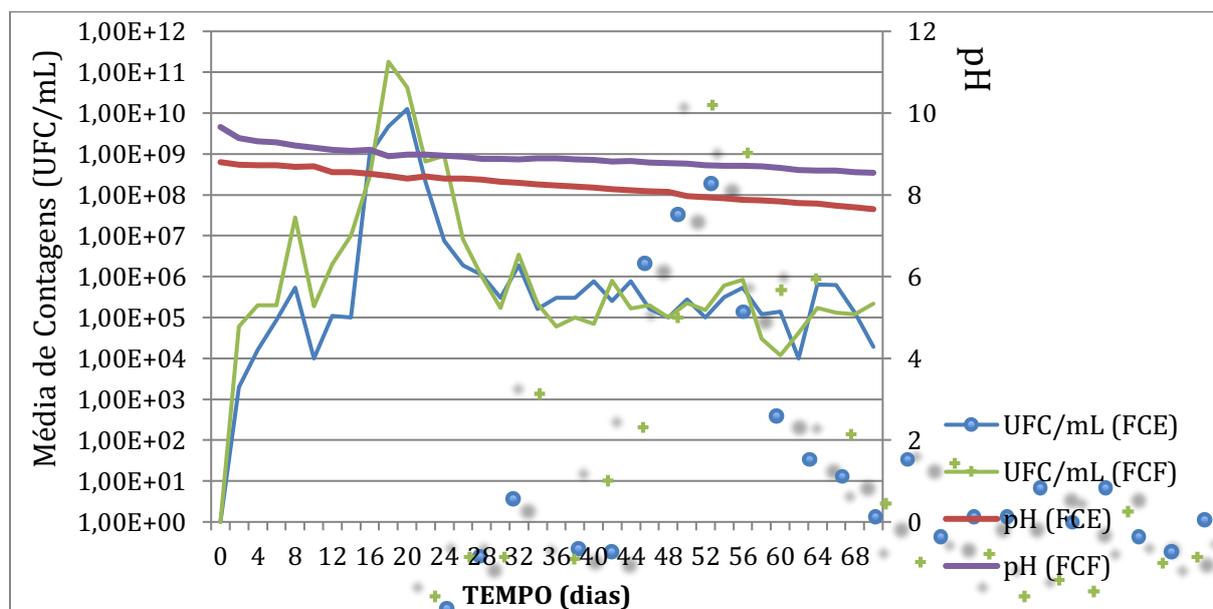


Figura 9. Curva de crescimento microbiano e pH dos FCs submetidos a contaminação artificial “*in vitro*”. FCE, Fluido de corte do fabricante E; FCF, Fluido de corte do fabricante F

4.5. Desempenho lubri-refrigerante

Os resultados dos ensaios de esclerometria pendular são mostrados na Figura 10. A importância do uso de FCs não contaminados é confirmada, devido ao baixo consumo de energia no teste de riscamento. A análise estatística mostrou que os FCs biodegradados apresentaram desempenho significativamente pior ($P < 0,05$) em termos de energia consumida em relação aos FCs novos (recém diluído - de base vegetal e mineral). Os nossos dados também evidenciam que o tempo de biodegradação do FC afeta os resultados. A análise estatística revelou que o FC de base vegetal apresentou melhor resultado que o de base mineral ($P =$

0,0038). A energia consumida para riscar a superfície do corpo de prova utilizando FC biodegradado de base vegetal foi de 12,6 Jaules e 14,0 Jaules usando o de base mineral.

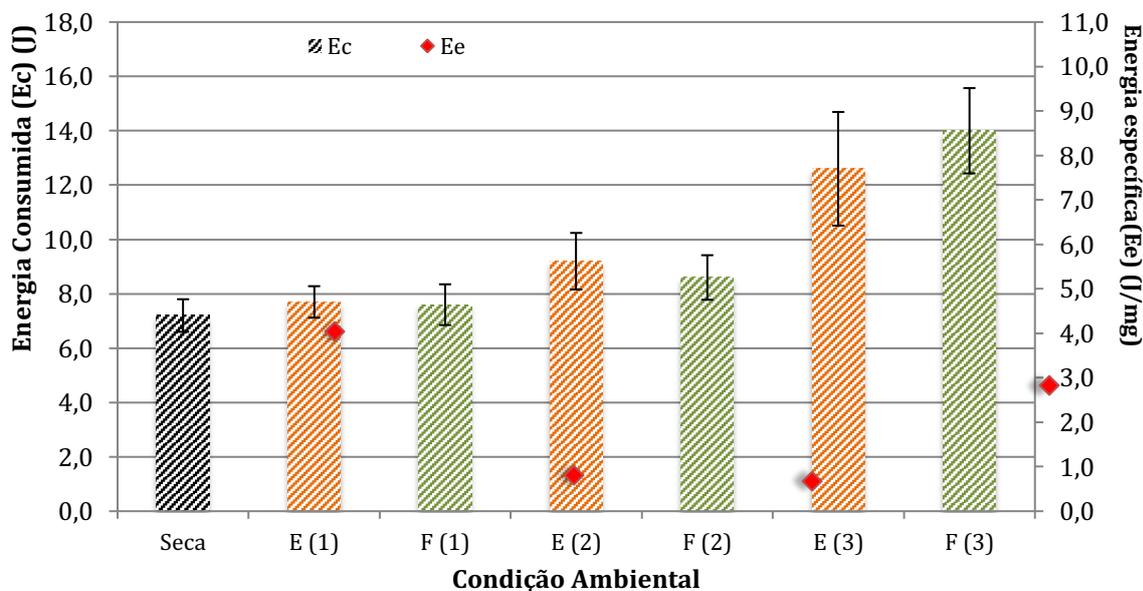


Figura 10. Energia consumida e massa perdida nos ensaios de esclerometria pendular do alumínio comercial puro, com profundidade de riscamento de 120 μm (Corpos de prova com dimensões de 9 x 9 x 50 mm^3), nas condições ambientais: seco e úmido (FCs: novos e com sete e setenta dias de contaminação microbiológica “*in vitro*”).

*Fabricantes: E (base vegetal); F (base mineral);

** 1, fluido de corte novo/sem contaminação; 2, fluido de corte contaminado em 10^5 UFC/mL (fase lag de crescimento); 3, fluido de corte biodegradado por 70 dias (ultima fase de crescimento).

As imagens da figura 11 mostram que os FCs analisados após biodegradação apresentaram microestrutura semelhante, em estágio final da contaminação. Nas figuras 11c e 11d, são visualizadas gotículas escassas e a presença de uma gota de óleo usualmente única (para a mesma área de varredura com escala de 0-100 μm) com diâmetros bastante aumentados e borda irregulares. Nas figuras 11a e 11b, as diferenças entre os dois FC, novos não contaminados, é observada pelo tamanho médio das gotículas de óleo. No fluido de base vegetal (FCE) o tamanho médio das gotículas é maior do que o tamanho médio das gotículas do fluido de base mineral FCF. Porém, após o processo de biodegradação dos dois fluidos o comportamento se inverte, e o FCF se torna o mais coalescido dos dois, como mostrado nas figuras 11c e 11d.

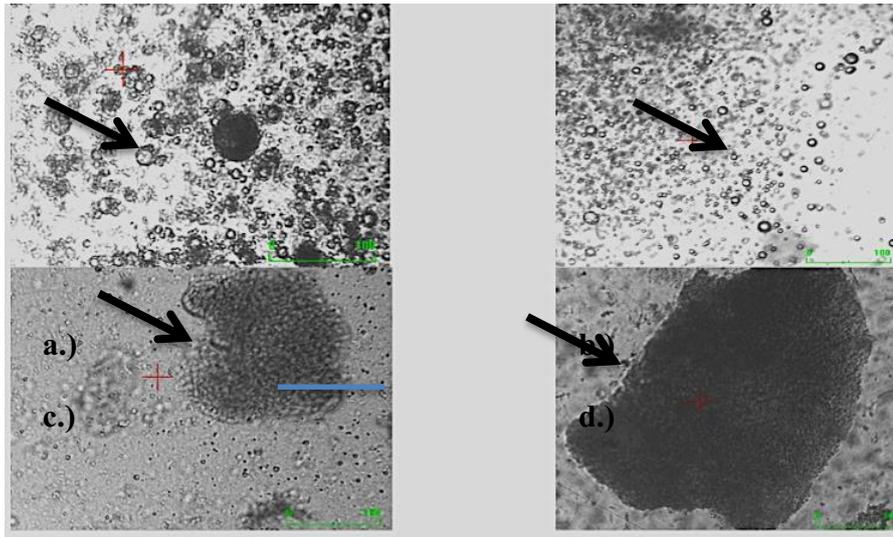


Figura 11. FCs antes e após contaminação artificial “*in vitro*”. O tamanho das gotículas de fluido de corte em água é mostrado nas figuras 11a e 11c (emulsão base vegetal - fabricante E) e 11b e 11d (semissintético de base mineral - fabricante F).

4.5. Saúde do operador

Observou-se a adesão dos operadores ao uso de Equipamentos de Proteção Individuais (EPIs) de maneira parcial. Todos eles utilizavam óculos e botas, porém apenas em duas indústrias o capacete e protetores auriculares foram observados, sendo que apenas em uma delas foi detectada a utilização de toucas para cabelo e máscaras. A presença de panos para limpeza de mãos foi observada em duas das indústrias, e as luvas, quando observadas, não eram emborrachadas. Foi observada uma ausência de padronização e até mesmo de informação fornecida por parte dos fabricantes de fluido de corte quanto aos melhores métodos de reciclagem do fluido e ainda instruções do fabricante da máquina quanto a procedimentos de limpeza mais eficientes.

5. DISCUSSÃO

Quanto a avaliação dos FCs oriundos das indústrias estudadas, os nossos resultados evidenciaram uma contaminação microbiológica elevada dos FCs analisados, usualmente acima de 10^6 UFC/mL. Independente da indústria investigada, apenas um tipo principal de bioma microbiano foi encontrado, mostrando predominantemente a presença de bacilos Gram-negativos, considerados como associados com baixo risco de acometimento pela doença do “pulmão do operador da máquina” (POM, do inglês “*MOL*” – “*machine operator’s lung*”). Observações semelhantes já foram relatadas em outros países com nível de contaminação microbiana de 10^8 , 10^9 e 10^{10} UFC/mL (FOXAL-VAN AKEN et al., 1986; WOSKIE et al., 1996; LAITINEN et al., 1999; LODDERS; KAMPFER, 2012).

A maior parte da contaminação microbiológica dos FCs, tem origem ambiental, sendo a água a principal fonte dessa contaminação, considerando que grande parte dos FCs utilizados, usualmente são diluídos em água (DUCHANE et al., 2012). A maioria (66,6%) dos FCs utilizados neste trabalho foram semissintéticos e o restante (33,3%) emulsões, todos utilizados após diluição em água. A água utilizada pelas três indústrias incluídas no estudo, foram provenientes de coleta de chuva, poços artesianos, e rede de distribuição urbana, portanto, sem e com desinfecção pelo cloro, e análises microbiológicas das últimas (dados não mostrados), indicaram contaminação por bacilos Gram-negativos e fungos leveduriformes.

Entretanto Murat, et al. (2012), relataram a existência de um segundo bioma observado na indústria automotiva, afetada por casos de “*MOL*”, predominantemente constituída por bacilos Gram-positivos, com prevalência alta de contaminação por *Mycobacterium immunogenum*. Embora a presença de micobactérias de crescimento rápido seja usual na água (CARSON et al., 1978; SCHULZE-ROSBBECKE; JANNING; FISCHEDER, 1992; WILSON et al., 2001) em função da sua maior resistência ao cloro e a capacidade de formação de biofilme (COLLINS et al., 1984; CARSON et al., 1988; SCHULZE-ROSBBECKE; JANNING; FISCHEDER, 1992; SELVARAJU, KHAN, YADAV 2004), esses microrganismos não foram detectados em nossa investigação, apesar da utilização de meio de cultura apropriado para o cultivo de representantes deste gênero. Adicionalmente, foram adotados procedimentos técnicos para a recuperação dessas bactérias, incluindo: diluição do inóculo de 10^{-3} a 10^{-7} , e o tratamento prévio das amostras de FC por agente tóxico, com hidróxido de sódio na formulação. Porém, um agravante para essa detecção, ocorre da dificuldade de visualização e caracterização dessas colônias de micobactérias de crescimento rápido (crescimento em menos de 7 dias), após 48/72hs de incubação de amostras muito contaminadas, pois o grande

crescimento destas nas placas, podem interferir na recuperação (PASSMAN, 2008) os procedimentos utilizados, relatados acima visaram a minimização destes problemas.

Entre os problemas de saúde, nos operadores de máquinas-ferramentas que utilizam FC, destacam-se os cutâneos e respiratórios, no primeiro grupo, predomina a foliculite e dermatite de contato. Os aerossóis contaminados, quando da usinagem, por bactérias do gênero *Mycobacterium*, com destaque para as espécies *Mycobacterium immunogenum* e *Mycobacterium Chelonae*, estão associados ao “MOL”, representada por uma alveolite alérgica, pneumonite por hipersensibilidade, caracterizando o segundo grupo (CASTELLAN et al., 1987; GORDON, 1992; THORNE, 2000; BECKETT et al., 2005; GORDON et al., 2006; THORNE et al., 2006; DUCHAINE et al., 2012). Nesse bioma podem estar incluídos fungos filamentosos, destacando-se os do gênero *Fusarium*. Estudo epidemiológico realizado por Murat et al. (2011), relatou que o baixo risco de exposição ao *M. immunogenum* em indústria não automotiva na França foi associado com baixo risco de “MOL”. Esses achados também foram observados em nossa investigação, com relatos por parte dos gestores das indústrias, da ausência de doença profissional, bem como de absenteísmo durante o período do estudo.

Murat et al. (2012), encontraram uma biodiversidade de microrganismos média de 2,6 isolados por amostra de FC. Em nosso estudo, essa média de microrganismos isolados por amostra foi de 4,2 isolados por amostra, nas comunidades microbianas presentes nos FCs nas diferentes máquinas. Essa ampla variedade de microrganismos relatados na literatura, e em nosso estudo, os quais fazem parte do bioma constituído de BGNs, detectado nas três indústrias, tem como grupos dominantes: os fermentadores representantes da família *Enterobacteriaceae*, e oxidativos, destacando-se o gênero *Pseudomonas oleovorans* subsp. *oleovorans*, *Pseudomonas oleovorans* subsp. *pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, e a recentemente descrita *Pseudomonas oleovorans* subsp. *lubricantis* (van der GAST et al. 2003; YADAV, 2004 GILBERT; VEILLETTE; DUCHAINE, 2010a; KHAN; SAHA et al., 2010b, 2011a, b), além de outras espécies incluindo *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter* e *Burkholderia* entre outras (MURAT et al., 2011). Os nossos resultados foram semelhantes, com uma frequência mais expressiva de BGN do gênero *Pseudomonas* (31,7%) com a detecção de *Burkholderia cepacia* (12,3%). A participação de fungos (8%) representados em sua maioria por fungos filamentosos (66,6%), não sendo possível a identificação dos gêneros correspondentes. Diferentemente dos nossos resultados, não foi relatada a presença de fungos leveduriformes e espécies de *Penicilium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cladosporium* são as mais comuns em FCs contaminados (MURAT et al., 2011).

Como foi referido na introdução, as formulações utilizadas, de origem mineral, consistindo de óleo de: petróleo, sulfonados de petróleo e ácidos graxos, e as formulações de origem vegetal, contendo triglicérides, são fontes primárias de carbono, permitindo o crescimento microbiano (FOXALL-VANAKEN et al., 1986; MALAQUE et al., 2003; FOX; STACHOWIAK, 2007; SAHA; DONOFRIO, 2012), e mesmo os demais componentes do FC, no decurso de sua recirculação contínua na máquina, podem ser utilizados pelos microrganismos como fonte de nutrientes e energia (SAHA; DONOFRIO, 2012; KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). Como referido, em todos os momentos e condições do FC, os nossos resultados revelaram proliferação microbiana com contagens acima de 10^4 UFC/mL na maioria das amostras dos nove FCs analisados, de bases vegetal, mineral e mista. Esses resultados foram também obtidos quando do monitoramento microbiológico contínuo de quatro FCs, nas indústrias “A” (FCA e FCC, ambos de base mineral e semissintéticos) e “B” (FCE de base vegetal, sem biocida e FCF de base mineral, com biocida). Em ambos os monitoramentos realizados, houve reposição de água e FC diluído em água ou não, ao longo de sua utilização, e desta forma, através das contagens médias de viáveis no monitoramento contínuo, foi obtida uma curva de crescimento microbiano semelhante a de um sistema aberto. Este comportamento não foi observado no FCC devido a sua contaminação ser observada apenas no momento de descarte, após 16 meses de uso pela indústria e de monitoramento contínuo.

Assim como relatado por Veillette et al., (2004), nas indústrias “A” e “B”, quando do monitoramento contínuo, uma importante carga microbiana manteve-se aderida nas superfícies das máquinas, com aspecto de sujidade, visível em muitas das máquinas das duas indústrias investigadas, mesmo após a limpeza dessas superfícies e do reservatório das máquinas previamente a recarga de fluidos. Mais especificamente, no monitoramento contínuo, as máquinas foram preparadas, para que o estudo fosse iniciado (FCA_M e FCC_M, indústria “A” e FCE_V e FCF_M, indústria “B”), porém essas sujidades remanescentes foram capazes de semear novamente os microrganismos no sistema de circulação do FC, mostrando contaminação microbiana dentro de 24 h (FCA_M) e 4 dias (FCF_M). As contagens obtidas a partir de amostras desses FC estiveram acima de 10^5 UFC/mL, evidenciando que o procedimento de limpeza realizado foi inadequado para eliminar a contaminação microbiana. Por outro lado, outras duas máquinas-ferramenta, monitoradas continuamente, contendo os fluidos FCE_V e FCC_M, apresentaram contaminação acima de 10^4 UFC/mL, em 25 e 493 dias, respectivamente, sendo que o FCC levou 16 meses para contaminar, o que pode ser associado a características intrínsecas do FC (formulação), menor período de utilização da máquina (FCC) em

comparação com as demais, e ainda por ser o único FC que é utilizado em concentração duas vezes maior do que aquela indicada pelo fabricante.

A predominância de bacilos Gram-negativos na indústria não-automotiva pode estar associada com utilização de certos metais tais como cromo, níquel e ferro (SAHA; DONOFRIO, 2012; MURAT et al., 2011). Em contraste, o crescimento de bacilos Gram-positivos, relacionado com a ausência destes metais, enquanto o uso de silício está relacionado com a ausência de BGN (MURAT, et al., 2011). Desta forma, o material usinado pode desempenhar um importante papel na formação do bioma, considerando que alguns metais, tais como zinco ou cobre podem modular a atividade de bactérias, vírus e de fungos (BABICH; STOTZKY, 1978; WEAVER; MICHELS; KEEVIL, 2010).

Adicionalmente a categoria dos FCs aquosos, como foi dito anteriormente, tem um papel significativo na contaminação do FC, assim como a natureza do componente de óleo utilizado, de forma que os sintéticos são mais frequentemente estéreis enquanto as emulsões são frequentemente mais contaminadas por BGN (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015) como “observado em nossos dados. Os FCs de base vegetal são mais contaminados por BGN enquanto os minerais são mais associados com a presença de BGP (MURAT et al., 2011). Isso não foi observado em nossa investigação, quando o bioma constituído por BGN foi prevalente ou dominante nos dois tipos de óleo. Entretanto observou-se uma frequência mais elevada de BGN com observação de maior frequência de BGN de metabolismo oxidativo (*Pseudomonas* sp.), no óleo de base vegetal, mas, com uma substituição pela flora de BGN fermentador, quando da utilização do FCF (base mineral, com biocida), numa segunda recarga do reservatório (indústria “B”), sugerindo uma recontaminação.

Há alguns relatos de que a contaminação microbiana de FCs é também influenciada pelos processos de usinagem (MURAT, 2011), como por exemplo, o processo de retificação (BIANCHI; AGUIAR; PIUBELI, 2003; GOMES et al., 2007). Na nossa investigação não foi possível detectar diferenças entre níveis de contaminação e os processos de usinagem, como fresamento, torneamento, furação, rosqueamento, retificação. Os níveis de contaminação observadas, quando do monitoramento aleatório, foram usualmente elevados (acima de 10^4 UFC/mL), independente do processo de usinagem, merecendo registro, a observação da inexistência de adesão a protocolos de limpeza das máquinas e do ambiente, com observação visual de sujidade em muitas das visitas. Além disso, entretanto, observou-se presença mais intensa de microrganismos na indústria “A”, quando da usinagem de peças de Alumínio pelos processos combinados de furação, rosqueamento e fresamento. Esta contaminação foi maior do que observado na indústria “B” quando da usinagem de ligas de aço inoxidável, seguindo-

se aquela (indústria “C”) quando da usinagem de ferro fundido nodular e vermicular em diferentes processos de usinagem (dados não obtidos da indústria).

Em função da facilidade de contaminação dos FCs, substâncias biocidas são usualmente incorporadas na formulação com a finalidade de reduzir o número de microrganismos, assim como, dificultar a sua multiplicação. Entre os biocidas utilizados, incluem-se álcool, formaldeído e tiazolona e derivados fenólicos entre outros, contudo há informação limitada sobre a avaliação dos mesmos quanto a sua eficácia relativa (SELVARAJU et al., 2005; FALKINHAM, 2009). Adicionalmente eles podem acarretar dermatite, corrosão, resistência microbiana e toxicidade além de aumento nos custos resultantes da sua manipulação e descarte (SELVARAJU; KAPOOR; YADAV, 2008a; SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2008b). A redução na competição entre os microrganismos devido ao uso de biocidas em indústrias tais como a automotiva poderia favorecer a proliferação de *Mycobacterium immunogenum*, ou seja a carga microbiana total pode ser encarada como um ponto chave, contribuindo para a inibição de alguns microrganismos (KREISS; COX-GANSER, 1997; SELVARAJU; KHAN; YADAV, 2008b; FALKINHAM, 2009)

Na maioria das situações avaliadas, incluindo amostras provenientes das três indústrias (monitoramento aleatório), a presença de altas densidades de microrganismos nos FCs não foi afetada pela presença de biocidas, dessa forma, enquanto a maioria dos FCs continham biocida (77,7%), bioconceito (11,1%), bioconceito + biocida (11,1%) e apenas um sem preservativo (11,1%), as contagens médias de viáveis foram, respectivamente de $3,7 \times 10^7$ UFC/mL; $2,0 \times 10^5$ UFC/mL; $3,6 \times 10^7$ UFC/mL; $5,8 \times 10^7$ UFC/mL. Dados semelhantes também foram observados quando do monitoramento contínuo, nas indústrias “A” e “B”, excetuando-se um dos FCs de base mineral contendo biocida que mostrou ausência de contaminação durante 16 meses de monitoramento, em decorrência possivelmente de vários fatores, dentre eles: o valor obtido de concentração/Brix determinado no momento das coletas foi duas vezes maior do que o que é recomendado para uso pelo fabricante do fluido; menor utilização e sobretudo de maiores cuidados quanto a limpeza da máquina, que não apresentou contaminação de suas superfícies. Características intrínsecas de maior qualidade de componentes inseridos em sua formulação também não são descartados.

A manutenção da concentração de biocida nestes sistemas é também problemática devido a maior evaporação da água utilizada na diluição do fluido de corte. E quando a água é restituída frequentemente testes não são realizados para quantificar a concentração final do biocida (TRAFNY et al., 2015). Os nossos resultados, embora quanto as coletas aleatórias, as concentrações dos FCs fossem usualmente acima do recomendado pelo fabricante (6/9,

66,6%), nas diferentes indústrias avaliadas, em fluidos com e sem biocidas apresentaram uma queda na concentração dos FC na maioria das coletas.

Os BGNs parecem estar notavelmente adaptados aos FCs aquosos, que pode ser explicado: i.) pela ubiquidade de *Pseudomonas* sp. e sua capacidade de crescer na água, ii.) tolerância a um pH geralmente elevado dos FCs e iii.) capacidade de degradar hidrocarbonetos (MURAT et al, 2011).

Além disso a atividade microbiana influencia o acúmulo de subprodutos químicos descaracterizados, derivados de componentes presentes na formulação dos FCs e ainda de metabólitos microbianos contendo ácidos orgânicos fracos (por exemplo, intermediários do ciclo de Krebs) que reagem com íons dissolvidos de cloreto, nitrato, nitrito e íons sulfato para formar ácidos inorgânicos fortes (PASSMAN, 2006). Como as aminas neutralizantes (de estabilizadores de pH) são consumidas, o FC perde sua característica alcalina e o pH da mistura sofre queda (SAHA, DONOFRIO, 2012; KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015), o que também foi observado em nosso resultado obtido em duas das amostras de FC, uma da indústria “B” e uma da indústria “C”. A Biodegradação do aditivo inibidor de corrosão induz corrosão tanto na peça de trabalho quanto na máquina operatriz, pois o FC perde sua propriedade protetora de corrosão (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). Outro aspecto observado, proveniente da biodegradação microbiana, é a queda na concentração do FC, e o consumo dos tensoativos e co-tensoativos, presentes no FC, que estabilizam as gotículas de óleo em água (KOCH, 2008), o que foi confirmado em 33,3% dos casos (Tabela 2).

É importante assinalar que o cuidado adequado com os sistemas de circulação do FC é necessário para controlar a contaminação e o desenvolvimento posterior de biofilme mesmo quando biocidas são utilizados, assim boas práticas de higiene e limpeza são necessárias para prevenir no processo de usinagem a contaminação e formação de biofilme, fazendo-se necessário um monitoramento desses sistemas de distribuição (TRAFNY et al., 2015). Em conclusão, quando a máquina está contaminada com microrganismos, somente uma limpeza e desinfecção cuidadosa, antes da recarga do sistema com FC novo, é eficiente para inibição da multiplicação dos microrganismos presentes (TRAFNY et al., 2015).

Adicionalmente condições ambientais, tais como o fluxo (vazão) do FC, as diferentes superfícies para colonização bacteriana e o tempo de retenção no sistema tem uma influencia nas contagens microbianas quantitativa e qualitativa havendo variação inclusive quanto ao ponto de coleta por tanto o operador precisa estabelecer internamente uma amostragem padronizada para uma garantia de dados válidos quando do monitoramento do FC (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). Burgess (1995), relatou concentrações mais baixas ($5 \times$

10^4 UFC/mL x $1,0 \times 10^9$ UFC/mL), respectivamente quando da adoção de programas de controle do FC ou não. Neste particular os nossos dados revelaram: a recontaminação ocorre rapidamente após a reposição do FC na máquina, particularmente em máquinas com sujidade visível (monitoramento contínuo na indústria “A” e na “B”), a observação de ausência de limpeza e higiene nas indústrias quando das coletas aleatórias, a maior preocupação na adoção destas práticas quando do conhecimento prévio da visita para coleta de amostras (indústria “B” FCF após a segunda recarga do reservatório). A menor utilização de máquinas (FCC) ou com os níveis usualmente elevados (excetuando-se a ultima situação), com o alto nível de contaminação observado em nosso estudo.

As relações entre os dois biomas caracterizados nas indústrias metal-mecânicas e as características do ambiente industrial levaram MURAT et al., (2011), a sugerirem várias hipóteses de trabalho: i.) a presença de um bioma constituído por BGN e fungos filamentosos em altas densidades populacionais diminuem o crescimento de *Mycobacterium immunogenum*; ii.) fluidos sintéticos inibem o crescimento de BGN quando comparado as emulsões; iii.) metais como cromo, níquel e ferro promovem o crescimento de BGN; e iv.) óleo de base mineral promove o crescimento de BGP, enquanto o de base vegetal, o de BGN. Essas hipóteses fornecem racionalidade para experimentos “*in vitro*” relativos a cinética de populações microbianas com foco em aspectos de inibição ou sinergismo microbiano. Essas pesquisas devem considerar variações controladas de: concentrações microbianas, tipos de metais e características dos FCs (MURAT et., 2012).

Em nosso estudo foi realizado a contaminação artificial “*in vitro*” em dois FCs, utilizando os microrganismos contaminantes (BGNs) mais frequentes nos mesmos, verificando-se os seguintes aspectos: i.) mesmo no momento em que o FC passa a estar contaminado em $\geq 10^5$ UFC/mL (fase lag de crescimento), quando já deveria estar recebendo medidas de controle (BYERS, 2006)), não houve aumento significativo do consumo de energia no ensaio de riscamento; ii.) a recuperação de microrganismos viáveis, entra numa fase de declínio (morte), com queda no número de viáveis, quando do esgotamento de nutrientes; iii.) o esgotamento dos nutrientes ocorreu com 18 dias para o fluido de base mineral e 22 dias para o de base vegetal, momentos em que as respectivas curvas de crescimento entram na última fase de crescimento, e iv.) apesar de o crescimento microbiano ocorrer de maneira exponencial durante o início do experimento, a queda no pH foi gradativa e linear”. Esse tipo de estudo deve ter continuidade considerando os aspectos referidos anteriormente (MURAT, et al., 2012).

Grande parte dos processos de usinagem dependem da utilização de FCs, cujas propriedades lubri-refrigerantes interferem, sobretudo, no alto “*turnover*” de energia, que

caracteriza o processo em função de aspectos como: remoção do calor gerado, a redução da fricção na zona de contato entre a ferramenta de corte e a peça usinada, e transporte de cavacos, resíduos e sujeiras produzidos durante o processo de corte do metal (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015), e naturalmente na qualidade final do produto (MACHADO et al., 2011; BYERS, 2006). Adicionalmente, quanto menos energia é gerada durante o processo de usinagem, as ferramentas de corte estarão sujeitas a menores esforços, refletindo em maior vida útil, e a integridade superficial da peça usinada estará protegida, considerando que o sistema no seu conjunto estará mais estável (PASSMAN 1988; SALMON In: BYERS, 2006; KOCH 2008). A contaminação microbiana não controlada do FC, invariavelmente implicará na sua biodeterioração (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015), e em alterações tais como a redução da vida útil da ferramenta e aumento de taxas de rejeição de componentes usinados (PASSMAN, 1988; KOCH, 2008).

A interação da qualidade técnica do produto acabado e da carga microbiana dos FCs somente recentemente tornou-se um foco de pesquisa científica (PASSMAN, 1988; BRINKSMEIER et al., 2009; RABENSTEIN et al., 2009; KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). No nosso estudo foi realizado o ensaio de esclerometria pendular, o qual executa riscamentos em superfície, permitindo a avaliação do comportamento tribológico do sistema utilizando FC. Foi possível perceber a importância da contaminação e biodegradação do FC considerando variações significativas quanto a energia consumida para executar o procedimento. A energia consumida para riscar o alumínio comercial puro utilizando fluidos biodegradados, tanto de base vegetal quanto mineral, foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparado aos FCs novos/recém diluídos. Nesse particular, comparando as propriedades lubri-refrigerante dos dois FCs testados, através da energia específica obtida nos riscamentos, os dados mostraram maior energia específica, na condição de biodegradado por 70 dias, para o FC de base mineral comparado ao FC de base vegetal.

6. CONCLUSÕES

- Os resultados do nosso estudo evidenciaram um número de microrganismos muito alto na maioria dos FCs, máquinas e indústrias investigadas, com a existência de apenas um tipo de bioma microbiano, caracterizado por bactérias Gram-negativas e fungos leveduriformes e filamentosos. A diversidade dos FCs quanto a sua base de óleo bem como a presença ou não de biocidas teve pouca influencia na densidade da contaminação microbiológica bem como na presença do bioma constituído por BGNs.

- Adicionalmente foram observados:
 - As práticas de higiene e limpeza também variaram entre as 3 indústrias, salientando-se a inexistência de documentos sobre o assunto.

 - A flora bacteriana foi representada principalmente por Bacilos Gram-negativos de metabolismo oxidativo, do gênero *Pseudomonas*, seguindo-se os fermentativos com representantes da família *Enterobacteriaceae* e fungos leveduriformes e filamentosos.

 - A presença de micobactérias de crescimento rápido assim como de outros BGP não foram detectadas

 - A diminuição no pH não ocorreu na maioria das amostras de FC analisados, quando do monitoramento aleatório, ao contrário de uma maior oscilação, quando do monitoramento contínuo, enquanto no experimento de contaminação artificial “*in vitro*”, a sua diminuição foi observada pra os dois FCs avaliados. Além disso uma diminuição na concentração do FC também foi constatada em dois dos nove FCs analisados. Tal fato também foi observado durante e após a contaminação artificial “*in vitro*” nos dois fluidos analisados. Pequenas oscilações na temperatura dos fluidos também não interferiram com as contagens médias de viáveis.

 - Na maioria das situações observadas, o biocida foi adicionado sem conhecimento prévio do bioma presente no FC e a sua adição não seguiu critério de frequência,

tempo de exposição e dosagem. Também não houve monitoramento subsequente a quanto a estabilidade da concentração necessária do mesmo após adição no FC.

- Em apenas uma das indústrias houve tratamento periódico dos FCs em regime de aplicação de “choque”, porem em intervalos de tempo menores que o recomendado pelo fabricante do biocida, sem grande impacto nos níveis de contaminação detectados nesses fluidos.
 - A avaliação do desempenho dos fluidos de corte no ensaio de esclerometria pendular evidenciou que os dois FCs biodegradados consumiram mais energia ($p < 0,05$) durante o riscamento, quando comparados aos fluidos não contaminados, evidenciando um comprometimento de suas propriedades lubri-refrigerantes após biodegradação microbiológica, podendo possivelmente afetar as operações de usinagem que dele dependem.
 - As informações dos gestores foram da baixa frequência de problemas de saúde nos profissionais das indústrias com baixo absenteísmo.
- Em síntese, medidas como: a utilização de FCs com biocidas mais efetivos, que sejam submetidos ao monitoramento microbiológico rotineiro, para uma resposta precoce quando da contaminação, numa indústria com boas práticas de produção, são necessárias para evitar a contaminação, multiplicação e formação de biofilme, além de garantir uma usinagem produtiva.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Investigar os aspectos relacionados a seguir através da contaminação do FC “*in vitro*”:

- Determinar se a presença de um microbioma constituído predominantemente por BGNs e fungos filamentosos interfere no crescimento de *Mycobacterium immunogenum*;
- Analisar se existe uma maior inibição do crescimento de bacilos Gram-negativos em fluidos sintéticos quando comparado ao das emulsões;
- Investigar a contribuição de metais como: silício, cromo, níquel e ferro na promoção de crescimento de um determinado microbioma;
- Determinar qual óleo base está mais associado ao crescimento de determinado microbioma;

- Avaliar a cinética das diversas populações microbianas prevalentes com foco em aspectos de inibição ou sinergismo; e,
- O impacto do nível de contaminação dos FCs no decorrer do seu uso nas suas características físico-químicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABAL - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO ALUMÍNIO. *Fundamentos e Aplicações do alumínio*. ABAL. Maio/2007

ASTM E2275, Standard Practice for Evaluating Water-Miscible Metalworking Fluid Bioresistance and Antimicrobial Pesticide Performance, Annual Meeting Book of ASTM Standards Vol. 11.05, *ASTM International*, West Conshohocken, Pa. 2013

AWOSIKA-OLUMO, A. I.; TRANGLE, K. L.; FALLON, L. F. Microorganism-induced skin disease in workers exposed to metalworking fluids. *Occup. Med. (Lond.)* 2003;53:35– 40. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqg006>

BABICH, H.; STOTZKY, G. Toxicity of zinc to fungi, bacteria, and coliphages: influence of chloride ions. *Appl. Environ. Microbiol.* 1978;36:906–914. <https://doi.org/10.1128/AEM.36.6.906-914.1978>

BAND, J. D.; et al. Peritonitis due to a *Mycobacterium chelonae*-like organism associated with intermittent chronic peritoneal dialysis. *J Infect Dis* 1982;145:9–17. <https://doi.org/10.1093/infdis/145.1.9>

BAECKER, A. A. W.; ROUX, K. I.; AV, H. Microbiological contaminants of metalworking fluids in service. *S Afr J Sci* 1989;85:293–295

BAKALOVA, S.; et al. Bacterial microflora of contaminated metalworking fluids. *Biotechnol Biotechnol* 2007;21:437–441. <https://doi.org/10.1080/13102818.2007.10817490>

BECKETT, W.; et al. Hypersensitivity pneumonitis associated with environmental mycobacteria. *Environ. Health Perspect.* 2005;113:767–770. <https://doi.org/10.1289/ehp.7727>

BERNSTEIN, D. I.; et al. Machine operator's lung. A hypersensitivity pneumonitis disorder associated with exposure to metalworking fluid aerosols. *Chest* 1995;108:636–641. <https://doi.org/10.1378/chest.108.3.636>

BIANCHI, E. C.; AGUIAR, P. R.; PIUBELI, B. A. *Aplicação e Utilização dos Fluidos de Corte nos Processos de Retificação*. São Paulo: Artliber. 2003.

BRINKSMEIER, E.; et al. Current approaches in design and supply of metalworking fluids. *Tribol. Trans.* 2009;52:591–601. <https://doi.org/10.1080/10402000902825739>

BRUZE, M.; et al. Occupational allergic contact dermatitis from alkanolamineborates in metalworking fluids. *Contact Dermatitis* 1995;32: 24–27. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1995.tb00835.x>

BURGESS, W. A. *Recognition of Health hazards in Industry*. A Wiley-Interscience publication, second ed., New York, 1995. p 538.

BURK, J. M. *Slime control seminar*. Buckman Laboratories International Inc., Campinas-SP, Brasil. 1984.

BYERS, J. P. *Metalworking fluids*. 2. ed. Taylor e Francis Group. 2006. 480 p.

CALLISTER, W. D. Jr. *Ciência e engenharia de materiais: uma introdução*. 5ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2000

CARSON, L. A.; et al. Growth characteristics of atypical mycobacteria in water and their comparative resistance to disinfectants. *Appl. Environ. Microbiol.* 1978;36:839–846. <https://doi.org/10.1128/AEM.36.6.839-846.1978>

CARSON, L. A.; et al. Prevalence of nontuberculous mycobacteria in water supplies of hemodialysis centers. *Appl Environ Microbiol*; 1988;54:3122–5. <https://doi.org/10.1128/AEM.54.12.3122-3125.1988>

CASTELLAN RM, et al. Inhaled endotoxin and decreased spirometric values. An exposure-response relation for cotton dust. *N Engl J Med* 1987;317:605–610. <https://doi.org/10.1056/NEJM198709033171005>

CAPELLETTI, R. V. *Avaliação da atividade de biocidas em biofilmes formados a partir de fluido de corte utilizado na usinagem de metais*. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. Campinas, maio de 2006.

CETIN, M. H.; et al. Evaluation of vegetable based cutting fluids with extreme pressure and cutting parameters in turning of AISI 304L by Taguchi method. *Journal of Cleaner Production*, 2011;19(17):2049-2056. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2011.07.013>

CHAZAL, P. M. Pollution of modern metalworking fluids containing biocides by pathogenic bacteria in France. Reexamination of chemical treatments accuracy. *Eur. J. Epidemiol.* 1995;11:1–7. <https://doi.org/10.1007/BF01719939>

CYPROWSKI, M.; et al. Microbial and endotoxin contamination of water-soluble metalworking fluids. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 2007;20:365-371. <http://dx.doi.org/10.2478/v10001-007-0036-y>. <https://doi.org/10.2478/v10001-007-0036-y>

CHANG, S. C.; et al. Flow cytometric detection and quantification of mycobacteria in metalworking fluids. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2004;54:105-12. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.03.019>

CHENG, C.; PHIPPS, D.; ALKHADDAR, R. M. Treatment of spent metalworking fluids. *Water Res* 2005;39:4051–4063. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.07.012>

CHIAVERINI, V. *Aços e Ferros Fundidos*, Associação Brasileira de Metais, ABM, 5. ed., São Paulo, Brasil, 1984. 518p.

COLLINS, F. M. Bactericidal activity of alkaline glutaraldehyde solution against a number of atypical mycobacterial species. *J. Appl. Bacteriol.* 1986;61: 247–251. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1986.tb04283.x>

DAWKINS, P., et al. An outbreak of extrinsic alveolitis at a car engineplant. *Occup. Med. (Lond.)* 2006;56:559 –565. <https://doi.org/10.1093/occmed/kql110>

DILGER, S.; FLURI, A.; SONNTAG, H. G. Bacterial contamination of preserved and non-preserved metalworking fluids. *Int J Hyg Environ Health*. 2005;208(6):467-476. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2005.09.001>

DUCHAINÉ, C.; et al. Workers Exposed to Metalworking Fluids (MWF) – *Evaluation of Bioaerosol Exposure and Effects on Respiratory and Skin Health Studies and Research Projects* / Report R-745, Montréal, IRSST, 2012, 75 pages.

ELSMORE, R. The survival of *Legionella pneumophila* in dilute metalworking fluids. *Tribiol Int* 2003;22:213–217. [https://doi.org/10.1016/0301-679X\(89\)90159-X](https://doi.org/10.1016/0301-679X(89)90159-X)

FALKINHAM, J. O. Mycobacterial aerosols and respiratory disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9:763–767. <https://doi.org/10.3201/eid0907.020415>

FALKINHAM, J. O.. Effects of biocides and other metal removal fluid constituents on *Mycobacterium immunogenum*. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:2057–2061. <https://doi.org/10.1128/AEM.02406-08>

FLEMMING, H. C.; WINDENGER, J. Extracellular polymeric substances (EPS): the biofilm construction material. In: Weber J, Sand W (eds) *Biofouling and materials*: EDMZ, COST 520 workshop. EDMZ, Bern, 1999:2–18

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>

FOLTZ, G. Corrosion and Metalworking Fluids. *Production Machining*, Article From: 5/15/2003, disponível em: <http://www.productionmachining.com/articles/corrosion-andmetalworking-fluids>. Acessado em 10/10/2014.

FOX J, et al. Metal working fluid-associated hypersensitivity pneumonitis: an outbreak investigation and case-control study. *Am J Ind Med*; 1999;35:58–67. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199901\)35:1<58::AID-AJIM8>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199901)35:1<58::AID-AJIM8>3.0.CO;2-5)

FOX, N. J.; STACHOWIAK, G. W. Vegetable oil-based lubricants—a review of oxidation. *Tribol Int* 2007;40:1035–1046. <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2006.10.001>

FOXALL-VANAKEN, S.; et al. Common components of industrial metalworking fluids as sources of carbon for bacterial growth. *Appl Environ Microbiol* 1986;51:1165–9. <https://doi.org/10.1128/AEM.51.6.1165-1169.1986>

FRANCO, S. D. *Contribuição ao Estudo do Desgaste Abrasivo de Materiais Polifásicos*; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, MG, Brasil, 1989.115p.

GAUTHIER, S. L. Metalworking fluids: oil mist and beyond. *Appl Occu Environ Hyg* 2003;18:818–824. <https://doi.org/10.1080/10473220390237313>

GILBERT, Y.; VEILLETTE, M.; DUCHAINE, C. Metalworking fluids biodiversity characterization. *J. Appl. Microbiol* 2010;108:437–449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04433.x>

GOMES, R. C.; et al. “*Correlação entre baixas temperaturas e o controle da contaminação microbiana nos fluidos de corte*”. In: 4º COBEF - Congresso Brasileiro de Fabricação, Águas de São Pedro – SP, abril de 2007.

GORDON, T. Dose-dependent pulmonary effects of inhaled endotoxin in guinea pigs. *Environ Res* 1992;59: 416–426. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80045-3](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80045-3)

GORDON, T.; et al. *Mycobacterium immunogenum* causes hypersensitivity pneumonitis-like pathology in mice. *Inhal Toxicol* 2006;18:449–456. <https://doi.org/10.1080/08958370600563904>

Grub, A. M.; Finzi, M. B. A.; Ribas, R. M.; Machado, Á. R. *Evaluation of the Performance of Contaminated Cutting Fluids when Turning AISI 304 Austenitic Stainless Steel*. LUBMAT 2014 - Lubrication, Maintenance and Tribotechnology Conference & Exhibition, 25-27 June 2014, Manchester, UK.

GRUB, A. M.; FINZI, M. B. A.; MACHADO, A. R. **Avaliação das Forças de Usinagem no Processo de Torneamento Utilizando Fluidos de Corte Contaminados Por Microrganismos**, aceito no CONEM 2014 – Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, 10-15 Agosto 2014, Uberlândia-MG. BR.

GUPTA, A.; ROSENMAN, K. D. Hypersensitivity pneumonitis due to metal working fluids: sporadic or under reported? *Am. J. Ind Med.* 2006;49:423– 433. <https://doi.org/10.1002/ajim.20312>

HODGSON, M. J. Hypersensitivity pneumonitis in a metalworking environment. *Am. J. Ind. Med.* 2001;39:616 – 628. <https://doi.org/10.1002/ajim.1061>

HOFFMAN, P. C.; et al. Two outbreaks of sternal wound infection due to organisms of the *Mycobacterium fortuitum* complex. *J Infect Dis* 1981;143:533–542. <https://doi.org/10.1093/infdis/143.4.533>

HOLT, J. G. (ed), *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9. ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD. 1994.

HONG, S. Y.; BROOMER, M. Economical and ecological cryogenic machining of AISI 304 austenitic stainless steel. *Clean Prod Proc.* 2000;2:157–166. <https://doi.org/10.1007/s100980000073>

HOWELL, J.K.; LUCKE, W. E.; STEIGERWALD, J. C. 1996. Metalworking fluids: composition and use, p 13–20. *In Proceedings of the Industrial Metalworking Environment—Assessment and Control*, 13 to 16 November 1995, Dearborn, MI.

de HOOG, G. S. *Atlas of clinical fungi*, 2. ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands. 2000.

IOWA WASTE REDUCTION CENTER. *Cutting Fluid Management in Small Machine Shop Operations* – 2. ed. (Cedar Falls, Iowa: University of Northern Iowa,), 1996; 51 p.

JEFFERSON K. K. Bacterial contamination of preserved and non-preserved metal working fluids. *Int J Hyg Environ Health*. 2005;208:467–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2005.09.001>

KHAN, U. H. I.; YADAV, J. S. Real-time PCR assays for the genus-specific detection and quantification of culturable and non-culturable mycobacteria and pseudomonads in metalworking fluids. *Mol Cell Prob* 2004;18:67–73. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2003.09.004>

KOCH, T. Auswirkungen des mikrobiellen Befalls von wassergemischten Kühlschmierstoffen auf das Zerspanergebnis (Teil 3). *Härtereitechnische Mittl. HTM* 2008;63:115–132. <https://doi.org/10.3139/105.100451>

KOCH, T.; PASSMAN, F.; RABENSTEIN, A. Comparative study of microbiological monitoring of water-miscible metalworking fluids. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2015;98:19–25. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.11.015>

KORKUT, I.; et al. Determination of optimum cutting parameters during machining of AISI 304 austenitic stainless steel, *Materials & Design* 2004;25:303–305. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2003.10.011>

KREISS, K.; COX-GANSER, J. Metalworking fluid-associated hypersensitivity pneumonitis: a workshop summary. *Am. J. Ind. Med.* 1997;32:423–432. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199710\)32:4<423::AID-AJIM16>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199710)32:4<423::AID-AJIM16>3.0.CO;2-5)

KURAM E.; OZCELIK B.; DEMIRBAS E. Environmentally Friendly Machining: Vegetable Based Cutting Fluids. In: J. P. Davim (ed.), *Green Manufacturing Processes and Systems, Materials Forming*, 23 *Machining and Tribology* 2013. p. 23-47. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33792-5_2

KURITSKY, J. N.; et al. Sternal wound infections and endocarditis due to organisms of the *Mycobacterium fortuitum* complex. *Ann Intern Med* 1983;98:938–939. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-98-6-938>

LAITINEN, S., et al. Endotoxins and IgG antibodies as indicators of occupational exposure to the microbial contaminants of metalworking fluids. *Int Arch Occup Environ Health* 1999;72:443–50. <https://doi.org/10.1007/s004200050397>

LIMA, H. V. *Análise do comportamento do fluido de corte recuperado reformulado no Processo de retificação*. 2013. 117p. Dissertação de Mestrado. Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

LODDERS, N., KÄMPFER, P., A combined cultivation and cultivation-independent approach shows high bacterial diversity in water-miscible metalworking fluids. *Syst. Appl. Microbiol.* 2012;35:246–252. <http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2012.03.006>.
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.03.006>

LONON, M. K.; ABANTO, M.; FINDLAY, R. H. A pilot study for monitoring changes in the microbiological component of metalworking fluids as a function of time and use in the system. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1999;60:480–485. [https://doi.org/10.1202/0002-8894\(1999\)060<0480:APSFMC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1202/0002-8894(1999)060<0480:APSFMC>2.0.CO;2)

LUCCHESI, E. G.; EGUCHI, S. Y.; MORAES, A. M. Influence of a triazine derivative-based biocide on microbial biofilms of cutting fluids in contact with different substrate. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2012. doi:10.1007/s10295-011-1081-x. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-1081-x>

LUTEY, R. W.; Process cooling water. In: *Handbook of Biocide and Preservative Use*. Rossmore, H.W. Editora Blackic Academic & Professional, 1995:51-82. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1354-0_3

MACHADO, A. R.; COELHO, R. T.; ABRÃO, A. M.; SILVA, M. B. *Teoria da Usinagem dos Materiais*. São Paulo: EdgardBlücher. 2011. 384 p.

MALEQUE, M. A.; MASJUKI, H. H.; SAPUAN, S. M. Vegetable-based biodegradable lubricating oil additives. *Industrial Lubrications and Tribology.* 2003;55(3);137-143. <https://doi.org/10.1108/00368790310470976>

MANG, T.; FREILER, C.; HÖRN, D.. Metalworking Fluids In: *Lubricants and Lubrication*. 2007;384–521.

MATTSBY-BALTZER. I.; et al. Microbial growth and accumulation in industrial metalworking fluids. *Appl Environ Microbiol*. 1989;55:2681–9. <https://doi.org/10.1128/AEM.55.10.2681-2689.1989>

MOORE, S. J.; et al. Mycobacterial contamination of metalworking fluids: involvement of a possible new taxon of rapidly growing mycobacteria. *AIHA J* 200061, 205–213. <https://doi.org/10.1080/15298660008984529>

MUILENBERG, M. L., BERGE, H. A., SWEET, T. Hypersensitivity pneumonitis and exposure to acid-fast bacilli in coolant aerosols. *J. Allergy Clin. Immunol*. 1993;91:311

MURAT, J. B.; et al. Factors influencing the microbial composition of metalworking fluids and potential implications for machine operator's lung. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:34–41. <https://doi.org/10.1128/AEM.06230-11>

NARAYAN, R. A. O. S.; SATYANARAYANA, B.; VENKATASUBBAIAH, K. Experimental investigation of microbial contamination of nano cutting fluids with Cnt inclusion. *G J Res Eng* 2011;11

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. *Metalworking fluids: recommendation for chronic inhalation studies*. NIOSH, Cincinnati 2001.

O'BRIEN, D. M. Aerosol mapping of a facility with multiple cases of hypersensitivity pneumonitis: demonstration of mist reduction and a possible dose/response relationship. *Appl. Occup. Environ. Hyg*. 2003;18:947–952. <https://doi.org/10.1080/10473220390237656>

PASSMORE, M.; COSTERTON, J. W. Biofilms, bacterial signaling, and their ties to marine biology. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2003;30(7):407–413. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0069-6>

PASSMAN, F. J., 1988. Starting from scratch: microbial problems in metalworking fluid. *Lubr. Eng.* 44, 431–433.

PASSMAN, F.J., Microbiology of metalworking fluids. In: Byers, J. (Ed.), *Metalworking Fluids*, second ed. CRC Press, Boca Raton, 2006:195-229.

PASSMAN, F. J. Metalworking fluid Microbes—what we need to know to successfully understand cause-and-effect relationships. *Tribol. Trans.* 2008;51:107–117. <https://doi.org/10.1080/10402000701691720>

PERKINS, S. D.; ANGENENT, L. T. Potential pathogenic bacteria in metalworking fluids and aerosols from machining facility. *FEMS Microbiol Ecol* 2010;74:643–654. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00976.x>

PICARDEAU, M.; et al. Genotypic characterization of five subspecies of *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol* 1997;35:25–32. <https://doi.org/10.1128/JCM.35.1.25-32.1997>

RABENSTEIN, A.; et al. Microbial degradation of water miscible metal working fluids. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2009;63:1023–1029. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.07.005>

RAKIC, R.; RAKIC, Z. The influence of metal working fluids on machine tool failures. *Wear* 2002;252:438–444. [https://doi.org/10.1016/S0043-1648\(01\)00890-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1648(01)00890-0)

ROBERTSON, A. S.; WEIR, D. C.; SHERWOOD BURGE, P. Occupational asthma due to oil mists. *Thorax* 1988;43:200–205. <https://doi.org/10.1136/thx.43.3.200>

ROBERTSON, W., et al. Clinical investigation of an outbreak of alveolitis and asthma in a car engine manufacturing plant. *Thorax* 2007;62:981–990. <https://doi.org/10.1136/thx.2006.072199>

RHODES, G.; et al. Implementation of a quantitative real-time PCR assay for the detection of *Mycobacterium immunogenum* in metalworking fluids. *J Occup Environ Hyg* 2011;8:478–483. <https://doi.org/10.1080/15459624.2011.590737>

ROSENMAN, K. D. Asthma, hypersensitivity pneumonitis and other respiratory diseases caused by metalworking fluids. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009;9:97–102. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e3283229f96>

ROSSMOORE, L. A.; ROSSMOORE, H. W. Metalworking fluid microbiology. In: Byers, editor. *Metalworking fluids*. New York: Marcel Decker Inc.; 1994;247–71.

ROSSMOORE, H. W. Microbiology of metalworking fluids: deterioration, disease and disposal. *J Soc Triobio Lub Eng* 1995;51:112–118

SAHA, R.; DONOFRIO, R. S.; BAGLEY S. T. Development of a real-time TaqMan assay to detect *mendocina* sublineage *Pseudomonas* species in contaminated metalworking fluids. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol* 2010a;37:843–848. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0731-8>

SAHA, R.; et al. *Pseudomonas oleovorans* subsp. *lubricantis* subsp. nov., and reclassification of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* ATCC 17440T as later synonym of *Pseudomonas oleovorans* ATCC 8062T. *Curr Microbiol* 2010b;60:294–300. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9540-6>

SAHA, R.; DONOFRIO, R.; BAGLEY, S. Quantitative real-time PCR detection of *Pseudomonas oleovorans* subsp. *lubricantis* using TaqMan-MGB assay in contaminated metalworking fluids. *Int Biodeterior Biodegrad* 2011a;65:460–464. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.10.013>

SAHA, R.; et al. Rapid detection of rRNA group I pseudomonads in contaminated metalworking fluids and biofilm formation by fluorescent in situ hybridization. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011b. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3647-y>

SAHA, R.; DONOFRIO, R. S., The microbiology of metalworking fluids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012;94:1119–1130. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4055-7>
<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4055-7>

SALMON, S. C. Metal Cutting Processes. In: Byers, J. (Ed.), *Metalworking Fluids*, second ed. CRC Press, Boca Raton, 2006:47–73.

SANDIN, M.; ALLENMARK, S.; EDEBO, L. Selective toxicity of alkanolamines. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:491–493. <https://doi.org/10.1128/AAC.34.3.491>

SANDIN, M.; MATTSBYBALTZER, I.; EDEBO, L. Control of microbial-growth in water-based metal-working fluids. *International Biodeterioration*. 1991;27:2761-74. [https://doi.org/10.1016/0265-3036\(91\)90024-L](https://doi.org/10.1016/0265-3036(91)90024-L)

SCHULZE-ROßBECKE, R.; JANNING, B.; FISCHER, R. Occurrence of mycobacteria in biofilm samples. *Tubercule Lung Dis* 1992;73:141–144. [https://doi.org/10.1016/0962-8479\(92\)90147-C](https://doi.org/10.1016/0962-8479(92)90147-C)

SELVARAJU, S. B.; KHAN, I. U. H.; YADAV, J. S. Biocidal activity of formaldehyde and nonformaldehyde biocides toward *Mycobacterium immunogenum* and *Pseudomonas fluorescens* in pure and mixed suspensions in synthetic metalworking fluid and saline. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:542–546. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.542-546.2005>

SELVARAJU, S. B.; KAPOOR, R.; YADAV, J. S. Peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization (PNA-FISH) assay for specific detection of *Mycobacterium immunogenum* and DNA-FISH assay for analysis of pseudomonads in metalworking fluids and sputum. *Molec Cell Probes* 2008a;22:273–280. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2008.06.002>

SELVARAJU, S. B.; KHAN, I. U. H.; YADAV, J. S. Differential biocide susceptibility of the multiple genotypes of *Mycobacterium immunogenum*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2008b;35:197–203. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0286-5>

SELVARAJU, S. B.; KHAN, I. U. H.; YADAV, J. S. Susceptibility of *Mycobacterium immunogenum* and *Pseudomonas fluorescens* to formaldehyde and non-formaldehyde biocides in semi-synthetic metalworking fluids. *Int. J. Mol. Sci.* 2011;12:725–741. <https://doi.org/10.3390/ijms12010725>

SILCOX, V. A.; GOOD, R. C.; FLOYD, M. M. Identification of clinically significant *Mycobacterium fortuitum* complex isolates. *J Clin Microbiol* 1981;14:686–691. <https://doi.org/10.1128/JCM.14.6.686-691.1981>

SKERLOS, S. J.; et al. Model of biomass concentration in metalworking fluid reservoir subject to constant biofilm contamination during membrane filtration to control microorganism growth. *T NAMRI/SME XXIX* 2001:229–234

SLOYER, J. L.; NOVITSKY, T. J.; NUGENT, S. Rapid bacterial counts in metalworking fluids. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2002;29:323–324. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000305>

SONDOSSI, M.; ROSSMOORE, H. W.; WIREMAN, J. W. Regrowth of *Pseudomonas aeruginosa* following treatment with formaldehyde condensate biocide. *Dev Ind Microbiol* 1984;25:515–522

STEWART, P. S.; COSTERTON, J. W. Antibiotic resistance in bacteria in biofilms. *Lancet* 2001;358:135–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1)

SUURONEN, K.; et al. Occupational dermatitis and allergic respiratory diseases in Finnish metalworking machinists. *Occup. Med. (Lond.)* 2007;57:277–283. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqm011>

SZABO, I.; SARKOZI, K. *M. chelonae* endemy after heart surgery with fatal consequences. *Am Rev Respir Dis* 1980;121:607. <https://doi.org/10.1164/arrd.1980.121.3.607>

TILLIE-LEBLOND, I., et al. Hypersensitivity pneumonitis and metalworking fluids contaminated by mycobacteria. *Eur. Respir. J.* 2011;37:640 – 647. <https://doi.org/10.1183/09031936.00195009>

THORNE, P. S.; DEKOSTER, J. A. Pulmonary effects of machining fluids in guinea pigs and mice. *Am Ind Hyg Assoc J* 1996;57:1168–1172. <https://doi.org/10.1080/15428119691014297>

THORNE, P. S. Inhalation toxicology models of endotoxin- and bioaerosol-induced inflammation. *Toxicology* 2000;152:13–23. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00287-0](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00287-0)

THORNE, P. S.; et al. Metalworking fluid with mycobacteria and endotoxin induces hypersensitivity pneumonitis in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:759–768. <https://doi.org/10.1164/rccm.200405-627OC>

THEAKER, D.; THOMPSON, I. P., In: Timmis KN, de Lorenzo V, McGenity T & van der Meer JR. Eds. In: Timmis KN, de Lorenzo V, McGenity T & van der Meer JR. Eds. *Handbook of Hydrocarbons & Lipid Microbiology*. Springer, Berlin 2010:2642-2649.

TRAFNY, E. A.; et al. Microbial contamination and biofilms on machines of metal industry using metalworking fluids with or without biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2015;99:31-38. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.12.015>

TROUT, D.; et al. Evaluation of hypersensitivity pneumonitis among workers exposed to metal removal fluids. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 2003;18, 953–960. <https://doi.org/10.1080/10473220390237683>

van der GAST, C.; et al. Identification and characterization of bacterial populations of an in-use metalworking fluid by phenotypic and genotypic methodology. *Intl Biodet Biodeg* 2001;47:113–123. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(01\)00036-1](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(01)00036-1)

van der GAST, C. J.; et al. Bacterial community structure and function in a metalworking fluid. *Environ Microbiol* 2003;5:453–461. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00428.x>

van der GAST, C. J.; THOMPSON, I. P. Effects of pH amendment on metal working fluid wastewater biological treatment using a defined bacterial consortium. *Biotechnol Bioeng* 2004;89(3):357–366. <https://doi.org/10.1002/bit.20351>

VEILLETTE, M.; et al. Six month tracking of microbial growth in a metal removal fluid after system cleaning and recharging. *Ann. Occup. Hyg.* 2004;48:541–546.

VILLANEUVA, A.; et al. Report on an outbreak of postinjection abscesses due to *Mycobacterium abscessus*, including management with surgery and clarithromycin therapy and comparison of strains by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1997;24:1147–1153. <https://doi.org/10.1086/513656>

VIRJI, M. A.; et al. Identifying the determinants of viable microorganisms in the air and bulk metalworking fluids. *AIHA J* 2000;61:788–797. [https://doi.org/10.1202/0002-8894\(2000\)061<0788:ITDOVM>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1202/0002-8894(2000)061<0788:ITDOVM>2.0.CO;2)

ZACHARISEN, M. C.; et al. The spectrum of respiratory disease associated with exposure to metal working fluids. *J. Occup. Environ. Med.* 1998;40:640–647. <https://doi.org/10.1097/00043764-199807000-00010>

WALLACE, J. R.; et al. Presence of a single genotype of the newly described species *Mycobacterium immunogenum* in industrial metalworking fluids associated with hypersensitivity pneumonitis. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:5580–5584. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5580-5584.2002>

WATT, W. D. Observations on the relationship between triazines and mycobacteria in metal removal fluids. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 2003;18:961–965. <https://doi.org/10.1080/10473220390237692>

WEISS, L.; et al. Respiratory illness in workers exposed to metalworking fluid contaminated with nontuberculous mycobacteria—Ohio, 2001. *JAMA* 2002;287:3073–3074. <https://doi.org/10.1001/jama.287.23.3073>

WEAVER, L.; MICHELS H. T.; KEEVIL, C. W. Potential for preventing spread of fungi in air-conditioning systems constructed using copper instead of aluminium. *Lett. Appl. Microbiol.* 2010;50:18–23. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02753.x>

WEINGAERTNER, W. L.; SCHROETER, R. B. *Tecnologia de usinagem do alumínio e suas ligas: tornerar, fresar, furar e serra*. 2. ed. São Paulo: Alcan Alumínio do Brasil, 1991. 79 p.

WILLS, A. J.; BOTT, T. R.; Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* biofilm development by hydrogen peroxide. In: *Understanding heat exchanger fouling and its mitigation*. Ciocco Conference Center, Itália. 1997.

WILSON, R. W.; et al. *Mycobacterium immunogenum* sp. nov., a novel species related to *Mycobacterium abscessus* and associated with clinical disease, pseudo-outbreaks and contaminated metalworking fluids: an international cooperative study on mycobacterial taxonomy. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001;51:1751–1764. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-5-1751>

WIMPENNY, J. W. T.; PETERS, A.; SCOURWELD, M. A. The physiology and biochemistry of biofilm. In: Characklis, W. G.; Wilderer, P. A. (eds) *Structure and function of biofilms*. Wiley, New Jersey, 1993:111–127

WOLINSKY, E.; RYNEARSON, T. K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968;97:1032–1037.

WOSKIE, S. R.; et al. Exposure assessment for a field investigation of the acute respiratory effects of metalworking fluids. *I Summary of findings. AIHAJ* 1996;57:1154–62. <https://doi.org/10.1080/15428119691014279>

XU, K. D.; MCFETERS, G. A.; STEWART, P. S. Biofilm resistance to anti-microbial agents. *Microbiology* 2000;146:547–549. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-3-547>

APÊNDICE 1

Questionário distribuído nas indústrias para análise das condições de saúde de operadores de máquinas

Nome:	Idade:
Tempo de serviço: _____ (meses)	
Fumante: () S / () N	Passado: () S / () N
Queixa respiratória: () S / () N	Relacionada ao serviço: () S / () N
Dispneia: () S / () N	Febre: () S / () N
Chiado: () S / () N	Calafrios: () S / () N
Tosse: () S / () N (Especificar período abaixo)	
Inverno manhã: () S / () N	Diuturno inverno: () S / () N
Verão manhã: () S / () N	Diuturno verão: () S / () N
Bronquite crônica: () S / () N	

Caracterização das máquinas operatrizes

Características	Máquinas-ferramenta		
	Indústria "A"	Indústria "B"	Indústria "C"
Início do estudo	Jul/2011	Mar/2012	Jul/2013
Término do estudo	Fev/2013	Dez/2013	Ago/2013
Distribuição do fluido			
	Célula individual	+	+
	Centralizada	-	+
Tipo de operação			
	CNC*	+	+
	Mecânica	-	-
Tipo de usinagem			
	Retífica	+	+
	descascadeira	-	-
	Furação	+	+
	torneamento	+	+
Posição do reservatório			
	Na máquina	+	+
	Subsolo	-	+
Capacidade dos reservatório			
	<100 Litros (L)	+	+
	De 100 a 1000 L	-	+
	1000 a 5000 L	-	-
	>5000 L	-	+
Tempo Geral de uso da máquina (desde a aquisição)			
	Até 12 meses	-	+
	< 5 anos	+	+
	De 5 a 10 anos	+	+
	> 10 anos	+	+
Recebe visita técnica fornecida pelo fabricante			
	Não recebe	+	-
	Semanalmente	-	+
	Mensalmente	-	+
	Anualmente	-	-
Manutenções (parada para limpeza interna)			
	30 dias	+	-
	Até 6 meses	+	+
	Até 12 meses	+	-
	> 12 meses	+	-
Adição de FC antes da manutenção ^a			
	<15% volume	+	+
	<30% volume	-	+
	<50% volume	-	-
Regime de trabalho			
	8 horas/dia	+	-
	12hs/dia	-	-
	24hs	-	+
Barreira de Proteção entre a CNC e o operador			
	Com	+	+
	Sem	+	-