

Universidade do Vale do Paraíba  
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Paula Macedo Gonçalves

**ENGENHARIA DE FORMULAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE FLUIDO  
SINTÉTICO DE CORTE ASSOCIADO AOS IMPACTOS NA SAÚDE  
OCUPACIONAL**

**FORMULATION ENGINEERING IN THE DEVELOPMENT OF SYNTHETIC  
CUTTING FLUID ASSOCIATED WITH OCCUPATIONAL HEALTH IMPACTS**

São José dos Campos  
2026

Paula Macedo Gonçalves

**ENGENHARIA DE FORMULAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE FLUIDO  
SINTÉTICO DE CORTE ASSOCIADO AOS IMPACTOS NA SAÚDE  
OCUPACIONAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Engenharia  
Biomédica, como complementação dos  
créditos necessários para obtenção do grau de  
Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maiara Lima Castilho

São José dos Campos, SP  
2026

## **TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA**

### **Ficha catalográfica**

Gonçalves, Paula Macedo

Engenharia de formulação no desenvolvimento de fluido sintético de corte associado aos impactos na saúde ocupacional / Paula Macedo Gonçalves; orientadora, Maiara Lima Castilho. – São José dos Campos, SP, 2026.

1 CD-ROM, 94 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

1. Engenharia Biomédica. 2. Alcanolaminas. 3. Biofilmes. 4. Fluidos de corte. 5. Saúde ocupacional. I. Castilho, Maiara Lima, orient. II. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. III. Título.

Eu, Paula Macedo Gonçalves, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 11 de Maio de 2026.



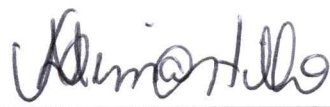
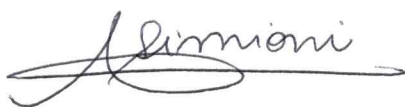
Autor(a) da Obra

Data da defesa: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PAULA MACEDO GONÇALVES

Engenharia de formulação no desenvolvimento de  
fluido sintético de corte associado aos impactos na  
saúde ocupacional.

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

|                                                                           |                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Maiara Lima Castilho                  |    |
| Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Andreza Ribeiro Simioni               |   |
| Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Ana Maria do Espírito Santo - Unifesp |  |

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 06 de março de 2026.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta dissertação ao Vitor Gabriel Poli de Lima, meu querido companheiro de Mestrado, cuja presença, ainda que breve, deixou uma marca eterna. Inteligente, dedicado e sonhador, Vitor caminhava com coragem pelo mundo da ciência, com o coração voltado para ensinar e inspirar. Durante nosso primeiro ano de Mestrado, compartilhamos não apenas estudos e pesquisas, mas também amizade, confiança e encorajamento mútuo. Sua partida inesperada trouxe uma dor imensa, mas também um legado de dedicação, brilho e humanidade que permanece vivo em minhas lembranças. Que esta conquista seja também uma homenagem à sua memória.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que tornaram possível a realização desta dissertação.

Aos alunos do Laboratório de Bionanotecnologia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, agradeço a dedicação, entusiasmo e parceria durante a realização dos testes e ensaios, que tornaram possível o desenvolvimento desta pesquisa.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Maiara Lima Castilho, meu sincero agradecimento pela orientação atenta, paciência, incentivo constante e confiança no meu potencial, fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Ao meu marido, pelo apoio incondicional, por assumir as responsabilidades em casa e pelos cuidados com nossos filhos durante os períodos em que precisei me dedicar integralmente aos ensaios, aulas e estágio docente. Sem sua presença e compreensão, nada disso teria sido possível.

Agradeço também à Yushiro do Brasil, que permitiu minha ausência do trabalho para o cumprimento dos créditos do Mestrado e realização dos ensaios, e em especial ao Rafael Geminianni, por acreditar no meu potencial, me incentivar a superar desafios e sempre me motivar a ir além.

A todos vocês, meu profundo e sincero agradecimento. Cada gesto, apoio e palavra de incentivo teve papel decisivo nesta jornada.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

A pesquisa contribui para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 3 (Saúde e Bem-Estar), 6 (Água Potável e Saneamento), 8 (Trabalho Decente e Crescimento Econômico), 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura), 12 (Consumo e Produção Responsáveis) e 13 (Ação Climática). Ao investigar a engenharia de formulação no desenvolvimento de fluidos sintéticos de corte e sua relação com impactos na saúde ocupacional, o estudo posiciona o projeto de formulações industriais como estratégia preventiva para mitigação de riscos biológicos em ambientes metalmecânicos.

- 1) Científica e técnica: o trabalho estabelece uma relação estrutura–atividade (SAR) para alcanolaminas por meio da integração entre espectroscopia FT-Raman e avaliação microbiológica quantitativa. Essa abordagem permite identificar características estruturais associadas à estabilidade microbiológica das formulações, fornecendo base científica para a seleção racional de componentes em fluidos de corte.
- 2) Social: o desenvolvimento de formulações com maior estabilidade microbiológica pode reduzir a exposição ocupacional a bioaerossóis e endotoxinas presentes em fluidos contaminados, contribuindo para a diminuição de dermatites ocupacionais e doenças respiratórias, incluindo pneumonite por hipersensibilidade. A redução dessas enfermidades também pode favorecer a sustentabilidade econômica dos sistemas públicos de saúde ao diminuir afastamentos laborais e demandas assistenciais relacionadas a doenças respiratórias ocupacionais.
- 3) Tecnológica e econômica: a pesquisa introduz parâmetros técnicos para o desenvolvimento de fluidos sintéticos de corte mais estáveis e menos dependentes de biocidas potencialmente tóxicos, ampliando a vida útil operacional das formulações e reduzindo custos associados à contaminação microbiológica, descarte de fluidos e interrupções produtivas.
- 4) Educacional e cultural: o estudo fortalece a formação interdisciplinar em Engenharia Biomédica ao integrar química de formulações, microbiologia aplicada e saúde ocupacional, contribuindo para consolidar a biossegurança industrial como componente estratégico da engenharia de processos.
- 5) Internacionalização e inserção local: a adoção de protocolos reconhecidos internacionalmente favorece a reprodutibilidade dos dados, a comparação com a literatura e a projeção científica do estudo, ao mesmo tempo em que amplia seu potencial de aplicação na indústria regional e nacional.
- 6) Desenvolvimento sustentável: de forma integrada, a pesquisa promove inovação tecnológica aplicada,

melhoria das condições de trabalho e racionalização do uso de insumos químicos, articulando saúde ocupacional, eficiência produtiva e sustentabilidade ambiental na engenharia de fluidos industriais.



## POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research contributes to the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 3 (Good Health and Well-Being), SDG 6 (Clean Water and Sanitation), SDG 8 (Decent Work and Economic Growth), SDG 9 (Industry, Innovation and Infrastructure), SDG 12 (Responsible Consumption and Production), and SDG 13 (Climate Action). By investigating formulation engineering in the development of synthetic cutting fluids and their relationship with occupational health impacts, this study positions industrial formulation design as a preventive strategy for mitigating biological risks in metalworking environments.

1) Scientific and technical: The study establishes a structure–activity relationship (SAR) for alkanolamines through the integration of FT-Raman spectroscopy and quantitative microbiological evaluation. This approach allows the identification of structural characteristics associated with the microbiological stability of formulations, providing a scientific basis for the rational selection of components in metalworking fluids.

2) Social: The development of formulations with greater microbiological stability may reduce occupational exposure to bioaerosols and endotoxins present in contaminated fluids, contributing to the reduction of occupational dermatitis and respiratory diseases associated with exposure to cutting fluids, including hypersensitivity pneumonitis. The reduction of these conditions may also support the economic sustainability of public healthcare systems by decreasing work absenteeism and healthcare demand related to occupational respiratory diseases.

3) Technological and economic: This research introduces technical parameters that may guide the development of synthetic cutting fluids with greater microbiological stability and reduced dependence on potentially toxic biocides, extending operational fluid life and reducing costs associated with microbial contamination, fluid disposal, and production interruptions.

4) Educational and cultural: The study strengthens interdisciplinary training in Biomedical Engineering by integrating formulation chemistry, applied microbiology, and occupational health, contributing to the consolidation of industrial biosafety as a strategic component of process engineering.

5) Internationalization and local integration: The adoption of internationally recognized protocols enhances data reproducibility, facilitates comparison with the scientific literature, and supports the international projection of the study, while simultaneously increasing its potential application within regional and national industries.

6) Sustainable development: Overall, the research promotes

applied technological innovation, improvement of working conditions, and rational use of chemical inputs, integrating occupational health, industrial efficiency, and environmental sustainability within the engineering of industrial fluids.

## RESUMO

Fluidos de corte (FC) miscíveis em água favorecem a proliferação microbiana e a formação de biofilmes, comprometendo a estabilidade do fluido e aumentando riscos à saúde ocupacional. O controle convencional baseia-se em biocidas tóxicos, motivando a busca por alternativas baseadas em propriedades intrínsecas da formulação. Este trabalho avaliou a relação estrutura–atividade de alcanolaminas em fluidos de corte, investigando a influência de características moleculares na atividade microbiológica e na formação de biofilmes. Foram realizados ensaios in vitro com AMP, (2-amino-2-metilpropan-1-ol), DGA (2-(2-aminoetoxy)etanol), MIPA (2-aminopropan-1-ol) e FS (mistura comercial), utilizando espectroscopia FT-Raman, ensaio de resazurina e contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). As concentrações inibitórias mínimas variaram entre 2 e 4 mg·L<sup>-1</sup> e as bactericidas entre 2 e 8 mg·L<sup>-1</sup>. AMP e FS apresentaram maior atividade frente a *Escherichia coli*, enquanto MIPA foi mais ativa frente a *Staphylococcus aureus*. Em biofilme misto, AMP e FS apresentaram melhor desempenho global, MIPA efeito intermediário e DGA menor atividade. Observou-se tendência de melhor desempenho para moléculas mais ramificadas e menos hidratadas, dependente do microrganismo e do contexto experimental. A integração entre caracterização estrutural e avaliação microbiológica evidenciou que propriedades moleculares modulam o comportamento biológico das alcanolaminas. Os resultados indicam que a aplicação de princípios de relação estrutura–atividade na engenharia de formulação é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de fluidos de corte com maior biorresistência intrínseca, reduzindo a dependência de biocidas e contribuindo para a segurança ocupacional e a sustentabilidade industrial.

**Palavras-chave:** alcanolaminas; atividade antimicrobiana; biofilmes; fluidos de corte; saúde ocupacional.

## ABSTRACT

Water-miscible metalworking fluids (MWFs) are prone to microbial proliferation and biofilm formation, compromising fluid stability and increasing occupational health risks. Conventional control relies on toxic biocides, driving the search for safer alternatives based on intrinsic formulation properties. This study evaluated the structure–activity relationship (SAR) of alkanolamines in MWFs, investigating how molecular features influence antimicrobial activity and biofilm formation. In vitro assays were conducted using 2-amino-2-methylpropan-1-ol (AMP), 2-(2-aminoethoxy)ethanol (DGA), 2-aminopropan-1-ol (MIPA), and a commercial alkanolamine-based mixture (FS), combining FT-Raman spectroscopy, resazurin metabolic assay, and colony-forming unit (CFU) counting. Minimum inhibitory concentrations ranged from 2 to 4 mg·L<sup>-1</sup>, while bactericidal concentrations ranged from 2 to 8 mg·L<sup>-1</sup>. AMP and FS showed the highest activity against *Escherichia coli*, whereas MIPA was more effective against *Staphylococcus aureus*. In mixed-species biofilms, AMP and FS exhibited the best overall performance, MIPA showed intermediate effects, and DGA presented the lowest activity. A general trend indicated improved antimicrobial performance for more sterically hindered and less hydrated molecules, although dependent on microbial species and experimental context. The integration of FT-Raman structural characterization with microbiological data demonstrated that molecular properties modulate the biological behavior of alkanolamines. These findings support the application of SAR principles in formulation engineering as a promising strategy to enhance intrinsic bioresistance in MWFs, reducing reliance on conventional biocides and contributing to improved occupational safety and industrial sustainability.

**Keywords:** alkanolamines; antimicrobial activity; biofilms; cutting fluids; occupational health.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Principais vias de exposição ocupacional associadas ao uso de fluidos de corte contaminados.....                                                                                                                                                                                                                                                      | 30 |
| Figura 2 – Etapas de formação do biofilme bacteriano e proteção conferida pela matriz polimérica extracelular. ....                                                                                                                                                                                                                                              | 34 |
| Figura 3 - Estrutura química das alcanolaminas. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 36 |
| Figura 4 - Fluxo metodológico para investigação da relação estrutura–atividade (SAR) de alcanolaminas em fluidos de corte com foco em estabilidade microbiológica. ....                                                                                                                                                                                          | 45 |
| Figura 5 – Esquema do processo de formulação do fluido de corte sintético.....                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 48 |
| Figura 6 - Fluxograma para a avaliação da formação de biofilmes mistos. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 53 |
| Figura 7 – Modelo conceitual da análise de relação estrutura–atividade (SAR) aplicada às alcanolaminas estudadas, integrando parâmetros estruturais físico-químicos e espectroscópicos com respostas microbiológicas experimentais. ....                                                                                                                         | 54 |
| Figura 8 - Espectros FT-Raman de amostras líquidas de alcanolaminas puras e formulações à temperatura ambiente: a) 2-amino-2-metilpropan-1-ol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) mistura comercial de alcanolaminas (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA). ....                                                                                             | 57 |
| Figura 9 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de soluções de alcanolamina contra <i>E. coli</i> . a) 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) Corrguard FS® (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA). Dados expressos como média $\pm$ DP (n = 3). ****p $\leq$ 0,0001 (ANOVA). ....                                    | 63 |
| Figura 10 – Atividade antimicrobiana de diferentes alcanolaminas (AMP, DGA, FS e MIPA) contra <i>Escherichia coli</i> . a) Tabela indicando a CIM (•) e a CBM (O) dos compostos testados. b) Aspecto macroscópico do ensaio em placas de Petri, evidenciando a presença ou ausência de colônias após a exposição às diferentes concentrações. ....               | 64 |
| Figura 11 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de soluções de alcanolamina contra <i>S. aureus</i> . a) 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) Corrguard FS® (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA). Dados expressos como média $\pm$ DP (n = 3). ****p $\leq$ 0,0001 (ANOVA). ....                                 | 65 |
| Figura 12 - a) Valores de CIM e CBM das alcanolaminas para <i>Staphylococcus aureus</i> . b) Ensaio de inibição em placas de ágar ilustrando os resultados macroscópicos. ....                                                                                                                                                                                   | 66 |
| Figura 13- Atividade antimicrobiana das formulações contendo alcanolaminas frente a <i>E. coli</i> em fase planctônica, avaliada por redução de resazurina (atividade metabólica) e contagem de UFC (log UFC·mL <sup>-1</sup> ), nas concentrações de 1–8 mg·L <sup>-1</sup> . Dados expressos como média $\pm$ DP (n = 3). ****p $\leq$ 0,0001 (ANOVA). ....    | 67 |
| Figura 14 - Atividade antimicrobiana das formulações contendo alcanolaminas frente a <i>S. aureus</i> em fase planctônica, avaliada por redução de resazurina (atividade metabólica) e contagem de UFC (log UFC·mL <sup>-1</sup> ), nas concentrações de 1–8 mg·L <sup>-1</sup> . Dados expressos como média $\pm$ DP (n = 3). ****p $\leq$ 0,0001 (ANOVA). .... | 68 |

|                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 15 – Representação esquemática das diferenças estruturais entre bactérias Gram-negativas ( <i>E. coli</i> ) e Gram-positivas ( <i>S. aureus</i> ), destacando possíveis modos de interação das alcanolaminas com as estruturas celulares.....         | 69 |
| Figura 16 – Atividade metabólica de biofilme misto (48 h) de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> formado na presença de formulações contendo alcanolaminas. Dados expressos como média $\pm$ DP (n = 3). ****p $\leq$ 0,0001 (ANOVA)..... | 70 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Principais classes de aditivos utilizados em fluidos de corte e suas funções.<br>.....                                                     | 23 |
| Tabela 2 – Composição qualitativa da formulação modelo de fluido de corte sintético<br>com variação da alcanolamina. ....                            | 46 |
| Tabela 3 - Atribuições vibracionais consolidadas das alcanolaminas e respectivos<br>produtos formulados (FT-Raman, 450–3500 cm <sup>-1</sup> ). .... | 58 |
| Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos e estruturais das alcanolaminas avaliadas..                                                                    | 72 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP – 2-amino-2-metilpropan-1-ol

ANOVA – Análise de Variância

ATCC – American Type Culture Collection

BHI – Brain Heart Infusion

CBM – Concentração Bactericida Mínima

CF – Cutting Fluid

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

DGA – Diglicolamina

DP – Desvio padrão

FC – Fluido de corte

FS – Corrguard FS®

FT-Raman – Espectroscopia Raman por Transformada de Fourier

LPS – Lipopolissacarídeo

MIPA – 2-aminopropan-1-ol

ODS – Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

pKa – Constante de dissociação ácida

UFC – Unidade Formadora de Colônia

QSAR – Relação Quantitativa Estrutura–Atividade

SAR – Relação Estrutura–Atividade



## LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{cm}^{-1}$  – Centímetro inverso (número de onda)

$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  – Grama por mol

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  – Miligrama por litro

$\log \text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$  – Logaritmo da concentração de unidades formadoras de colônia por mililitro

$\nu$  – Estiramento vibracional

$\delta$  – Deformação angular vibracional

$\Delta$  – Variação

$\pm$  – Mais ou menos

% – Porcentagem

$r$  – Coeficiente de correlação de Pearson

$p$  – Valor de significância estatística

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                         | <b>17</b> |
| 1.1 Objetivo geral.....                                                                                                           | 18        |
| 1.2 Objetivos Específicos .....                                                                                                   | 19        |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                                                                              | <b>20</b> |
| 2.1 Fluidos de Corte e sua Aplicação Industrial.....                                                                              | 20        |
| 2.2 Contaminação Microbiológica em Fluidos de Corte .....                                                                         | 24        |
| 2.3 Biofilmes Microbianos em Sistemas Industriais.....                                                                            | 27        |
| 2.5 Estratégias de Controle Microbiano em Fluidos de Corte.....                                                                   | 33        |
| 2.6 Alcanolaminas em Fluidos De Corte .....                                                                                       | 35        |
| 2.7 Atividade Microbiológica de Alcanolaminas .....                                                                               | 38        |
| 2.8 Relação Estrutura-Atividade Aplicada a Alcanolaminas .....                                                                    | 40        |
| 2.9 Caracterização Molecular por Espectroscopia FT-Raman .....                                                                    | 42        |
| <b>3 METODOLOGIA .....</b>                                                                                                        | <b>45</b> |
| 3.1 Diluição das Alcanolaminas .....                                                                                              | 46        |
| 3.2 Formulação do Fluido de Corte Sintético .....                                                                                 | 46        |
| 3.3 Caracterização Molecular das Alcanolaminas e das Formulações de Fluido de Corte .....                                         | 48        |
| 3.4 Microrganismos e Condições de Cultivo .....                                                                                   | 49        |
| 3.5 Avaliação da Atividade Antimicrobiana em Cultura Planctônica .....                                                            | 50        |
| 3.6 Avaliação da Formação de Biofilmes Mistos .....                                                                               | 52        |
| 3.7 Análise da Relação Estrutura-Atividade (SAR).....                                                                             | 53        |
| 3.8 Análise Estatística dos Dados.....                                                                                            | 55        |
| <b>4 Resultados E DISCUSSÕES.....</b>                                                                                             | <b>56</b> |
| <b>5 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                                           | <b>75</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                          | <b>77</b> |
| <b>ANEXO A – Termo de colaboração com empresa Yushiro do Brasil Ind. Quim. LTDA.....</b>                                          | <b>86</b> |
| <b>ANEXO B – XXIX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica.....</b>                                                           | <b>87</b> |
| <b>ANEXO C – 2º Science &amp; Business Connection realizado por PIT – Parque de Inovação Tecnológica São José dos Campos.....</b> | <b>88</b> |
| <b>ANEXO D – 3º Simpósio de Engenharia Biomédica realizado por Universidade do Vale do Paraíba.....</b>                           | <b>89</b> |
| <b>ANEXO E – XXIX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica realizado por Universidade do Vale do Paraíba .....</b>       | <b>90</b> |

|                                                                                                         |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ANEXO F – 4º Simpósio de Engenharia Biomédica realizado por Universidade do Vale do Paraíba.....</b> | <b>91</b> |
| <b>ANEXO G – Antimicrobial Chemotherapy Conference – ACC .....</b>                                      | <b>92</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Os fluidos de usinagem, também conhecidos como fluidos de corte (FC), são indispensáveis na indústria metalmeccânica, desempenhando funções cruciais como refrigeração, lubrificação, remoção de cavacos e proteção anticorrosiva de peças e ferramentas de corte <sup>1-3</sup>. No entanto, a utilização desses fluidos envolve desafios complexos, especialmente no que tange à saúde ocupacional dos trabalhadores e à sustentabilidade ambiental dos processos industriais. A exposição ocupacional aos FC é uma preocupação global, associada a uma série de problemas de saúde <sup>4</sup>. Durante as operações de usinagem, a geração de aerossóis, névoas e vapores contendo componentes do fluido e contaminantes biológicos representam um risco considerável. A inalação desses aerossóis pode desencadear diversas doenças respiratórias, como asma ocupacional, bronquite crônica e, de forma mais grave, a pneumonite por hipersensibilidade (PH), popularmente conhecida como "pulmão de mecânico" <sup>5</sup>. Além disso, o contato dérmico direto e prolongado com os FC é uma causa comum de dermatites, tanto irritativas quanto alérgicas, que afetam significativamente a qualidade de vida dos trabalhadores, havendo ainda estudos epidemiológicos que sugerem um potencial aumento no risco de certos tipos de câncer em indivíduos cronicamente expostos <sup>6</sup>.

Um fator agravante e muitas vezes subestimado nesse contexto é a contaminação microbiológica dos fluidos de usinagem aquosos. A composição rica em nutrientes, associada às condições operacionais, cria um ambiente altamente favorável à proliferação de diversos microrganismos, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, espécies de *Pseudomonas*, *Mycobacterium immunogenum* e fungos <sup>7, 8</sup>. Essa contaminação não apenas compromete as propriedades físico-químicas do fluido, reduzindo sua eficácia e vida útil, mas também eleva substancialmente os riscos à saúde, uma vez que microrganismos e seus subprodutos metabólicos, como endotoxinas bacterianas e micotoxinas fúngicas, podem ser liberados nos aerossóis, intensificando respostas inflamatórias e alérgicas <sup>8-10</sup>. Particularmente insidiosa é a formação de biofilmes microbianos nas superfícies internas dos sistemas (tanques e tubulações), que são comunidades estruturadas em uma matriz polimérica extracelular (EPS) que conferem aos microrganismos uma resistência aumentada a biocidas e ao estresse ambiental <sup>11-14</sup>. Esses biofilmes atuam

como reservatórios contínuos de contaminação, agravando a degradação do fluido, causando biocorrosão de equipamentos e aumentando a exposição dos trabalhadores a bioaerossóis patogênicos <sup>15, 16</sup>.

Habitualmente, para mitigar tais riscos, a indústria tem recorrido ao uso extensivo de biocidas para controlar o crescimento microbiano. Porém, muitos desses compostos, especialmente os liberadores de formaldeído (como as triazinas), são classificados como carcinógenos humanos e conhecidos por serem irritantes e sensibilizantes <sup>17, 18</sup>. A citotoxicidade desses agentes representa um risco direto à saúde do operador, o que reforça a urgência por alternativas mais seguras <sup>19, 20</sup>. Diante deste cenário, as alcanolaminas (aminoálcoois) emergem como uma classe de compostos de particular interesse estratégico. Embora já sejam amplamente empregadas como inibidores de corrosão e ajustadores de pH, evidências crescentes sugerem que algumas alcanolaminas possuem propriedades antimicrobianas intrínsecas e potencial para inibir a formação de biofilmes <sup>22, 23</sup>. A exploração dessas propriedades pode oferecer um caminho para a formulação de fluidos com maior biorresistência, minimizando a dependência de biocidas tóxicos e os riscos ocupacionais. Este trabalho se justifica pela necessidade de preencher lacunas na literatura sobre a ação anti-biofilme de alcanolaminas, utilizando cepas de relevância clínica e industrial (*E. coli* e *S. aureus*) e integrando a caracterização molecular por espectroscopia FT-Raman. A motivação reside na busca por processos industriais mais sustentáveis e seguros, alinhando a eficiência tecnológica à proteção da saúde do trabalhador e à responsabilidade ambiental, conforme preconizado pelos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU.

## 1.1 Objetivo geral

Analisar a relação estrutura-atividade de diferentes alcanolaminas no desenvolvimento de fluidos de corte, avaliando como suas características moleculares influenciam a atividade microbiológica, a formação de biofilmes e os potenciais impactos associados à saúde ocupacional dos operadores.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar estruturalmente, por espectroscopia FT-Raman, as alcanolaminas selecionadas — 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA), 2-aminopropan-1-ol (MIPA) — e a mistura comercial Corrguard FS® (FS), visando à análise da relação estrutura-atividade.
- Formular amostras de fluido de corte (FC) sintético solúvel em água, garantindo estabilidade química das formulações e variando exclusivamente o tipo de alcanolamina empregada.
- Caracterizar, via espectroscopia FT-Raman, as formulações concentradas de fluido de corte sintético para identificar possíveis interações moleculares entre os constituintes da matriz.
- Avaliar comparativamente a atividade antimicrobiana das alcanolaminas (isoladas e incorporadas às formulações) frente a cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em estado planctônico, determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM).
- Avaliar a capacidade das alcanolaminas selecionadas em inibir a formação de biofilmes mistos de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em superfícies, correlacionando os resultados às características estruturais das moléculas.
- Estabelecer a correlação final entre as características estruturais das alcanolaminas, sua atividade microbiológica e os potenciais impactos na saúde ocupacional, visando o desenvolvimento de fluidos de corte mais seguros e bioresistentes.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A contaminação microbiológica é problema persistente e oneroso para a indústria metalmeccânica, impactando a estabilidade, o desempenho e a segurança dos fluidos de usinagem <sup>32</sup>. A suscetibilidade à contaminação varia conforme o tipo de fluido, sendo os sistemas aquosos os mais vulneráveis <sup>2,17,24</sup>. Microrganismos, incluindo bactérias e fungos, encontram nos fluidos de corte (FC) ambiente rico em nutrientes essenciais (carbono, nitrogênio, fósforo), água e temperaturas favoráveis (20–45 °C), favorecendo proliferação e formação de biofilmes <sup>2,24,37</sup>.

### 2.1 Fluidos de Corte e sua Aplicação Industrial

Os FC são empregados para aprimorar desempenho técnico, qualidade do produto final e eficiência operacional. Atuam na interface entre ferramenta, peça usinada e cavaco, fornecendo lubrificação e refrigeração durante a remoção de material. Essa atuação contribui para redução de atrito, controle térmico na zona de corte, estabilidade dimensional e melhor acabamento superficial das peças.

Os FC são classificados em duas categorias principais conforme sua solubilidade em água <sup>34,35</sup>. Fluidos integrais (não solúveis em água), também denominados óleos puros, são formulados a partir de óleos básicos de origem mineral, vegetal ou sintética, sem adição de água <sup>23,36</sup>. A ausência de fase aquosa proporciona elevada capacidade lubrificante e menor suscetibilidade à contaminação bacteriana, pois a água é requisito essencial para crescimento microbiano. Mesmo assim, óleos integrais não são totalmente imunes à contaminação. Introdução inadvertida de água ou condensação favorece o crescimento de fungos e leveduras. Alguns microrganismos metabolizam componentes orgânicos do óleo, formando subprodutos ácidos que degradam o fluido e aceleram corrosão e desgaste de equipamentos <sup>32,37</sup>. Já os Fluidos solúveis em água subdividem-se em Emulsões (Óleos Solúveis), Fluidos Semissintéticos (Microemulsões) e Fluidos Sintéticos.

As Emulsões constituem a classe mais utilizada na indústria metalmeccânica, especialmente em operações de severidade leve a moderada, devido à relação custo-benefício, boa lubrificação e familiaridade operacional. Formam emulsões óleo-em-água leitosas, contendo óleo mineral (30–85% no concentrado), água, emulsificantes,

inibidores de corrosão, agentes de lubricidade e biocidas <sup>23,36</sup>. As concentrações de uso geralmente variam de 3% a 10% de concentrado em água.

Do ponto de vista microbiológico, são os mais suscetíveis à contaminação entre os fluidos aquosos <sup>32,36</sup>. A fase aquosa sustenta crescimento microbiano, enquanto componentes orgânicos fornecem carbono e energia. Espécies aeróbias, como *Pseudomonas*, e anaeróbias, como bactérias redutoras de sulfato, são frequentemente detectadas. A atividade microbiana pode quebrar a emulsão, reduzir o pH, gerar odores desagradáveis e causar corrosão de componentes metálicos, além de promover biofilmes persistentes resistentes a biocidas <sup>24,32</sup>.

As Microemulsões formam categoria intermediária entre emulsões e fluidos sintéticos. Contêm menor fração de óleo mineral (5–30%) combinada com componentes sintéticos, como polímeros, ésteres e aditivos específicos <sup>23</sup>. Quando diluídos, formam microemulsões translúcidas ou semitransparentes.

Apesar do menor teor de óleo, permanecem suscetíveis à contaminação <sup>32</sup>. A presença de água e diversidade de componentes fornece substratos adequados ao desenvolvimento microbiano, podendo alterar a composição das comunidades predominantes, mas não elimina o risco de deterioração biológica <sup>33</sup>.

Já os Fluidos Sintéticos são totalmente isentos de óleo mineral, constituídos por soluções aquosas de polímeros sintéticos, sais inorgânicos, inibidores de corrosão e outros aditivos <sup>23</sup>. Após diluição, formam soluções transparentes, associadas à ausência de fase oleosa dispersa, aumentando estabilidade operacional e reduzindo formação de névoa. São geralmente os menos suscetíveis à contaminação, devido à ausência de óleo e menor biodegradabilidade de componentes. Ainda assim, podem ser colonizados por microrganismos capazes de metabolizar aditivos sintéticos ou introduzidos do ambiente. Biofilmes podem ocorrer, embora a composição microbiana difira de emulsões à base de óleo <sup>24,32</sup>.

De modo geral, a suscetibilidade à contaminação é característica intrínseca de fluidos miscíveis em água, variando conforme composição. Óleos integrais apresentam menor risco, emulsões minerais são mais vulneráveis, semissintéticos e sintéticos oferecem resistência intermediária. Compreender essas diferenças é essencial para estratégias eficazes de monitoramento e controle, prolongando vida útil, otimizando desempenho e protegendo trabalhadores e meio ambiente <sup>34,38</sup>.



A composição dos FC influencia diretamente propriedades tribológicas, térmicas, químicas e microbiológicas <sup>22</sup>. Os fluidos combinam uma base líquida oleosa, aquosa ou mista com aditivos selecionados para conferir funcionalidades específicas <sup>1,22,23</sup>. Nos integrais, a base é predominantemente oleosa; nos solúveis e sintéticos, a fase aquosa atua como meio contínuo, responsável principalmente pela remoção de calor. A seleção e equilíbrio adequado dos aditivos determinam eficiência, durabilidade e segurança do fluido <sup>39,40</sup>. As principais classes de aditivos empregados nessas formulações, bem como suas respectivas funções e mecanismos de atuação, estão detalhadas na Tabela 1.

Apesar dos benefícios tecnológicos associados à sua aplicação, o uso prolongado de fluidos de corte em ambientes industriais impõe desafios de natureza técnica, operacional, ocupacional e ambiental. Nos sistemas solúveis em água, a elevada atividade de água combinada à presença de compostos orgânicos biodegradáveis favorece a proliferação de bactérias, fungos e leveduras capazes de metabolizar constituintes da formulação <sup>2,24,41</sup>. A deterioração microbiológica resultante pode desencadear alterações significativas nas propriedades físico-químicas do fluido, incluindo variações de pH, degradação de emulsões, formação de odores desagradáveis e redução da capacidade lubrificante, além de intensificar processos corrosivos em peças e equipamentos <sup>24,41,42</sup>.

Paralelamente, a degradação química progressiva constitui fator adicional de instabilidade <sup>2,42</sup>. Reações de oxidação da fase oleosa, decomposição de aditivos funcionais e acúmulo de contaminantes, tais como partículas metálicas, cavacos e óleos estranhos (tramp oils), alteram o equilíbrio do sistema coloidal, comprometendo sua performance e exigindo monitoramento contínuo. Intervenções corretivas, como filtração, ajustes de concentração, reposição de aditivos ou substituição integral do fluido, tornam-se frequentemente necessárias, impactando custos operacionais e a previsibilidade do processo produtivo <sup>22,36</sup>.

Sob a perspectiva da saúde ocupacional, a degradação microbiológica e química dos fluidos assume relevância ainda maior <sup>2,12</sup>. A exposição prolongada a névoas, aerossóis e ao contato dérmico com fluidos contaminados ou degradados está associada a irritações cutâneas, distúrbios respiratórios e outras manifestações adversas, evidenciando a interface entre desempenho tecnológico e risco biomédico <sup>2,12,43</sup>.

Adicionalmente, aspectos ambientais relacionados ao tratamento e descarte de fluidos exauridos têm adquirido crescente importância regulatória e econômica. A complexidade composicional desses sistemas, frequentemente contendo misturas de hidrocarbonetos, aditivos nitrogenados e metabólitos microbianos, impõe desafios ao gerenciamento de resíduos e ao atendimento de normas ambientais. Nesse contexto, intensifica-se a busca por formulações mais estáveis, menos dependentes de agentes biocidas de elevada toxicidade e capazes de manter desempenho técnico ao longo de ciclos operacionais prolongados <sup>2,43</sup>.

Tabela 1: Principais classes de aditivos utilizados em fluidos de corte e suas funções.

(continua...)

| Classe de aditivo                                            | Função principal                                    | Mecanismo de atuação                                                                                        | Benefícios ao processo                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tensoativos e emulsificantes</b>                          | Estabilização da emulsão óleo-em-água               | Reduzem a tensão interfacial entre as fases oleosa e aquosa, impedindo a coalescência das gotículas de óleo | Estabilidade do fluido, uniformidade da lubrificação e maior vida útil da emulsão <sup>1,22,23,39,40</sup>          |
| <b>Aditivos anti-desgaste (AW) e de extrema pressão (EP)</b> | Redução do atrito e do desgaste sob cargas elevadas | Formam filmes triboquímicos protetores na interface ferramenta-peça                                         | Menor desgaste da ferramenta, aumento da vida útil e maior confiabilidade do processo <sup>1,22,23</sup>            |
| <b>Inibidores de corrosão</b>                                | Proteção de superfícies metálicas                   | Formação de camadas passivadoras neutralização de espécies corrosivas                                       | Prevenção da oxidação de peças, ferramentas e componentes da máquina <sup>1,10,22,23</sup>                          |
| <b>Biocidas e bacteriostáticos</b>                           | Controle microbiológico                             | Inibição do crescimento de bactérias, fungos e leveduras                                                    | Maior estabilidade microbiológica, redução de odores e preservação das propriedades do fluido <sup>2,24,38,41</sup> |

Tabela 1: Principais classes de aditivos utilizados em fluidos de corte e suas funções.

(conclusão)

| Classe de aditivo     | Função principal                   | Mecanismo de atuação                                       | Benefícios ao processo                                                                              |
|-----------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Antioxidantes</b>  | Estabilidade química da formulação | Retardam reações de oxidação da fase oleosa e dos aditivos | Redução da degradação química e prolongamento da vida útil do fluido <sup>1,22,23,39</sup>          |
| <b>Antiespumantes</b> | Controle da formação de espuma     | Reduzem a estabilidade das bolhas de ar no fluido          | Melhoria da circulação, eficiência de refrigeração e estabilidade operacional <sup>1,22,23,40</sup> |

## 2.2 Contaminação Microbiológica em Fluidos de Corte

A contaminação microbiológica em fluidos de corte constitui um dos fatores mais críticos associados ao uso prolongado desses sistemas em ambientes industriais. Em formulações solúveis em água, a elevada atividade de água, aliada à presença de compostos orgânicos biodegradáveis, estabelece um ambiente propício ao desenvolvimento de comunidades microbianas estruturalmente complexas e metabolicamente versáteis. Esse processo ocorre de forma progressiva ao longo do tempo de operação e é influenciado por variáveis intrínsecas à formulação, como composição química, concentração de aditivos e estabilidade do sistema, e por fatores operacionais, incluindo temperatura, aeração, carga orgânica e práticas de monitoramento e manutenção <sup>24,44,45</sup>.

A dinâmica de contaminação não se restringe à simples multiplicação celular, mas envolve processos ecológicos de adaptação, seleção e reorganização comunitária, que podem culminar na formação de populações altamente tolerantes às condições físico-químicas do fluido e às intervenções corretivas <sup>24,46,73</sup>.

As comunidades microbianas detectadas em fluidos de corte são predominantemente compostas por bactérias Gram-negativas aeróbias, reconhecidas por sua elevada plasticidade metabólica. Destacam-se espécies do gênero *Pseudomonas* e membros da família *Enterobacteriaceae*, incluindo *Escherichia*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, capazes de utilizar diferentes constituintes orgânicos do

fluido como fontes de carbono e nitrogênio, inclusive emulsificantes, alcanolaminas e contaminantes orgânicos incorporados durante o processo de usinagem <sup>44,46-48</sup>.

Bactérias Gram-positivas também são relatadas, ainda que em menor proporção, incluindo espécies de *Staphylococcus* e *Mycobacterium*. Estas últimas merecem atenção particular devido à sua associação com ambientes industriais automotivos e ao potencial envolvimento em quadros respiratórios ocupacionais, especialmente quando presentes em aerossóis gerados durante a usinagem <sup>46,49</sup>.

Além dos microrganismos aeróbios, populações anaeróbias facultativas e estritas podem se estabelecer em microambientes com baixa disponibilidade de oxigênio, como regiões de acúmulo de cavacos, depósitos sedimentares e trechos internos de tubulações. Nesse contexto, destacam-se bactérias redutoras de sulfato, cuja atividade metabólica resulta na produção de sulfeto de hidrogênio, contribuindo para odores característicos, corrosão microbiologicamente influenciada e degradação do sistema <sup>50,51</sup>.

Estudos de monitoramento ao longo do tempo indicam que a colonização microbiana segue padrão de sucessão ecológica, no qual populações inicialmente dominantes são progressivamente substituídas por microrganismos mais adaptados às condições específicas do sistema. Kapoor et al. (2024) demonstraram que, após meses de operação contínua, as densidades microbianas podem ultrapassar  $10^8$  UFC/mL, refletindo seleção adaptativa de comunidades mais tolerantes a variações de pH, disponibilidade de nutrientes e presença de biocidas <sup>44</sup>.

Esse crescimento microbiano depende da interação entre fatores intrínsecos à formulação e variáveis operacionais do sistema. A água constitui requisito essencial ao metabolismo celular, enquanto óleos, emulsificantes, alcanolaminas e outros aditivos funcionais podem atuar como substratos passíveis de biodegradação. Temperaturas moderadas, tipicamente entre 20 e 40 °C, pH próximo à neutralidade e aeração intermitente durante as operações de usinagem favorecem adicionalmente a multiplicação microbiana <sup>44,45,37</sup>.

Aspectos operacionais desempenham papel determinante na evolução da contaminação. Reposição inadequada do fluido, acúmulo de cavacos, deficiência na higienização de reservatórios e uso prolongado sem monitoramento microbiológico sistemático intensificam a carga biológica do sistema. A redução gradual da concentração de aditivos funcionais, associada à sua degradação química ou

consumo metabólico, contribui para perda progressiva do controle microbiológico e para o estabelecimento de populações mais resistentes <sup>37,48</sup>.

Esse conjunto de condições favorece não apenas o crescimento de microrganismos na forma livre em suspensão (planctônica), mas também a transição para formas de organização mais complexas, como biofilmes aderidos a superfícies internas do sistema.

Como consequência da proliferação microbiana em fluidos de corte, surgem impactos relevantes tanto no desempenho técnico quanto na saúde ocupacional. Do ponto de vista funcional, a atividade metabólica bacteriana e fúngica promove degradação da emulsão por meio da ação de enzimas hidrolíticas, como lipases e esterases, além da formação de ácidos orgânicos que contribuem para acidificação do meio. Observa-se ainda consumo seletivo de aditivos, incluindo alcanolaminas e inibidores de corrosão, resultando em instabilidade do sistema, aumento da corrosão de componentes metálicos e redução da vida útil do fluido <sup>44,45,37,48</sup>. No caso das alcanolaminas, esse comportamento reflete sua natureza multifuncional, podendo atuar como agentes antimicrobianos ou como substrato microbiano, dependendo da estrutura e das condições do sistema. Essa dualidade reforça a importância da seleção molecular, uma vez que a estrutura química influencia o equilíbrio entre resistência microbiológica e suscetibilidade à biodegradação.

Sob a perspectiva ocupacional, a contaminação microbiológica está associada à liberação de microrganismos viáveis, endotoxinas bacterianas e metabólitos voláteis na forma de aerossóis gerados durante a usinagem. Estudos indicam que partículas aerossolizadas contendo bactérias Gram-negativas e lipopolissacarídeos podem atingir concentrações superiores a valores de referência recomendados, particularmente em sistemas abertos ou com ventilação insuficiente <sup>47,52</sup>. Essa exposição tem sido relacionada a dermatites de contato, irritações respiratórias, asma ocupacional e processos inflamatórios crônicos <sup>53,46,49</sup>.

Assim, a contaminação microbiológica transcende a dimensão técnica, configurando problema integrado de desempenho industrial e risco biomédico.

## 2.3 Biofilmes Microbianos em Sistemas Industriais

Biofilmes microbianos consistem em estruturas organizadas formadas por comunidades de microrganismos aderidas a superfícies sólidas e envoltas por uma matriz extracelular polimérica composta predominantemente por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos extracelulares. Em sistemas industriais, incluindo aqueles que utilizam fluidos de corte, a formação de biofilmes representa um mecanismo adaptativo altamente eficiente, permitindo a persistência microbiana em ambientes submetidos a variações físico-químicas, forças hidrodinâmicas e aplicações periódicas de agentes antimicrobianos <sup>5,51</sup>.

Diferentemente do crescimento planctônico, a organização em biofilme promove alterações fenotípicas coletivas que ampliam a tolerância ao estresse ambiental e químico. Assim, a presença de biofilmes em sistemas de fluidos de corte não deve ser interpretada apenas como consequência da contaminação, mas como estratégia ecológica estruturada que sustenta a estabilidade da comunidade microbiana ao longo do tempo operacional.

A formação de biofilmes ocorre de maneira progressiva e pode ser descrita em etapas sequenciais. Inicialmente, células em estado planctônico aderem de forma reversível às superfícies do sistema, como reservatórios, tubulações e componentes internos das máquinas <sup>5</sup>. Essa adesão primária é influenciada por fatores como rugosidade e energia superficial do substrato, composição química do fluido, presença de macromoléculas condicionantes e regime hidrodinâmico <sup>5,7</sup>. Em seguida, ocorre a adesão irreversível, acompanhada pela síntese e secreção da matriz extracelular, que consolida a fixação celular e possibilita a formação de microcolônias <sup>5,7,73</sup>. A etapa de maturação caracteriza-se pela organização tridimensional da estrutura, formação de gradientes de nutrientes e oxigênio e estabelecimento de heterogeneidade metabólica interna <sup>5,32,53</sup>. Por fim, processos de dispersão promovem a liberação periódica de células viáveis para o meio líquido, contribuindo para a recontaminação contínua do fluido <sup>5,32,53,73</sup>.

Em sistemas industriais reais, os biofilmes raramente são monoespécies. Biofilmes mistos, compostos por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, são frequentemente observados e apresentam maior complexidade estrutural, metabólica e adaptativa. A coexistência de diferentes microrganismos possibilita interações

cooperativas e competitivas, incluindo compartilhamento de metabólitos, modulação do microambiente local, proteção cruzada frente a agentes antimicrobianos e maior plasticidade frente a variações ambientais <sup>51</sup>.

Nesse contexto, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* constituem modelos experimentais representativos para o estudo de biofilmes mistos. *E. coli*, bactéria Gram-negativa com metabolismo versátil e elevada capacidade de adaptação a ambientes aquosos, pode atuar como colonizadora inicial e produtora de componentes estruturais da matriz extracelular. *S. aureus*, bactéria Gram-positiva associada a maior tolerância relativa a estresses ambientais, contribui para consolidação estrutural do biofilme e para o aumento da resistência coletiva da comunidade <sup>37,46,53,54</sup>.

A utilização dessas espécies em estudos controlados permite investigar interações entre microrganismos com fisiologias distintas, simulando de maneira mais realista os processos de colonização observados em sistemas industriais de fluidos de corte. Além disso, ambas apresentam relevância ocupacional documentada, estando associadas à exposição a aerossóis contaminados e a manifestações dermatológicas e respiratórias em ambientes de usinagem <sup>53,46</sup>.

Um dos principais desafios associados aos biofilmes é o aumento substancial da tolerância a agentes antimicrobianos. Microrganismos organizados em biofilmes podem apresentar níveis de resistência dezenas ou centenas de vezes superiores aos observados em células planctônicas da mesma espécie. Esse fenômeno decorre de múltiplos mecanismos complementares, incluindo limitação da difusão de biocidas através da matriz extracelular, presença de subpopulações metabolicamente menos ativas (células persistentes) e expressão diferencial de genes relacionados à resposta ao estresse e à sobrevivência celular <sup>50,51</sup>.

Em biofilmes mistos, essa tolerância tende a ser ainda mais pronunciada, uma vez que a heterogeneidade fisiológica e genética da comunidade favorece respostas adaptativas coletivas. Como consequência, estratégias baseadas exclusivamente na adição periódica de biocidas podem apresentar eficácia transitória, contribuindo inadvertidamente para seleção de populações mais tolerantes e manutenção crônica da contaminação <sup>51</sup>.

Esse cenário evidencia que o controle microbiológico em sistemas industriais exige abordagem integrada, contemplando não apenas a eliminação de células livres, mas também a prevenção da adesão e da maturação de biofilmes.

Além disso, presença de biofilmes em sistemas de fluidos de corte exerce impactos diretos sobre a estabilidade físico-química e microbiológica do fluido. A atividade metabólica contínua das comunidades aderidas promove degradação de componentes orgânicos, consumo seletivo de aditivos funcionais, incluindo alcanolaminas e inibidores de corrosão, e liberação de metabólitos capazes de alterar o pH e comprometer a estabilidade da emulsão.

Adicionalmente, a liberação periódica de células a partir da estrutura do biofilme mantém elevadas as contagens microbianas no fluido circulante, mesmo após intervenções corretivas, dificultando a recuperação plena do sistema <sup>50</sup>.

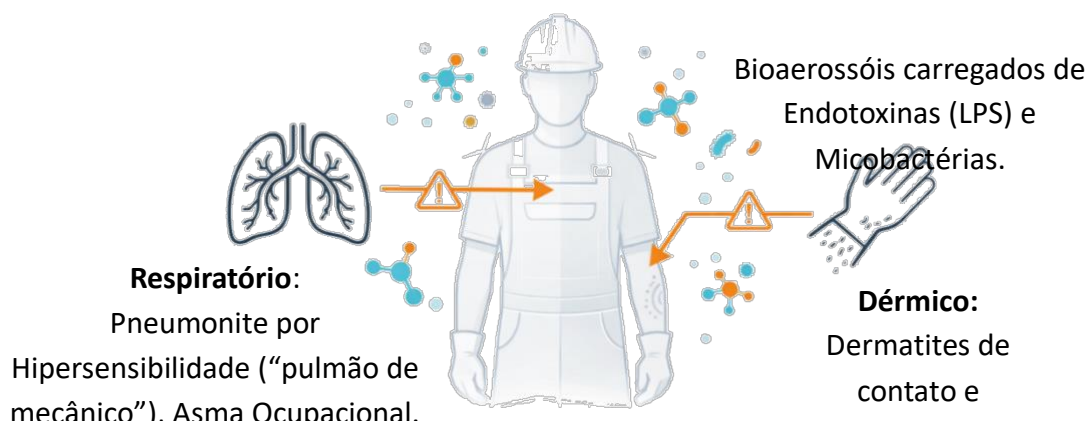
Do ponto de vista operacional, biofilmes estão associados à corrosão microbiologicamente influenciada, ao entupimento de linhas e filtros, à redução da eficiência térmica e à diminuição da vida útil tanto do fluido quanto dos equipamentos. Tais efeitos reforçam a necessidade de estratégias preventivas que considerem simultaneamente o controle do crescimento planctônico e a inibição da adesão microbiana e da formação de biofilmes, especialmente em sistemas de operação contínua e uso prolongado.

## **2.4 Saúde Ocupacional Relacionada ao uso de Fluidos de Corte**

A utilização de fluidos de corte em processos de usinagem está intrinsecamente associada à exposição ocupacional dos trabalhadores, tanto por via dérmica quanto respiratória, especialmente em sistemas que empregam formulações miscíveis em água. A natureza multifatorial dessa exposição decorre da combinação entre componentes químicos da formulação, contaminação microbiológica progressiva e condições operacionais específicas do ambiente industrial. A figura 1 ilustra o mecanismo de exposição ocupacional.



Figura 1 – Principais vias de exposição ocupacional associadas ao uso de fluidos de corte contaminados



Fonte: elaborado pela autora com auxílio de inteligência artificial (BioRender AI).

A exposição cutânea ocorre principalmente durante a manipulação de peças e ferramentas, por respingos gerados durante a operação ou pelo contato com superfícies e equipamentos contaminados, sendo frequentemente intensificada pela ausência ou uso inadequado de equipamentos de proteção individual <sup>55</sup>. Embora a pele constitua barreira biológica essencial, sua permeabilidade a determinados componentes químicos presentes nos fluidos de corte permite a penetração de substâncias irritantes e sensibilizantes, podendo desencadear processos inflamatórios locais, reações alérgicas e, em situações mais severas, efeitos sistêmicos decorrentes da absorção percutânea <sup>56</sup>.

A exposição respiratória, por sua vez, resulta predominantemente da inalação de névoas e aerossóis formados durante a usinagem, em função da atomização do fluido decorrente das altas velocidades de corte e da interação dinâmica entre fluido, ferramenta e peça. Esses aerossóis podem conter frações líquidas e sólidas do fluido, microrganismos viáveis e metabólitos microbianos, permanecendo suspensos no ar por períodos suficientes para alcançar as vias respiratórias inferiores <sup>46,53,57</sup>. A magnitude da exposição depende de fatores como tipo de fluido empregado, grau de contaminação microbiológica, tempo de uso do sistema, configuração das máquinas e eficiência dos sistemas de ventilação e exaustão <sup>57,58</sup>.

A contaminação microbiológica atua como fator de amplificação dos riscos ocupacionais associados aos fluidos de corte. Sistemas aquosos oferecem condições particularmente favoráveis ao crescimento microbiano devido à presença simultânea de água, nutrientes orgânicos e temperaturas moderadas. Diversos microrganismos

potencialmente patogênicos são frequentemente isolados de fluidos contaminados, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* <sup>25,59</sup>. A presença desses agentes, associada à liberação de metabólitos biologicamente ativos, como endotoxinas bacterianas e micotoxinas fúngicas, intensifica quadros dermatológicos e pode favorecer infecções cutâneas oportunistas, sobretudo em áreas previamente lesionadas <sup>60,61</sup>.

As doenças dermatológicas representam os agravos ocupacionais mais frequentemente relatados nesse contexto, destacando-se as dermatites de contato irritativas e alérgicas <sup>62</sup>. As manifestações clínicas variam de eritema leve e prurido até fissuras, vesículas e ulcerações em casos crônicos, podendo resultar em afastamentos prolongados e impacto socioeconômico significativo <sup>63</sup>. A integridade da barreira cutânea é frequentemente comprometida pela remoção dos lipídios naturais da pele, promovida por óleos, emulsificantes e surfactantes presentes nas formulações <sup>64</sup>.

No âmbito respiratório, a exposição repetida a aerossóis contaminados tem sido associada ao desenvolvimento de asma ocupacional, bronquite crônica, sintomas respiratórios inespecíficos e pneumonite por hipersensibilidade, condição inflamatória pulmonar potencialmente grave que pode evoluir para fibrose e comprometimento funcional irreversível <sup>15</sup>. Endotoxinas derivadas de bactérias Gram-negativas constituem potentes indutores de resposta inflamatória nas vias aéreas, estando relacionadas ao desencadeamento de sintomas asmáticos e inflamação persistente em trabalhadores expostos <sup>16</sup>. Micobactérias não tuberculosas, um grupo de bactérias ambientais oportunistas capazes de sobreviver em sistemas aquosos industriais, como *Mycobacterium immunogenum* e *Mycobacterium abscessus*, são reconhecidas como agentes etiológicos relevantes de pneumonite por hipersensibilidade em ambientes industriais que utilizam fluidos de corte contaminados <sup>17</sup>.

Estudos em ambientes industriais demonstram concentrações mensuráveis de endotoxinas na fração inalável de aerossóis gerados durante a usinagem, com valores que podem exceder referências recomendadas para exposição ocupacional, particularmente em sistemas com elevada carga microbiológica <sup>47</sup>. A resposta imune mediada por imunoglobulina G específica tem sido proposta como biomarcador de exposição cumulativa a microrganismos presentes em fluidos de corte, sendo observada elevada prevalência de anticorpos contra bactérias como *Escherichia coli*

e *Pseudomonas* spp. em trabalhadores expostos <sup>54</sup>. Adicionalmente, a fração exalada de óxido nítrico tem sido investigada como marcador não invasivo de inflamação das vias aéreas, apresentando potencial como ferramenta complementar de monitoramento, embora sua aplicação específica em ambientes de usinagem ainda seja considerada exploratória <sup>22,54</sup>.

A formação de biofilmes agrava significativamente esse cenário. Microrganismos organizados em biofilmes apresentam maior resistência à ação de biocidas <sup>5,6,53</sup> e às condições adversas do sistema, funcionando como reservatórios persistentes de contaminação <sup>7,24,73</sup>. A liberação contínua de células viáveis e endotoxinas para o fluido em circulação contribui para manutenção crônica da carga biológica e para a exposição recorrente dos trabalhadores a bioaerossóis potencialmente patogênicos <sup>8,46</sup>. A limitação da eficácia de métodos convencionais de controle microbiológico <sup>53</sup> reforça a necessidade de abordagens que considerem simultaneamente a estabilidade química da formulação e sua interação com processos ecológicos microbianos.

Diante desse panorama, o controle microbiológico dos fluidos de corte configura elemento central na proteção da saúde ocupacional. Medidas preventivas como monitoramento microbiológico sistemático, manutenção adequada das propriedades físico-químicas do fluido, enclausuramento de máquinas, utilização de sistemas eficientes de exaustão local e uso apropriado de equipamentos de proteção individual são estratégias fundamentais para mitigação dos riscos <sup>12,13,57,58</sup>.

Paralelamente, o desenvolvimento de alternativas menos dependentes de biocidas de elevada toxicidade e com potencial intrínseco de modulação microbiológica assume elevada relevância científica e tecnológica. Nesse contexto, as alcanolaminas, tradicionalmente empregadas como reguladores de pH e estabilizantes de formulação, são investigadas neste trabalho sob uma perspectiva inovadora, sendo tratadas não apenas como aditivos funcionais, mas como variáveis estruturais capazes de modular o comportamento microbiológico do sistema <sup>27,78</sup>. A avaliação experimental estabelece uma relação estrutura–atividade aplicada, evidenciando o papel dessas moléculas na engenharia de formulações mais estáveis e associadas à redução do risco ocupacional.

## 2.5 Estratégias de Controle Microbiano em Fluidos de Corte

O controle microbiológico em fluidos de corte constitui requisito essencial para a manutenção da estabilidade físico-química do sistema, preservação do desempenho tribológico e térmico e mitigação dos riscos ocupacionais associados à exposição a aerossóis contaminados. Tradicionalmente, esse controle é realizado por meio da aplicação de biocidas químicos, cuja finalidade é inibir o crescimento ou promover a eliminação de microrganismos durante o ciclo de vida do fluido <sup>53,69</sup>.

Na indústria metalomecânica, diferentes classes de biocidas são amplamente empregadas, incluindo liberadores de formaldeído, isotiazolinonas, triazinas e compostos de amônio quaternário. A escolha desses agentes baseia-se em critérios como amplo espectro antimicrobiano, compatibilidade com a formulação, estabilidade química, custo e conformidade com requisitos regulatórios vigentes <sup>70,71</sup>. Em condições ideais, tais compostos promovem redução significativa da carga microbiana planctônica e retardam a deterioração microbiológica inicial do sistema.

Entretanto, o uso extensivo e recorrente de biocidas convencionais está associado a limitações técnicas, sanitárias e ambientais relevantes. Do ponto de vista toxicológico, diversos desses compostos apresentam potencial irritante, sensibilizante e, em alguns casos, efeitos sistêmicos adversos, incluindo suspeita ou classificação de carcinogenicidade para determinadas substâncias, configurando risco ocupacional direto para trabalhadores expostos <sup>70,71</sup>.

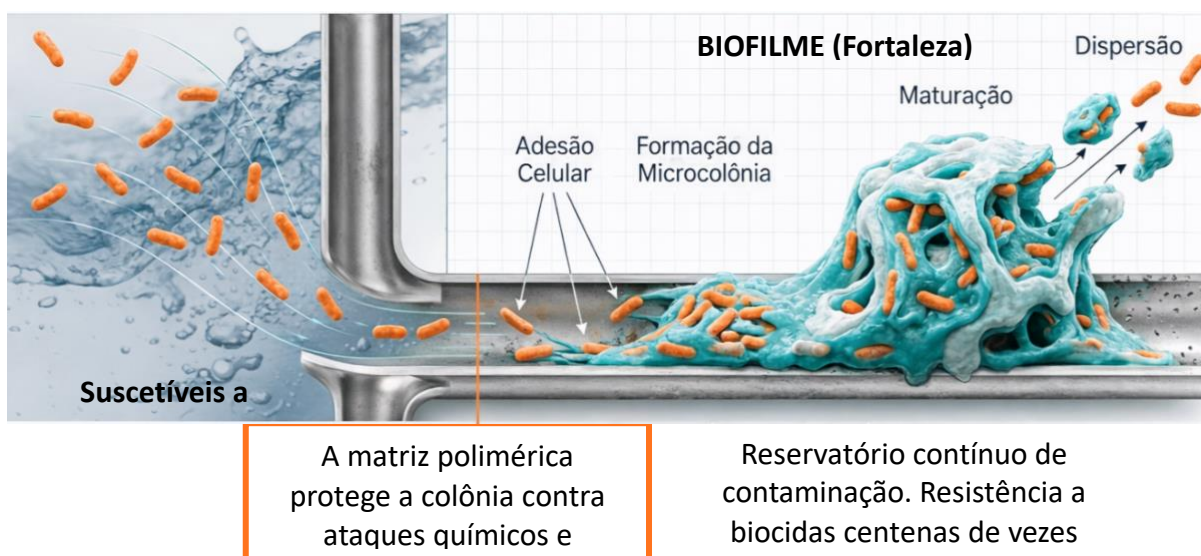
Sob a perspectiva microbiológica, a aplicação repetida de biocidas exerce pressão seletiva sobre as comunidades presentes no fluido, favorecendo a sobrevivência e eventual predominância de populações mais tolerantes. Esse processo adaptativo pode comprometer progressivamente a eficácia do controle, exigindo concentrações mais elevadas ou a alternância entre diferentes agentes químicos, com impacto adicional sobre custo, toxicidade e sustentabilidade do sistema <sup>37,45,72</sup>.

Outra limitação crítica refere-se à ação predominantemente direcionada a microrganismos em fase planctônica. Embora a adição periódica de biocidas reduza temporariamente a carga microbiana livre no fluido, a rápida recuperação das contagens após o tratamento indica a persistência de nichos protegidos no interior do sistema. Conforme ilustrado na Figura 2, bactérias planctônicas podem aderir às

superfícies do sistema, originando microcolônias que evoluem para biofilmes maduros protegidos por matriz polimérica extracelular (EPS), o que aumenta significativamente a resistência a agentes químicos e forças mecânicas. Biofilmes estabelecidos em superfícies internas de reservatórios, tubulações e componentes das máquinas passam a atuar como reservatórios persistentes de microrganismos, conferindo proteção física e fisiológica frente à ação dos biocidas e permitindo recontaminação contínua do fluido circulante <sup>44,73</sup>.

Figura 2 – Etapas de formação do biofilme bacteriano e proteção conferida pela matriz polimérica extracelular.

#### PLANCTÔNICA (Células livres)



Fonte: elaborado pela autora com auxílio de inteligência artificial (BioRender AI).

Dessa forma, o controle microbiológico torna-se essencialmente reativo, com eficácia limitada na prevenção de processos de deterioração a médio e longo prazo. Adicionalmente, o contexto regulatório e ambiental impõe restrições crescentes ao uso de determinados biocidas. A presença de compostos tóxicos nos fluidos exauridos exige tratamento especializado antes do descarte, aumentando custos operacionais e complexidade de gestão de resíduos. Potenciais impactos ecotoxicológicos e exigências normativas mais rigorosas reforçam a necessidade de alternativas tecnológicas que conciliem eficácia microbiológica, segurança ocupacional e sustentabilidade ambiental <sup>60,71</sup>.

Diante dessas limitações, torna-se evidente que estratégias baseadas exclusivamente na aplicação periódica de biocidas não são suficientes para assegurar

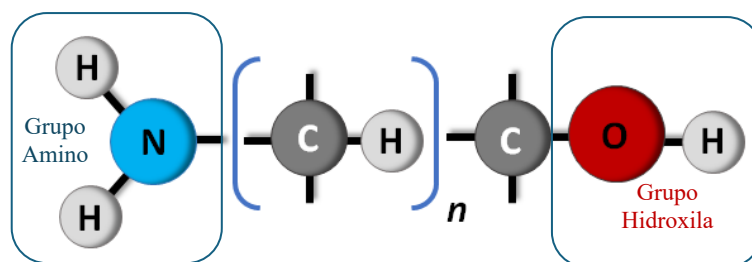
controle microbiológico duradouro em sistemas de uso prolongado. Abordagens complementares, que considerem a contribuição dos próprios constituintes da formulação na modulação do crescimento microbiano, emergem como alternativas promissoras. O emprego de aditivos com atividade bacteriostática ou potencial antibiofilme intrínseco pode contribuir para reduzir a dependência de agentes altamente tóxicos, promovendo estabilidade microbiológica mais contínua e integrada à engenharia de formulação do fluido <sup>37,45,72</sup>.

Nesse contexto, a investigação de compostos com menor toxicidade relativa e potencial de interferência estrutural em processos microbianos, como determinadas alcanolaminas amplamente utilizadas como reguladores de pH e estabilizantes de formulação, adquire relevância científica e tecnológica. A compreensão de como características moleculares específicas dessas estruturas influenciam a atividade antimicrobiana e a formação de biofilmes pode fornecer base científica para estratégias de controle microbiológico mais racionais, integradas ao desenho químico das formulações e alinhadas à redução do risco ocupacional e à sustentabilidade industrial.

## **2.6 Alcanolaminas em Fluidos De Corte**

As alcanolaminas, também denominadas aminoálcoois, constituem uma classe de compostos orgânicos caracterizados pela presença simultânea de grupos funcionais amino ( $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHR}$  ou  $-\text{NR}_2$ ) e hidroxila ( $-\text{OH}$ ) em sua estrutura molecular, conforme ilustrado na Figura 3. Essa configuração estrutural confere elevada solubilidade em água, caráter básico moderado e significativa versatilidade química, propriedades que fundamentam sua ampla aplicação em diferentes setores industriais, incluindo cosméticos, produtos de higiene, processos de captura de gases ácidos e, de forma particularmente relevante, na engenharia de formulação de fluidos de corte solúveis em água <sup>26,69</sup>.

Figura 3 - Estrutura química das alcanolaminas.



Fonte – Autora.

Do ponto de vista estrutural, as alcanolaminas podem ser classificadas como primárias, secundárias ou terciárias, conforme o grau de substituição do átomo de nitrogênio. Essa distinção exerce influência direta sobre propriedades físico-químicas fundamentais, tais como pKa, polaridade, caráter hidrofílico–hidrofóbico, volatilidade e impedimento estérico. Tais parâmetros impactam tanto o desempenho técnico do fluido quanto seu comportamento em sistemas aquosos complexos, nos quais coexistem emulsificantes, fase oleosa, íons dissolvidos, partículas metálicas e subprodutos de degradação <sup>69,74</sup>.

A variação do grau de substituição do nitrogênio está associada a alterações na basicidade aparente da molécula. De modo geral, observa-se redução progressiva da basicidade com o aumento da substituição, fenômeno atribuído a efeitos estéricos e à estabilização diferencial da forma protonada por interações intramoleculares envolvendo grupos hidroxila. Essas interações influenciam a distribuição eletrônica da molécula, a disponibilidade do par de elétrons não ligantes do nitrogênio e, consequentemente, sua capacidade de protonação em meio aquoso <sup>69</sup>.

No contexto da engenharia de formulação de fluidos de corte, as alcanolaminas desempenham múltiplas funções técnicas de elevada relevância. Sua principal contribuição está associada ao controle e tamponamento do pH, mantendo o sistema em faixa alcalina compatível com a estabilidade da emulsão e com a proteção anticorrosiva de superfícies metálicas. Além disso, atuam na neutralização de ácidos orgânicos formados durante o uso, na complexação de íons metálicos dissolvidos e na adsorção sobre superfícies metálicas, favorecendo a formação de filmes protetores. Também contribuem para a estabilidade de emulsões óleo em água por meio da modulação das propriedades interfaciais e da interação com surfactantes presentes na formulação <sup>74,75,76</sup>. Essas funções decorrem diretamente de suas

características estruturais e justificam sua ampla adoção em formulações comerciais de fluidos de corte.

Entre as alcanolaminas mais empregadas nesse contexto encontram-se a 2-aminoetan-1-ol (Monoetanolamina), 2,2'-iminodietanol (Dietanolamina), 2,2',2''-nitrilotrietanol (Trietanolamina), 2-amino-2-metilpropan-1-ol (AMP), 2-(2-aminoetoxi)etan-1-ol (diglicolamina, DGA) e 1-amino-2-propanol (MIPA), além de misturas comerciais desenvolvidas para atender a requisitos específicos de desempenho, compatibilidade e custo <sup>27</sup>. Embora, em termos comparativos, essas substâncias apresentem perfil toxicológico geralmente mais favorável do que muitos biocidas convencionais, seu potencial irritante, especialmente em exposições prolongadas ou em concentrações elevadas, permanece relevante sob a perspectiva da saúde ocupacional, exigindo seleção criteriosa e controle adequado nas formulações industriais <sup>17,27</sup>.

Em sistemas aquosos complexos, o comportamento das alcanolaminas é dinâmico e depende da composição do fluido, das condições operacionais, como temperatura, aeração e carga microbiana, e da interação com outros aditivos <sup>18,27,32</sup>. Sua elevada solubilidade e caráter básico favorecem a manutenção do pH em faixa alcalina, condição tradicionalmente associada à inibição parcial do crescimento microbiano <sup>18</sup>. Entretanto, essas mesmas características podem torná-las suscetíveis a transformações químicas e biológicas ao longo do tempo, incluindo processos de degradação ou metabolização por microrganismos adaptados ao ambiente do fluido <sup>27,32</sup>.

Essa dualidade, atuação como agentes estabilizadores da formulação e, simultaneamente, possíveis substratos ou moduladores do crescimento microbiano, confere às alcanolaminas papel central na dinâmica microbiológica dos fluidos de corte <sup>27,32</sup>. A compreensão aprofundada da relação entre estrutura molecular, propriedades físico-químicas e interação com comunidades microbianas constitui, portanto, constitui etapa fundamental para a engenharia de formulação de fluidos de corte mais estáveis, seguros e ambientalmente responsáveis <sup>27,32,74,78</sup>.



## 2.7 Atividade Microbiológica de Alcanolaminas

Evidências experimentais indicam que determinadas alcanolaminas apresentam atividade antimicrobiana intrínseca, predominantemente bacteriostática e, em condições específicas, bactericida moderada em sistemas controlados. Os mecanismos propostos envolvem múltiplas vias de interação celular <sup>28,78,94</sup>, incluindo desestabilização da membrana citoplasmática, alteração da permeabilidade, perturbação do equilíbrio osmótico, quelação de íons metálicos essenciais e interferência em rotas metabólicas críticas <sup>77-79</sup>. A natureza anfifílica de algumas alcanolaminas favorece a interação com estruturas lipídicas de membrana, promovendo alterações na integridade e funcionalidade celular. Esses efeitos têm sido observados frente a diferentes espécies bacterianas e fúngicas, sugerindo papel relevante na modulação da carga microbiana em fluidos de corte, ainda que com intensidade variável <sup>27</sup>.

Estudos recentes demonstram que formulações contendo alcanolaminas, como trietanolamina e monoetanolamina, associadas a outros componentes funcionais, podem apresentar resistência biológica intrínseca mesmo na ausência de biocidas convencionais. Resultados reportados por Abri e Sadeghi indicam que combinações específicas de alcanolaminas com ácidos graxos e compostos borados contribuem para maior estabilidade do fluido, reforçando a hipótese de um papel direto ou indireto dessas moléculas na inibição do crescimento microbiano <sup>27</sup>. Nesses sistemas, a interação sinérgica entre componentes pode potencializar efeitos antimicrobianos por mecanismos combinados de alteração de pH, modificação da interface óleo-água e impacto sobre a integridade celular microbiana <sup>18</sup>.

No que se refere aos microrganismos em fase planctônica, as alcanolaminas tendem a demonstrar maior eficácia antimicrobiana em concentrações relativamente elevadas. Tal condição, entretanto, nem sempre é compatível com os requisitos técnicos, toxicológicos ou econômicos das formulações industriais. Além disso, a resposta microbiana apresenta forte dependência da espécie envolvida, do estado fisiológico das células e das condições ambientais, como disponibilidade de nutrientes, oxigenação e presença de contaminantes, fatores que contribuem para a variabilidade dos resultados descritos na literatura <sup>78,79</sup>.

A influência das alcanolaminas na formação, estrutura e manutenção de biofilmes constitui aspecto ainda insuficientemente elucidado. Evidências experimentais sugerem que essas moléculas podem interferir nas etapas iniciais de adesão celular às superfícies e na organização da matriz extracelular polimérica, fases críticas do desenvolvimento de biofilmes <sup>77</sup>. Alterações no pH local, na disponibilidade de íons metálicos e na interação com componentes da matriz podem modificar a arquitetura do biofilme e sua estabilidade. Contudo, em sistemas industriais reais, observa-se frequentemente a persistência de biofilmes mesmo na presença de alcanolaminas, indicando que sua atividade antibiofilme é limitada, dependente de concentração ou modulada por fatores adicionais, como estrutura molecular específica, tempo de exposição e adaptação microbiana.

Paradoxalmente, diversos estudos relatam que alcanolaminas estruturalmente mais simples podem ser progressivamente metabolizadas por comunidades microbianas adaptadas, atuando como fontes de carbono e nitrogênio em sistemas aquosos de longa duração <sup>53,80</sup>. A etanolamina e seus derivados estão associados a rotas metabólicas amplamente distribuídas entre bactérias, envolvendo sistemas enzimáticos específicos para assimilação nitrogenada, o que explica sua redução gradual em fluidos de corte contaminados <sup>80</sup>. Esse fenômeno evidencia que o comportamento microbiológico das alcanolaminas não é exclusivamente determinado por sua atividade intrínseca, mas resulta da interação dinâmica entre estrutura química, concentração, disponibilidade metabólica e composição da comunidade microbiana presente.

Apesar da ampla utilização dessas substâncias em formulações comerciais, sua seleção permanece predominantemente baseada em critérios empíricos, tais como custo, odor, volatilidade, compatibilidade físico-química e desempenho anticorrosivo, com limitada consideração sistemática de seus impactos microbiológicos <sup>74</sup>. A escassez de estudos comparativos que correlacionem de maneira estruturada parâmetros moleculares, como grau de substituição do nitrogênio, impedimento estérico e distribuição eletrônica, com atividade antimicrobiana e comportamento frente à formação de biofilmes configura lacuna relevante na literatura. Tal lacuna assume particular importância no contexto da busca por estratégias de controle microbiano mais seguras, sustentáveis e integradas ao desenho químico das formulações de fluidos de corte <sup>72</sup>.

Nesse cenário, torna-se evidente a necessidade de abordagens que explorem de forma sistemática a relação entre estrutura molecular e atividade microbiológica das alcanolaminas, permitindo a seleção racional de compostos que conciliem desempenho técnico, estabilidade microbiológica e menor risco ocupacional.

## **2.8 Relação Estrutura-Atividade Aplicada a Alcanolaminas**

A relação estrutura–atividade, conhecida pela sigla SAR (Structure–Activity Relationship), constitui uma abordagem conceitual amplamente empregada na química medicinal, na toxicologia na engenharia de formulação e na engenharia de materiais para investigar como atributos estruturais específicos de moléculas químicas influenciam seu comportamento biológico, físico-químico ou toxicológico. Fundamenta-se no princípio de que pequenas variações na arquitetura molecular, incluindo substituições funcionais, grau de ramificação, distribuição eletrônica e impedimento estérico, podem resultar em modificações significativas na interação da molécula com sistemas biológicos. No caso de compostos nitrogenados, como as alcanolaminas, a literatura demonstra que propriedades como basicidade, polaridade, capacidade de formação de ligações de hidrogênio e grau de substituição do átomo de nitrogênio desempenham papel determinante nas interações com células microbianas e com o meio aquoso circundante <sup>61–63</sup>. A estrutura geral das alcanolaminas, caracterizada pela presença simultânea de grupos amina e hidroxila em uma mesma molécula, encontra-se ilustrada na Figura 3.

Diferentemente de abordagens quantitativas, como QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship), que requerem extensas bases de dados experimentais e modelagem estatística multivariada para geração de modelos preditivos, a metodologia SAR permite estabelecer correlações qualitativas ou semi-quantitativas entre atributos moleculares e respostas observadas. Tal abordagem mostra-se particularmente adequada para sistemas industriais complexos, nos quais a atividade biológica resulta da interação simultânea entre a molécula de interesse, a fase aquosa, íons metálicos dissolvidos, superfícies metálicas e comunidades microbianas heterogêneas, como ocorre em fluidos de corte miscíveis em água <sup>64</sup>. Nesse contexto, a variabilidade inerente ao sistema dificulta a aplicação direta de

modelos quantitativos robustos, tornando a análise estrutural comparativa um instrumento metodológico consistente e racional.

No caso específico das alcanolaminas, diversos parâmetros estruturais podem ser considerados relevantes para a atividade microbiológica observada. O número e a posição de grupos hidroxila influenciam a polaridade global da molécula, sua capacidade de solvatação e o estabelecimento de redes de ligações de hidrogênio com o meio. O grau de substituição do nitrogênio, amina primária, secundária ou terciária, afeta a basicidade, a disponibilidade do par de elétrons não ligantes e o impedimento estérico ao redor do centro reativo. A presença de ramificações na cadeia carbônica modifica tanto a hidrofobicidade relativa quanto o volume molecular, podendo alterar a interação com membranas celulares e com componentes da matriz extracelular de biofilmes. Adicionalmente, a distribuição eletrônica ao redor do átomo de nitrogênio influencia a capacidade de protonação e, conseqüentemente, o impacto local sobre o pH e sobre sistemas enzimáticos dependentes de equilíbrio ácido-base<sup>15,16,57</sup>.

Esses fatores estruturais não apenas modulam a afinidade da molécula por estruturas celulares, como também podem interferir em mecanismos regulatórios microbianos, incluindo processos de comunicação química. O quorum sensing, por exemplo, constitui um sistema de regulação gênica dependente da densidade populacional, no qual microrganismos produzem e detectam moléculas sinalizadoras que coordenam coletivamente a expressão de genes associados à formação de biofilmes, produção de metabólitos secundários e fatores de virulência. Evidências experimentais indicam que compostos nitrogenados com determinadas características estruturais podem interferir nesses sistemas de sinalização, seja por interação direta com moléculas sinalizadoras, seja por alteração das condições físicoquímicas do meio<sup>17</sup>. Em fluidos de corte, tal interferência pode contribuir para a modulação da estabilidade de comunidades microbianas persistentes, mesmo na ausência de efeito bactericida pronunciado.

A aplicação do conceito de SAR ao desenvolvimento de formulações de fluidos de corte permite, portanto, transcender a seleção empírica tradicional de aditivos, orientando a escolha de alcanolaminas com maior potencial de controle microbiológico e menor impacto toxicológico. Essa perspectiva é particularmente relevante sob o ponto de vista da saúde ocupacional, uma vez que determinadas alcanolaminas estão

associadas a efeitos adversos documentados, como irritação cutânea e respiratória, sensibilização e formação de subprodutos potencialmente indesejáveis. Tais aspectos fundamentam a existência de diretrizes e limites de exposição ocupacional estabelecidos por organismos reguladores internacionais, reforçando a necessidade de critérios técnicos mais refinados na seleção desses compostos <sup>25-27</sup>.

Cumprе destacar que o presente trabalho não se propõe à construção de modelos QSAR quantitativos ou preditivos. A estratégia metodológica adotada consiste na implementação de uma abordagem SAR exploratória, baseada na análise comparativa de estruturas moleculares, assinaturas espectroscópicas experimentais e resultados microbiológicos obtidos em condições controladas. Essa delimitação de escopo permite identificar tendências estruturais relevantes e estabelecer hipóteses mecanísticas fundamentadas, que poderão subsidiar, em estudos futuros, o desenvolvimento de modelos QSAR estatisticamente robustos e de maior capacidade preditiva.

Dessa forma, a aplicação sistemática do conceito de relação estrutura-atividade às alcanolaminas empregadas em fluidos de corte representa etapa fundamental para a construção de critérios racionais de engenharia de formulação, alinhados à estabilidade microbiológica, à segurança ocupacional e à sustentabilidade tecnológica.

## **2.9 Caracterização Molecular por Espectroscopia FT-Raman**

A espectroscopia FT-Raman é uma técnica vibracional baseada no espalhamento inelástico da radiação monocromática incidente (efeito Raman). Nesse processo, a interação da radiação com a nuvem eletrônica molecular gera variações de energia associadas a modos vibracionais específicos, permitindo a obtenção de informações estruturais detalhadas. Diferentemente da espectroscopia no infravermelho, cuja atividade depende de variações no momento dipolar, a técnica Raman baseia-se em variações na polarizabilidade eletrônica, o que confere vantagens para a análise de sistemas aquosos, nos quais a interferência espectral da água é significativamente reduzida <sup>44,81,82</sup>.

No contexto da caracterização de alcanolaminas, a espectroscopia FT-Raman mostra-se particularmente adequada para distinguir classes estruturais de aminas e

identificar variações sutis relacionadas ao grau de substituição do nitrogênio, à presença e ao número de grupos hidroxila e à intensidade de interações intermoleculares, especialmente ligações de hidrogênio. Modos vibracionais associados a estiramentos C–N, C–O, deformações angulares de grupos CH e vibrações relacionadas à rede de ligações de hidrogênio podem fornecer informações relevantes sobre conformação molecular e ambiente químico. Tais dados são essenciais para compreender o comportamento dessas moléculas em solução aquosa, condição diretamente relacionada à sua aplicação em fluidos de corte solúveis<sup>83–85</sup>.

Em formulações de fluidos de corte, o emprego do FT-Raman possibilita a análise de alcanolaminas em condições próximas às reais de uso industrial, minimizando a necessidade de preparo extensivo das amostras ou remoção da fase aquosa. A técnica permite a obtenção de espectros característicos, frequentemente descritos como fingerprints vibracionais, particularmente na região de 100 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ , na qual se concentram modos associados à estrutura da cadeia carbônica e aos grupos funcionais nitrogenados e hidroxilados. Alterações nessa região podem refletir mudanças estruturais decorrentes de variações conformacionais, interações intermoleculares ou complexação com íons metálicos, fatores que potencialmente influenciam propriedades físico-químicas e interações microbiológicas no sistema<sup>85</sup>.

Além de sua aplicação como ferramenta de caracterização estrutural, a espectroscopia FT-Raman apresenta potencial para contribuir de maneira complementar a estudos de relação estrutura–atividade. Embora ainda seja limitada a literatura que integre diretamente dados vibracionais experimentais a parâmetros de atividade antimicrobiana, revisões recentes indicam que modos vibracionais estão intrinsecamente relacionados a propriedades moleculares fundamentais, como rigidez estrutural, força de ligação, distribuição eletrônica e capacidade de polarização, atributos que podem influenciar a interação com membranas celulares e sistemas enzimáticos microbianos<sup>86</sup>.

No presente trabalho, a espectroscopia FT-Raman não é empregada com o objetivo de estabelecer correlações quantitativas diretas entre bandas espectrais específicas e parâmetros de inibição microbiana. A proposta metodológica consiste em utilizar a técnica como ferramenta de suporte experimental para identificar diferenças estruturais entre alcanolaminas amplamente utilizadas em fluidos de corte

e avaliar se tais diferenças são coerentes com tendências observadas nos ensaios microbiológicos conduzidos em condições controladas. Essa abordagem exploratória mostra-se particularmente pertinente em sistemas complexos, nos quais descritores computacionais isolados podem não refletir adequadamente a conformação molecular efetiva em solução, nem as interações dinâmicas com o meio.

A análise da literatura evidencia, adicionalmente, a ausência de estudos que integrem de forma sistemática espectroscopia FT-Raman, caracterização estrutural comparativa e dados microbiológicos quantitativos aplicados a alcanolaminas em fluidos de corte. Não foram identificados trabalhos que utilizem descritores vibracionais experimentais como suporte à análise SAR nesse contexto específico, tampouco investigações que explorem possíveis alterações espectroscópicas associadas ao envelhecimento do fluido, à interação com íons metálicos ou à dinâmica microbiológica do sistema <sup>86</sup>.

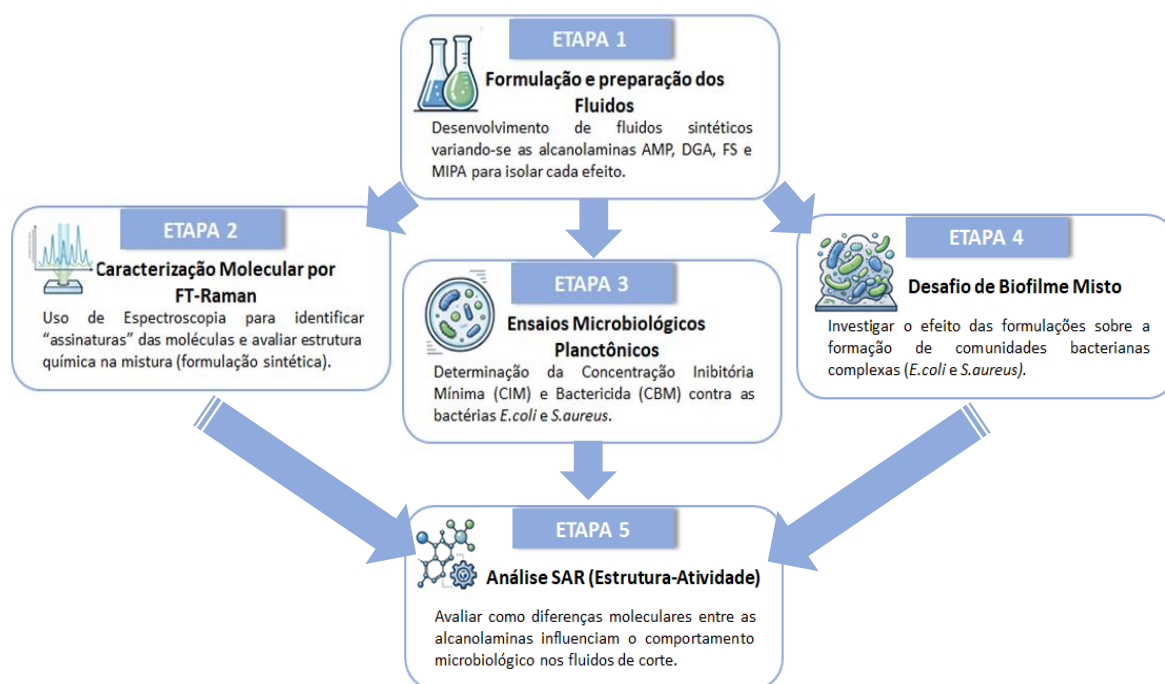
Essa lacuna reforça a relevância da presente abordagem, que propõe a utilização integrada de dados espectroscópicos e microbiológicos como etapa inicial para a construção de critérios racionais de seleção de alcanolaminas, alinhados à estabilidade estrutural, ao controle microbiano e à segurança ocupacional em fluidos de corte.

### 3 METODOLOGIA

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Bionanotecnologia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), envolvendo a caracterização estrutural das alcanolaminas, o desenvolvimento das formulações modelo e a avaliação de seus efeitos microbiológicos. As amostras de alcanolaminas e as bases das formulações utilizadas nos ensaios foram fornecidas pela empresa Yushiro do Brasil Indústria Química Ltda., assegurando padronização e rastreabilidade dos materiais experimentais.

A abordagem metodológica adotada foi estruturada de forma integrada, contemplando etapas de formulação, caracterização molecular e avaliação microbiológica, com posterior análise da relação estrutura–atividade (SAR). O fluxo geral das etapas experimentais está apresentado na Figura 4.

Figura 4 - Fluxo metodológico para investigação da relação estrutura–atividade (SAR) de alcanolaminas em fluidos de corte com foco em estabilidade microbiológica.



Fonte: Autora



### 3.1 Diluição das Alcanolaminas

Foram utilizadas as seguintes alcanolaminas: 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA) e 1-amino-2-propanol (MIPA). Para fins comparativos, também foi avaliado o produto Corrguard FS® (FS), composto por uma mistura de aminas primárias contendo pequena porcentagem de amina secundária. Todas as amostras foram diluídas para os ensaios microbiológicos em água ultra pura na concentração inicial de 512 mg.L<sup>-1</sup>.

### 3.2 Formulação do Fluido de Corte Sintético

As formulações modelo de fluido de corte sintético solúvel em água foram desenvolvidas para reproduzir condições industriais relevantes e, simultaneamente, permitir o controle rigoroso das variáveis químicas associadas às alcanolaminas estudadas. A formulação base foi mantida constante em todas as amostras, sendo a alcanolamina o único componente sistematicamente variado, de modo a possibilitar a análise comparativa da influência estrutural dessas moléculas sobre a estabilidade microbiológica do sistema. As alcanolaminas avaliadas foram incorporadas individualmente à formulação, mantendo-se inalteradas as concentrações dos demais componentes, conforme detalhado na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição qualitativa da formulação modelo de fluido de corte sintético com variação da alcanolamina.

(continua...)

| %*       | Componente                             | Função tecnológica                    |
|----------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| 50 a 60% | Água ultrapura                         | Fase contínua do sistema              |
| 10 a 20% | Éster vegetal sintético                | Lubrificação e redução de atrito      |
| 10 a 20% | Derivados poliméricos de ácidos graxos | Emulsificação e estabilidade coloidal |
| 5 a 10%  | Ácidos carboxílicos                    | Controle de pH e formação de sais     |

Tabela 2 – Composição qualitativa da formulação modelo de fluido de corte sintético com variação da alcanolamina.

(conclusão)

| <b>0 a 5%</b>   | <b>Passivadores para metais não ferrosos</b> | <b>Proteção anticorrosiva</b>       |
|-----------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>0 a 5%</b>   | Amina de suporte                             | Estabilização alcalina complementar |
| <b>10 a 20%</b> | Alcanolamina estudada                        | Variável estrutural experimental    |

\*Segredo Industrial.

Fonte: Autora.

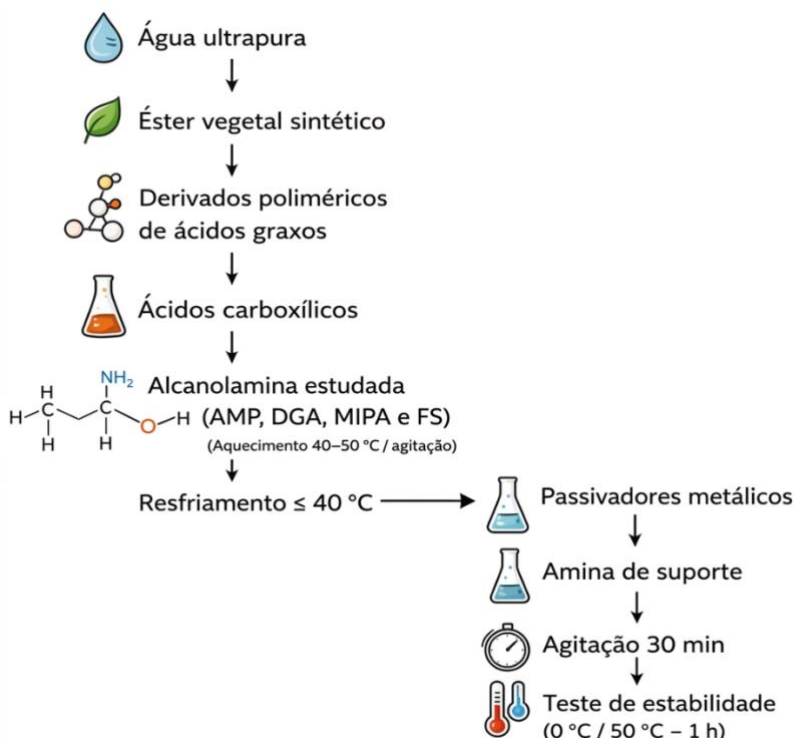
O procedimento de formulação consistiu na mistura sequencial dos componentes sob agitação mecânica constante. Inicialmente, a água ultrapura foi utilizada como fase contínua do sistema, seguida da adição do éster vegetal sintético, dos derivados poliméricos de ácidos graxos e dos ácidos carboxílicos.

Nesta etapa inicial, as alcanolaminas avaliadas (AMP, DGA, MIPA e FS) foram incorporadas individualmente à formulação base imediatamente após a adição dos ácidos carboxílicos, constituindo a variável estrutural experimental do estudo. Essa etapa foi conduzida sob aquecimento controlado entre 40 e 50 °C, mantendo-se agitação contínua até completa solubilização dos componentes.

Após a obtenção de um sistema homogêneo, a mistura foi resfriada até temperatura  $\leq 40$  °C, momento em que foram adicionados os passivadores para metais não ferrosos e a amina de suporte. A incorporação desses componentes ocorreu sob agitação mecânica por aproximadamente 30 minutos, garantindo completa dispersão e aparência homogênea das formulações.

Como critérios preliminares de estabilidade físico-química, as formulações foram avaliadas quanto à homogeneidade visual, ausência de separação de fases, sedimentação e transparência. Adicionalmente, foi realizado um teste de estabilidade térmica acelerada, no qual as amostras foram submetidas a 50 °C e 0 °C por um período de 1 hora. Durante esse ensaio não foram observados turvamento, alteração de coloração ou qualquer evidência visual de instabilidade, indicando adequada estabilidade inicial das formulações antes do início dos ensaios microbiológicos. A Figura 5 ilustra o fluxo sequencial de preparação das formulações utilizadas neste estudo.

Figura 5 – Esquema do processo de formulação do fluido de corte sintético.



Fonte: elaborado pela autora com auxílio de inteligência artificial (BioRender AI).

As formulações concentradas foram diluídas em água ultrapura até a concentração final de  $64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  em relação à alcanolamina estudada. A variação experimental foi realizada mantendo-se a concentração equivalente entre as diferentes moléculas, permitindo a comparação direta de características como grau de ramificação e impedimento estérico. Para garantir o rigor metodológico, foram preparadas amostras controle consistindo na formulação base isenta de alcanolaminas variáveis. Todos os preparos foram realizados em triplicata, assegurando a reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados.

### 3.3 Caracterização Molecular das Alcanolaminas e das Formulações de Fluido de Corte

A caracterização molecular foi realizada para identificar a assinatura vibracional das alcanolaminas e monitorar possíveis interações estruturais decorrentes de sua incorporação na formulação sintética. Para a preparação das amostras, as alcanolaminas puras (fase líquida, sem diluição) e os respectivos produtos formulados

foram analisados à temperatura ambiente, sendo depositados 10 µL de cada amostra diretamente sobre o porta-amostras acoplado a estágio micrométrico XYZ. Esse procedimento garantiu a formação de um filme líquido homogêneo e a manutenção do ponto focal adequado para a excitação Raman, assegurando a reprodutibilidade das medições.

As condições experimentais do FT-Raman envolveram o uso de um espectrómetro RFS 100/S® (Bruker Inc., Karlsruhe, Alemanha), equipado com detector de germânio resfriado a nitrogênio líquido e laser Nd:YAG ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ ), operando com potência de 100 mW e resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

A aquisição e o tratamento dos espectros foram conduzidos por meio do software OPUS® (versão 4.2, Bruker Optics GmbH). Para cada amostra foram obtidos três espectros independentes, com 500 varreduras acumuladas cada. Considerando a análise das quatro alcanolaminas puras e das quatro formulações correspondentes, foram adquiridos ao todo 24 espectros experimentais, posteriormente utilizados para obtenção dos espectros médios representativos de cada sistema.

A espectroscopia FT-Raman foi selecionada para a caracterização das alcanolaminas devido à sua elevada sensibilidade a modos vibracionais associados ao esqueleto carbônico e a ligações relativamente simétricas, como C–C e C–N, além da baixa interferência da água no espectro Raman, característica particularmente vantajosa para a análise de sistemas aquosos como fluidos de corte.

### 3.4 Microrganismos e Condições de Cultivo

As avaliações microbiológicas foram conduzidas utilizando duas cepas bacterianas de referência, amplamente empregadas em estudos de atividade antimicrobiana, biorresistência e toxicologia ocupacional, representando grupos com diferenças estruturais relevantes: *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram-positiva). Ambas são reconhecidas como padrões internacionais e frequentemente associadas à contaminação de fluidos de corte em ambientes industriais. A manutenção e armazenamento das cepas foram mantidas em microtubos criogênicos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) suplementado com 20% (v/v) de glicerol, preservados a  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

As condições de cultivo e reativação consistiram na inoculação de alíquotas em caldo BHI, com incubação a 37 °C por 24 horas para a obtenção do pré-inóculo. Na sequência, realizou-se a semeadura por esgotamento em meios sólidos seletivos (ágar MacConkey para *E. coli* e ágar Manitol para *S. aureus*) com incubação adicional a 37 °C por 24 horas. A pureza das culturas foi confirmada por inspeção macroscópica da morfologia das colônias e pela técnica de coloração de Gram, garantindo a integridade do material biológico antes dos ensaios. Com a pureza das culturas confirmadas, uma colônia foi semeada por esgotamento e incubada a 37 °C por 24 horas.

A padronização do inóculo foi realizada com o auxílio do turbidímetro Densichek® (bioMérieux), utilizando colônias isoladas suspensas em solução salina estéril (0,9%) até o ajuste da turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde aproximadamente a uma densidade de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. Por fim, para a preparação das culturas planctônicas empregadas nos experimentos subsequentes, este inóculo padronizado foi diluído em meio apropriado conforme a necessidade experimental (como caldo Mueller Hinton para os testes de inibição), garantindo a reprodutibilidade e a comparabilidade entre os ensaios de concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e formação de biofilme.

### **3.5 Avaliação da Atividade Antimicrobiana em Cultura Planctônica**

A atividade antimicrobiana das alcanolaminas e das formulações de fluido de corte foi avaliada por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM), seguindo os protocolos do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, M7-A9) com adaptações. Para a determinação da CIM, utilizou-se o método de microdiluição em caldo Mueller Hinton (HiMedia®) em placas de 96 poços. A suspensão bacteriana ( $10^5$  UFC/mL) foi exposta a diluições seriadas das soluções, partindo de uma concentração inicial de 8 mg/L<sup>-1</sup>. O delineamento incluiu grupos controle negativo (sem o crescimento de bactérias) e controle de crescimento (CP, controle positivo), com as amostras divididas em concentrações de 1, 2, 4 e 8 mg/L<sup>-1</sup>, seguidas de incubação a 37 °C por 18 horas.

Após o período de incubação, a análise da CIM foi realizada pelo método de turvação e confirmada através do ensaio colorimétrico com Resazurina (*Resazurin sodium salt* — Sigma-Aldrich, R7017). Foram adicionados 2 µL do reagente (6,75 mg/L<sup>-1</sup>) a cada poço, com incubação adicional de duas horas. A leitura da fluorescência das amostras foi conduzida no espectrofotômetro leitor de microplacas Synergy HT Multi-Detection (BioTek Instruments, EUA), com excitação a 528 nm e emissão a 645 nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata. A porcentagem da atividade metabólica das células planctônicas em relação ao controle positivo (CP) foi determinada de acordo com a Equação (1), na qual o valor de absorbância do material da microplaca (MC) foi subtraído:

$$\text{Atividade Metabólica (\%)} = \frac{\text{Amostra} - \text{MC}}{\text{CP} - \text{MC}} \times 100 \quad (1)$$

A determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), teste feito em triplicata, foi definida como a menor concentração capaz de promover uma redução ≥ 99,9% da população inicial. A CBM foi determinada pelo método da microgota, em que um volume de 10 µL dos ensaios da CIM foram depositados na superfície do ágar BHI. Após a absorção das microgotas as placas foram invertidas e incubadas por 24 h a 37°C (± 2°C). A ausência de crescimento bacteriano no ágar indicou o efeito bactericida.

Nas formulações desenvolvidas também foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), utilizou-se a técnica de microgota, selecionada pela otimização de insumos e capacidade de análise simultânea. Alíquotas das condições que não apresentaram crescimento visível no ensaio de CIM foram submetidas a diluições decimais seriadas em solução salina (0,9%). De cada diluição, 25 µL foram depositados em triplicata sobre placas de ágar Mueller-Hinton. Após incubação a 37 °C por 24 horas, realizou-se a contagem manual das colônias em microgotas que apresentaram entre 10 e 70 UFCs. Os resultados foram expressos em UFC/mL, permitindo determinar os efeitos das formulações sobre as cepas.

### 3.6 Avaliação da Formação de Biofilmes Mistos

A metodologia para avaliação de biofilmes foi delineada para investigar o efeito das formulações sobre estruturação das comunidades microbianas, que representam a forma mais persistente de crescimento em fluidos de corte industriais. Ao empregar um modelo misto composto por *E. coli* e *S. aureus*, busca-se reproduzir a complexidade biológica de ambientes de usinagem e compreender como variações moleculares nos aditivos influenciam a biorresistência e o risco ocupacional. Os passos para a preparação do biofilme podem ser observados na Figura 6.

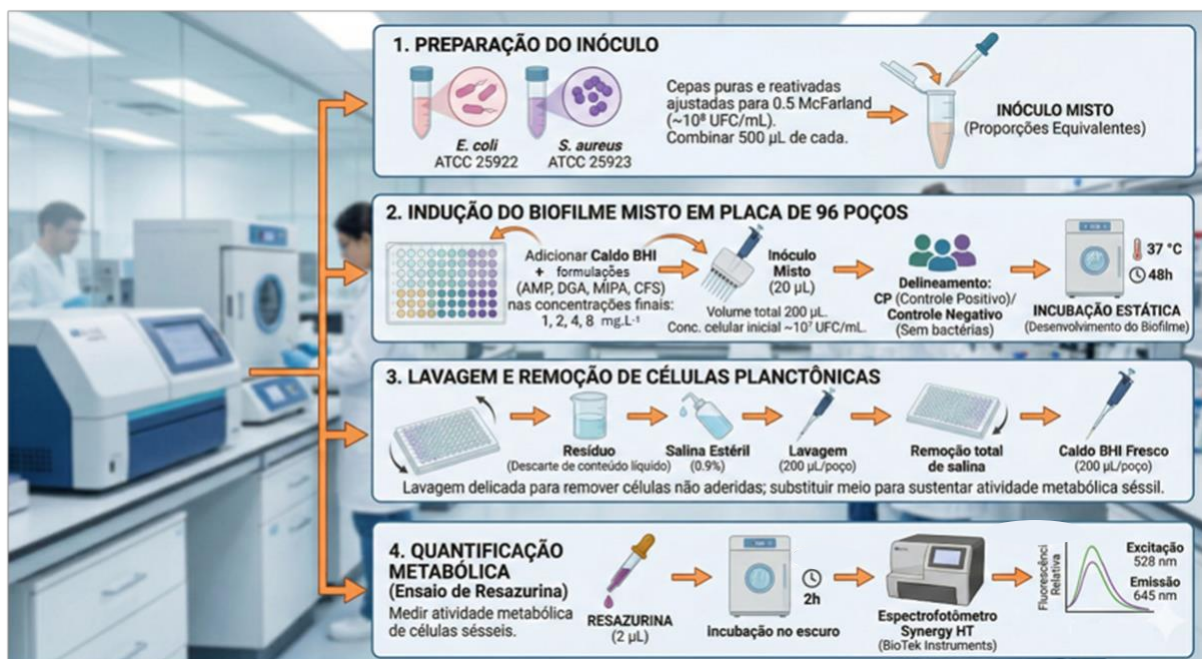
Os inóculos foram preparados utilizando as cepas previamente reativadas com a pureza testada. As suspensões individuais foram ajustadas em turbidímetro para a escala 0,5 de McFarland (aprox.  $10^8$  UFC/mL) e, na sequência, alíquotas de 500 µL de cada espécie foram combinadas e homogeneizadas em tubo estéril para obter um inóculo misto em proporções equivalentes.

A indução da formação de biofilmes mistos sob exposição das formulações foi conduzida em placas de microtitulação de 96 poços, onde foram adicionadas as formulações diluídas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) nas concentrações finais de 1, 2, 4 e 8 mg·L<sup>-1</sup>, previamente selecionadas com base na atividade antimicrobiana observada nos ensaios realizados com células em fase planctônica. Em cada poço, foram inoculados 20 µL do inóculo misto padronizado para um volume final de 200 µL, resultando em uma concentração celular de aproximadamente  $10^7$  UFC/mL. O delineamento experimental incluiu poços de controle positivo (CP), contendo apenas o meio e o inóculo, e controle negativo, isento de microrganismos. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 48 horas em condição estática, permitindo a adesão celular e o desenvolvimento do biofilme sob exposição às formulações testadas.

Após o período de incubação, procedeu-se à lavagem e remoção das células planctônicas, em que os poços foram lavados delicadamente com 200 µL de solução salina (0,9%) para remover detritos e células não aderidas. Na sequência, foram adicionados 200 µL de caldo BHI fresco em cada poço para sustentar a atividade metabólica das cepas remanescentes. Como método de quantificação, a atividade metabólica foi mensurada via ensaio de resazurina, adicionando-se 2 µL do reagente por poço com leitura de fluorescência (excitação 528 nm / emissão 645 nm), com

incubação adicional de duas horas. A leitura da fluorescência das amostras foi conduzida no espectrofotômetro leitor de microplacas Synergy HT Multi-Detection (BioTek Instruments, EUA), com excitação a 528 nm e emissão a 645 nm.

Figura 6 - Fluxograma para a avaliação da formação de biofilmes mistos.



Fonte: elaborado pela autora com auxílio de inteligência artificial (BioRender AI).

### 3.7 Análise da Relação Estrutura-Atividade (SAR)

A análise de relação estrutura–atividade (SAR) foi conduzida com o objetivo de avaliar como as diferenças moleculares entre as alcanolaminas influenciam o comportamento microbiológico nos fluidos de corte. A abordagem adotada é de natureza qualitativa e semi-quantitativa, adequada ao conjunto experimental, visando identificar tendências de biorresistência e subsidiar critérios racionais para a seleção de aditivos com menor risco ocupacional.

Os parâmetros estruturais considerados fundamentaram-se em características físico-químicas com potencial influência biológica, como o grau de substituição do átomo de nitrogênio (distinguindo aminas primárias e secundárias), o impedimento estérico decorrente da ramificação da cadeia carbônica e a presença de grupos hidroxila, que afetam a polaridade e a solubilidade. Adicionalmente, considerou-se a



basicidade relativa (pKa) e as características vibracionais das ligações N–H, C–N e O–H, obtidas via FT-Raman, como indicadores de diferenças estruturais mensuráveis.

Conforme ilustrado na Figura 7, a estratégia de análise baseou-se na integração entre parâmetros estruturais (inputs) representados por características físico-químicas e espectroscópicas das alcanolaminas, e respostas microbiológicas experimentais (outputs), incluindo atividade inibitória mínima (CIM), atividade bactericida mínima (CBM) e inibição metabólica de biofilme misto. A correlação entre esses conjuntos de dados permitiu avaliar como atributos moleculares específicos podem influenciar a resposta microbiológica observada.

Figura 7 – Modelo conceitual da análise de relação estrutura–atividade (SAR) aplicada às alcanolaminas estudadas, integrando parâmetros estruturais físico-químicos e espectroscópicos com respostas microbiológicas experimentais.



Fonte: Autora.

A correlação entre dados espectroscópicos e microbiológicos foi realizada integrando os resultados de FT-Raman aos dados de CIM, CBM e formação de biofilme misto. As variações nas bandas vibracionais associadas aos grupos nitrogenados e hidroxilados serviram como marcadores experimentais para identificar tendências consistentes entre a arquitetura molecular e a resposta microbiana, sem realizar inferências mecanísticas além do suporte experimental obtido.

Para garantir o rigor analítico, a comparação entre as alcanolaminas ocorreu sob condições estritamente padronizadas, mantendo-se constantes a formulação base, as concentrações, as cepas e os protocolos experimentais. Essa padronização permitiu atribuir as diferenças observadas predominantemente às características estruturais dos compostos, como o nível de impedimento estérico e as variações espectroscópicas detectadas.

Por fim, a identificação de padrões estrutura–atividade resultou da integração desses dados, permitindo associar características moleculares específicas à maior ou menor suscetibilidade à proliferação microbiana.

### **3.8 Análise Estatística dos Dados**

Os dados experimentais foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, obtidos a partir de triplicatas independentes ( $n = 3$ ) para cada condição avaliada. As análises estatísticas foram conduzidas no software GraphPad Prism 8.5, iniciando-se pela avaliação da normalidade. Para os dados que apresentaram distribuição normal, aplicou-se a Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos. A significância estatística foi estabelecida em 5% ( $p \leq 0,05$ ) para todos os ensaios. Os resultados significativos foram devidamente indicados nas figuras e tabelas correspondentes por meio de notação padronizada.

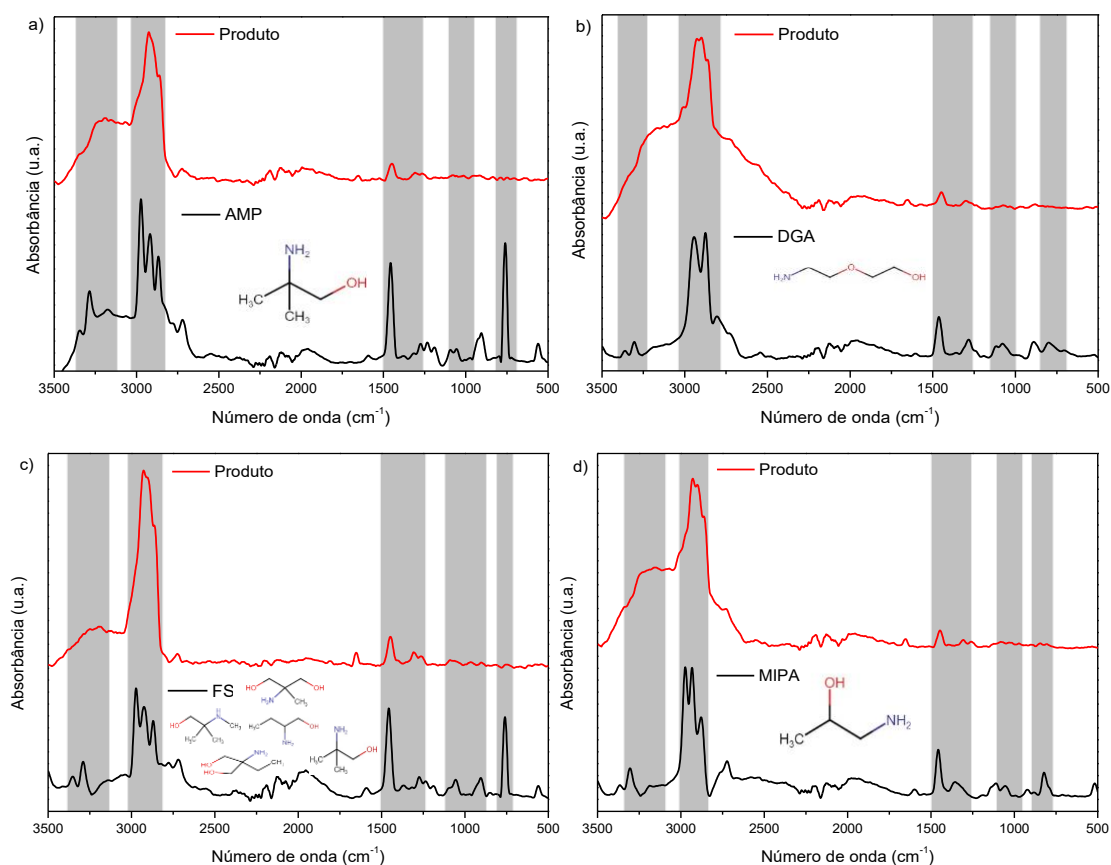
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As formulações preparadas apresentaram pH inicial de  $9,7 \pm 0,1$ , valor que se mantém dentro da faixa típica de fluidos de corte solúveis em água empregados industrialmente <sup>22,36,39</sup>. Essa alcalinidade é operacionalmente desejável por contribuir para o controle de corrosão e estabilidade do sistema, mas possui também implicações moleculares relevantes, uma vez que influencia diretamente o estado de protonação das alcanolaminas avaliadas <sup>18,78</sup>. Considerando os valores de pKa descritos para aminoálcoois alifáticos, o pH observado indica a coexistência entre formas protonadas e não protonadas, em proporções dependentes da arquitetura estrutural de cada molécula <sup>89,96</sup>. Essa condição é determinante para a interpretação da atividade antimicrobiana, pois o estado iônico modula tanto a interação com os componentes da formulação quanto a capacidade de interação com estruturas celulares bacterianas, especialmente membranas e superfícies ricas em cargas negativas <sup>28,77</sup>.

Durante o período experimental, todas as formulações concentradas e suas respectivas diluições permaneceram visualmente estáveis, sem evidência de separação de fases, precipitação ou alterações significativas de turbidez. A manutenção da estabilidade macroscópica sugere preservação da organização coloidal do sistema, reduzindo a probabilidade de que diferenças microbiológicas subsequentes sejam atribuídas a instabilidades físico-químicas externas <sup>23,39</sup>. Essa constatação é particularmente relevante do ponto de vista aplicado, pois demonstra que a variação estrutural das alcanolaminas não compromete a integridade tecnológica da formulação, permitindo que a comparação microbiológica seja atribuída predominantemente às propriedades moleculares intrínsecas.

Os espectros FT-Raman das alcanolaminas puras e das respectivas formulações, obtidos em fase líquida à temperatura ambiente, são apresentados em Figura 8.

Figura 8 - Espectros FT-Raman de amostras líquidas de alcanolaminas puras e formulações à temperatura ambiente: a) 2-amino-2-metilpropan-1-ol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) mistura comercial de alcanolaminas (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA).



Fonte: Autora.

A interpretação foi conduzida por regiões espectrais diagnósticas, com ênfase nas bandas associadas aos grupos amino e hidroxila, visando avaliar preservação estrutural, possíveis deslocamentos vibracionais e alterações no perfil de alargamento após incorporação na matriz formulada <sup>88,89,93</sup>. A organização consolidada das atribuições vibracionais encontra-se em Tabela 3, permitindo estabelecer a base estrutural necessária para a integração subsequente com os resultados microbiológicos no âmbito da análise estrutura-atividade SAR.

Tabela 3 - Atribuições vibracionais consolidadas das alcanolaminas e respectivos produtos formulados (FT-Raman, 450–3500  $\text{cm}^{-1}$ ).

(continua...)

| <b>Banda<br/>(<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b> | <b>Alcanolamina<br/>(puro)</b>                                                | <b>Produto<br/>(formulação<br/>correspondente)</b>                                                                                                                  | <b>Atribuição<br/>vibracional</b>                                                         | <b>Fundamentação</b>                                                                                                                                       |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3350–<br/>3200</b>                          | AMP, DGA, FS e MIPA: presente, larga (variação de largura conforme estrutura) | AMP-Produto: presente, leve alargamento DGA-Produto: presente, alargamento acentuado FS-Produto: presente, alargamento adicional MIPA-Produto: presente, mais larga | v(N–H) simétrico e assimétrico (aminas primárias); contribuição de ligações de hidrogênio | Estiramentos N–H de aminas primárias; sensíveis ao ambiente químico e H-bonding <sup>53,88, 89</sup> ; largura típica de sistemas mistos <sup>88, 90</sup> |
| <b>3300–<br/>3100</b>                          | DGA, FS e MIPA: presente                                                      | DGA-Produto: presente FS-Produto: presente MIPA-Produto: presente                                                                                                   | v(O–H) associado a ligações de hidrogênio                                                 | Grupos hidroxila em aminoálcoois <sup>88, 91</sup>                                                                                                         |
| <b>2970–<br/>2870 /<br/>2970–<br/>2850</b>     | Todas: presente                                                               | AMP-Produto: presente DGA-Produto: presente FS-Produto: presente MIPA-Produto: presente                                                                             | v(C–H) assimétrico e simétrico de $\text{CH}_2$ , $\text{CH}_3$ e CH                      | Vibrações típicas de grupos alquila saturados <sup>88</sup>                                                                                                |
| <b>1470–<br/>1420 /<br/>1460–<br/>1380</b>     | Todas: presente                                                               | AMP-Produto: presente DGA-Produto: presente FS-Produto: presente MIPA-Produto: presente                                                                             | $\delta(\text{CH}_2)$ e $\delta(\text{CH}_3)$ (scissoring e bending)                      | Bandas características de grupos metila e metileno alifáticos <sup>88, 92</sup>                                                                            |
| <b>1380–<br/>1350</b>                          | MIPA: presente                                                                | MIPA-Produto: presente                                                                                                                                              | $\delta(\text{CH}_3)$ simétrico                                                           | Ramificação metílica <sup>88</sup>                                                                                                                         |

Tabela 3 - Atribuições vibracionais consolidadas das alcanolaminas e respectivos produtos formulados (FT-Raman, 450–3500  $\text{cm}^{-1}$ ).

(continua...)

| Banda ( $\text{cm}^{-1}$ )   | Alcanolamina (puro)                        | Produto (formulação correspondente)                                                                                                                                   | Atribuição vibracional                                                    | Fundamentação                                                                                         |
|------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1350–1250</b>             | Todas: presente (banda composta em FS)     | AMP-Produto: presente, leve deslocamento<br>DGA-Produto: presente FS-Produto: presente, alteração de perfil<br>MIPA-Produto: presente                                 | $\delta(\text{N-H})$ e $\nu(\text{C-N})$ acoplados                        | Região característica de aminas alifáticas e aminoálcoois <sup>53, 93</sup>                           |
| <b>1150–1050 / 1120–1040</b> | Todas: presente (mais intensa em DGA e FS) | AMP-Produto: presente, variação de intensidade<br>DGA-Produto: presente, variação de intensidade FS-Produto: presente, variação de intensidade MIPA-Produto: presente | $\nu(\text{C-O})$ e $\nu(\text{C-N})$ ; em DGA inclui $\nu(\text{C-O-C})$ | Região diagnóstica de aminoálcoois e estruturas etoxiladas; ligação éter característica <sup>88</sup> |
| <b>1040–1020</b>             | Todas: presente                            | AMP-Produto: presente DGA-Produto: presente FS-Produto: presente MIPA-Produto: presente                                                                               | $\nu(\text{C-N})$ alifático                                               | Vibração associada à ligação amina-carbono <sup>89</sup>                                              |
| <b>~980–950</b>              | AMP: presente                              | AMP-Produto: presente                                                                                                                                                 | $\nu(\text{C-C})$ associado a carbono terciário                           | Vibração sensível à ramificação da cadeia <sup>88</sup>                                               |

Tabela 3 - Atribuições vibracionais consolidadas das alcanolaminas e respectivos produtos formulados (FT-Raman, 450–3500  $\text{cm}^{-1}$ ).

(conclusão)

| Banda ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Alcanolamina (puro)                          | Produto (formulação correspondente)                           | Atribuição vibracional             | Fundamentação                                         |
|----------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 900–850 / 850–800          | AMP, DGA, MIPA: presente; FS: pouco definida | AMP-Produto: atenuada DGA-                                    | $\delta(\text{N-H})$ fora do plano | Vibração característica de aminas primárias<br>89, 93 |
|                            |                                              | Produto: atenuada FS-Produto: atenuada MIPA-Produto: atenuada |                                    |                                                       |
| <700                       | Todas: fraca                                 | AMP-Produto: fraca                                            | Modos esqueléticos C–C             | Baixa relevância diagnóstica                          |
|                            |                                              | DGA-Produto: fraca FS-Produto: fraca MIPA-Produto: fraca      |                                    |                                                       |

A integridade das bandas vibracionais foi confirmada por comparação com referências consolidadas para compostos orgânicos contendo grupos amino e hidroxila <sup>88,89</sup>, assegurando consistência técnica nas atribuições realizadas. Não foram observadas bandas adicionais ou desaparecimento de sinais característicos após a formulação, indicando ausência de transformação química detectável no intervalo espectral analisado (450–3500  $\text{cm}^{-1}$ ). As diferenças identificadas restringiram-se a variações de intensidade relativa, deslocamentos discretos e alterações no grau de alargamento, compatíveis com modificações no microambiente molecular e no padrão de interações intermoleculares <sup>88,91</sup>. Essa observação é fundamental para a interpretação da relação estrutura–atividade, pois indica que a matriz formulada não promoveu reações químicas que descaracterizassem as alcanolaminas, preservando suas propriedades estruturais originais.

A região de 3350–3200  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída aos estiramentos  $\nu(\text{N-H})$  simétrico e assimétrico de aminas primárias, com contribuição de ligações de hidrogênio <sup>88,89</sup>, apresentou diferenças sistemáticas entre as estruturas avaliadas. FS exibiu comportamento espectral semelhante ao observado para DGA, sugerindo a presença de frações com maior densidade de grupos hidroxila e potencial elevado de interação por ligações de hidrogênio <sup>88,91</sup>. Em contraste, o AMP apresentou perfil relativamente

menos alargado, sugerindo menor envolvimento em redes intermoleculares extensivas, possivelmente associado à presença de carbono terciário adjacente ao grupo amino, característica estrutural descrita como capaz de influenciar organização molecular e acessibilidade funcional <sup>88,92</sup>. Esse padrão espectral sugere diferenças na organização molecular e na fração efetivamente disponível para interação com superfícies biológicas.

Na região de 1150–1050  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída aos estiramentos  $\nu(\text{C}-\text{O})$  e  $\nu(\text{C}-\text{N})$ , com contribuição adicional de  $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$  em estruturas etoxiladas <sup>88</sup>, observou-se maior intensidade relativa para DGA e FS. Essa assinatura é consistente com a presença de fragmentos etoxilados e maior densidade de ligações oxigenadas nessas moléculas, refletindo aumento de polaridade estrutural e maior capacidade de estabelecimento de interações intermoleculares mediadas por solvatação em meio aquoso. Sob a perspectiva da relação estrutura–atividade, essa característica pode influenciar a organização molecular no sistema formulado, apresentando consistência com as diferenças observadas nos ensaios microbiológicos subsequentes. O AMP, por sua vez, apresentou perfil espectral mais compacto nessa região, compatível com menor extensão de cadeias oxigenadas e menor densidade de grupos fortemente hidratáveis.

A banda observada em aproximadamente 980–950  $\text{cm}^{-1}$ , mais evidente no AMP, é atribuída a modos vibracionais associados a carbono terciário e vibrações C–C adjacentes a centros ramificados <sup>88,92</sup>, reforçando o maior grau de ramificação estrutural dessa molécula em comparação às demais alcanolaminas analisadas. Sob a perspectiva físico-química, o conjunto dessas diferenças espectrais indica variações no padrão de solvatação e na extensão das redes de ligações de hidrogênio em meio alcalino. Considerando o pH experimental de 9,7, o equilíbrio entre formas protonadas e não protonadas depende dos respectivos valores de  $\text{pK}_a$ , influenciando mobilidade molecular, distribuição na fase aquosa e interação com interfaces biológicas <sup>77</sup>. O alargamento diferencial das bandas  $\nu(\text{N}-\text{H})$  pode, portanto, refletir variações na participação dessas espécies em redes de hidrogênio, modulando a disponibilidade da fração neutra potencialmente envolvida na interação com células bacterianas. A relativa estabilidade dessa banda em relação às variações de solvatação sugere que ela atua como marcador estrutural do grau de ramificação molecular, reforçando a



interpretação de maior impedimento estérico associado ao carbono terciário presente na molécula de AMP.

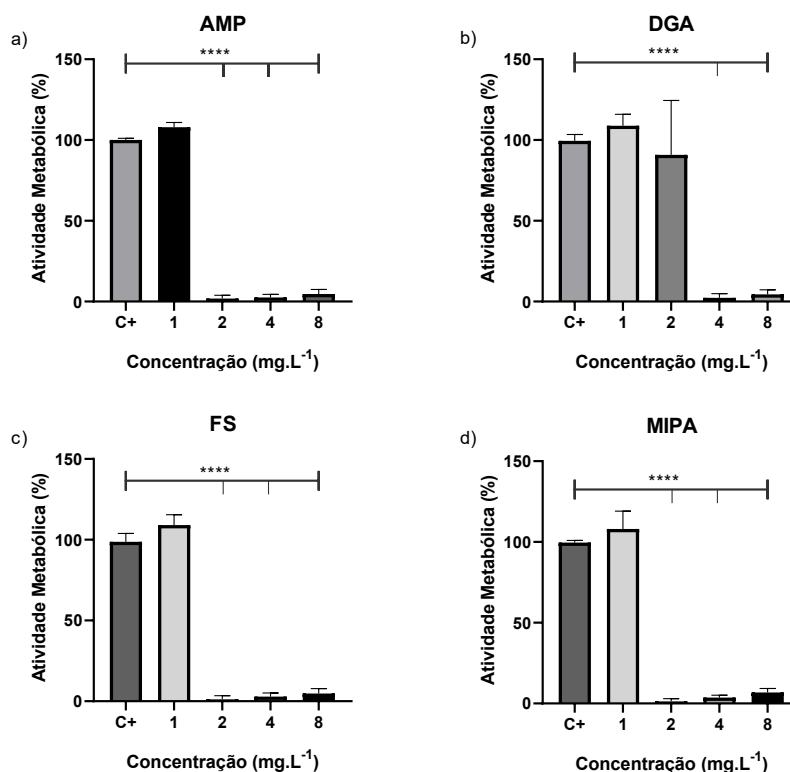
Essa análise espectroscópica fornece a base físico-química necessária para a interpretação dos resultados microbiológicos subsequentes, permitindo que as diferenças de atividade observadas sejam interpretadas à luz de parâmetros estruturais mensuráveis, em vez de serem tratadas como fenômenos empíricos isolados. Ao integrar caracterização molecular e desempenho biológico, estabelece-se um fundamento consistente para a aplicação de princípios de relação estrutura-atividade no desenvolvimento de fluidos de corte com maior estabilidade microbiológica e menor risco ocupacional.

É fundamental ressaltar que a espectroscopia Raman, por sua natureza vibracional, não permite inferir diretamente mecanismos de ação antimicrobiana. Entretanto, a preservação estrutural confirmada após a formulação e a consistência do padrão de atividade sustentam a interpretação de que as diferenças observadas decorrem predominantemente de propriedades estruturais intrínsecas das moléculas avaliadas, incluindo grau de ramificação, densidade de grupos hidroxila e organização intermolecular, e não de transformações químicas induzidas pela matriz<sup>53,77</sup>. A integração entre dados espectroscópicos e microbiológicos, portanto, fornece base físico-química consistente para a análise da relação estrutura-atividade proposta, reforçando que variáveis estruturais exercem papel modulador no comportamento biológico das alcanolaminas em sistemas de fluido de corte solúveis em água.

A atividade antimicrobiana das alcanolaminas puras foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo na faixa de 1 a 8 mg·L<sup>-1</sup>, com experimentos conduzidos em triplicata independente e análise estatística por ANOVA, evidenciando significância elevada ( $p < 0,0001$ ). A estratégia experimental envolveu a determinação da CIM, baseada na inibição do crescimento visível, seguida da confirmação da CBM por subcultivo em meio sólido, permitindo distinguir efeito bacteriostático de eliminação efetiva.

A determinação da CIM frente a *Escherichia coli* demonstrou redução significativa da atividade metabólica nas concentrações avaliadas, conforme apresentado em Figura 9. Observou-se maior efeito inibitório para AMP e FS, que apresentaram desempenhos equivalentes, seguidos por MIPA, enquanto DGA apresentou o menor efeito relativo.

Figura 9 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de soluções de alcanolamina contra *E. coli*. a) 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) Corrguard FS® (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA). Dados expressos como média  $\pm$  DP (n = 3). \*\*\*\*p  $\leq$  0,0001 (ANOVA).



Fonte: Autora

A ausência de turvação, entretanto, não implica necessariamente morte celular, razão pela qual a confirmação por plaqueamento foi conduzida, conforme ilustrado em Figura 10. A análise evidenciou maior potência bactericida relativa para as estruturas mais ramificadas frente à bactéria Gram-negativa, sugerindo influência da disponibilidade de amina funcional e do equilíbrio entre polaridade e capacidade de interação com membranas celulares

Figura 10 – Atividade antimicrobiana de diferentes alcanolaminas (AMP, DGA, FS e MIPA) contra *Escherichia coli*. a) Tabela indicando a CIM (•) e a CBM (O) dos compostos testados. b) Aspecto macroscópico do ensaio em placas de Petri, evidenciando a presença ou ausência de colônias após a exposição às diferentes concentrações.

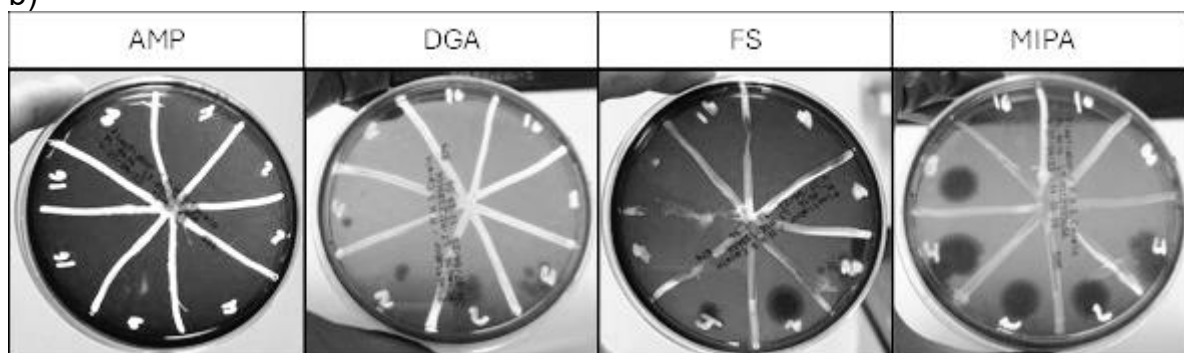
a)

| Alcanolamina | 1 mg.L <sup>-1</sup> | 2 mg.L <sup>-1</sup> | 4 mg.L <sup>-1</sup> | 8 mg.L <sup>-1</sup> | 16 mg.L <sup>-1</sup> |
|--------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| AMP          |                      | ●○                   |                      |                      |                       |
| DGA          |                      |                      | ●○                   |                      |                       |
| FS           |                      | ●                    | ○                    |                      |                       |
| MIPA         |                      | ●                    | ○                    |                      |                       |

• CIM

○ CBM

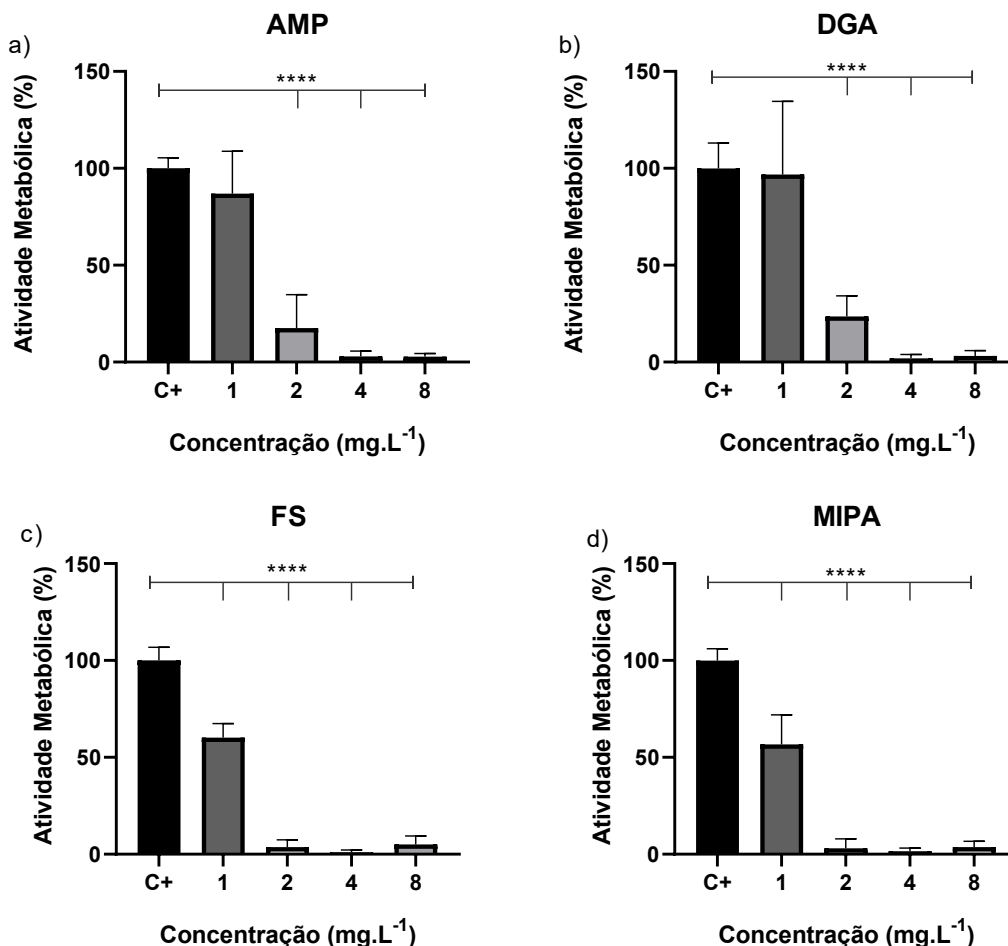
b)



Fonte: Autora

A investigação foi estendida à bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, permitindo avaliar a influência das diferenças estruturais da parede celular na suscetibilidade antimicrobiana. A redução significativa da atividade metabólica foi confirmada, conforme demonstrado em Figura 11, com confirmação bactericida apresentada em Figura 12.

Figura 11 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de soluções de alcanolamina contra *S. aureus*. a) 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP); b) 2-(2-aminoetoxi)etanol (DGA); c) Corrguard FS® (FS); d) 2-aminopropan-1-ol (MIPA). Dados expressos como média  $\pm$  DP (n = 3). \*\*\*\*p  $\leq$  0,0001 (ANOVA).

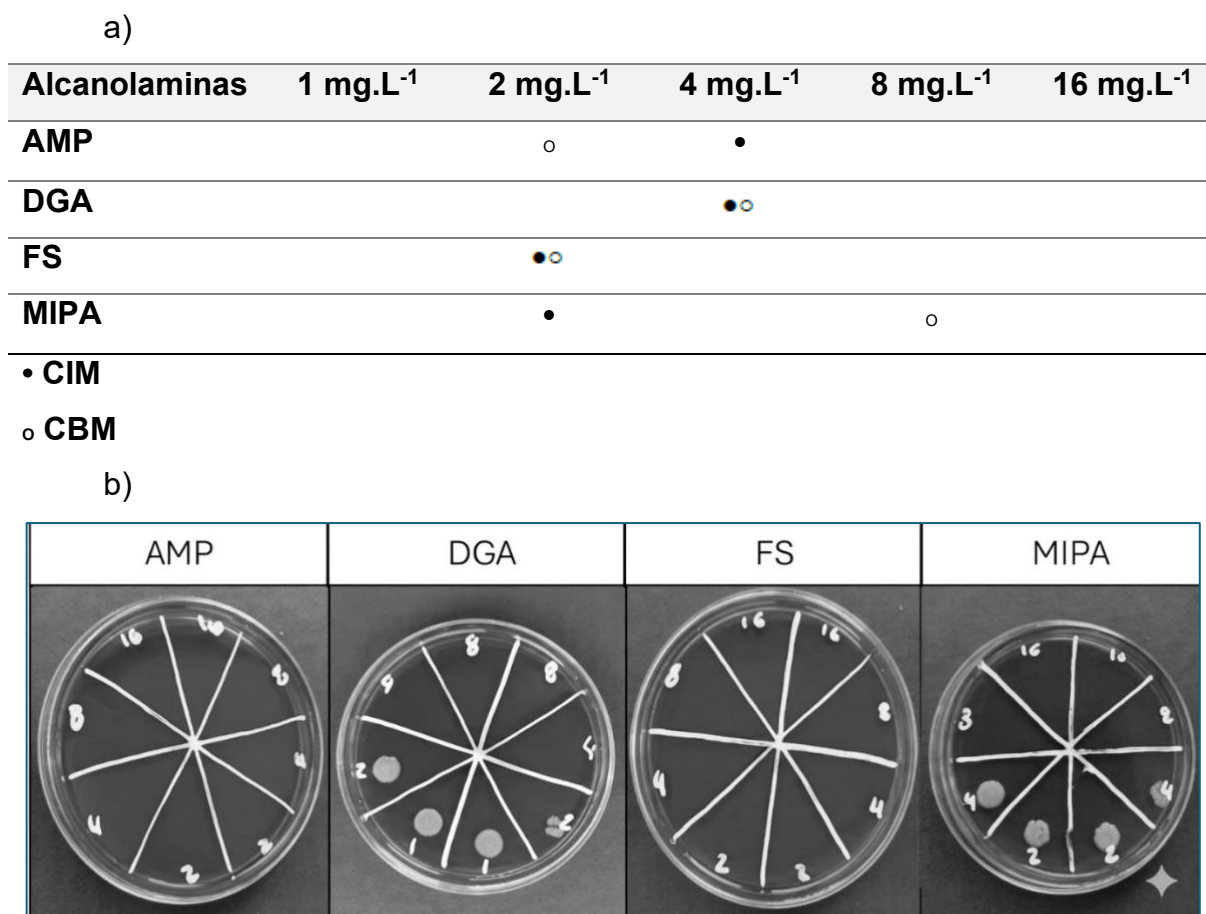


Fonte: Autora

Para *S. aureus*, observou-se padrão distinto de resposta em relação à bactéria Gram-negativa, com maior efeito inibitório para MIPA, seguida por FS, enquanto AMP apresentou desempenho intermediário e DGA manteve o menor efeito relativo.

Os resultados evidenciam que a influência das características estruturais das alcanolaminas sobre a atividade antimicrobiana é dependente do tipo de microrganismo. Enquanto para *E. coli* observa-se tendência de maior eficácia associada a estruturas mais ramificadas e com menor densidade de grupos hidroxila, para *S. aureus* essa relação não se mantém de forma direta, sugerindo que fatores adicionais, como a organização da parede celular e a interação com componentes da membrana, modulam a resposta biológica.

Figura 12 - a) Valores de CIM e CBM das alcanolaminas para *Staphylococcus aureus*. b) Ensaio de inibição em placas de ágar ilustrando os resultados macroscópicos.



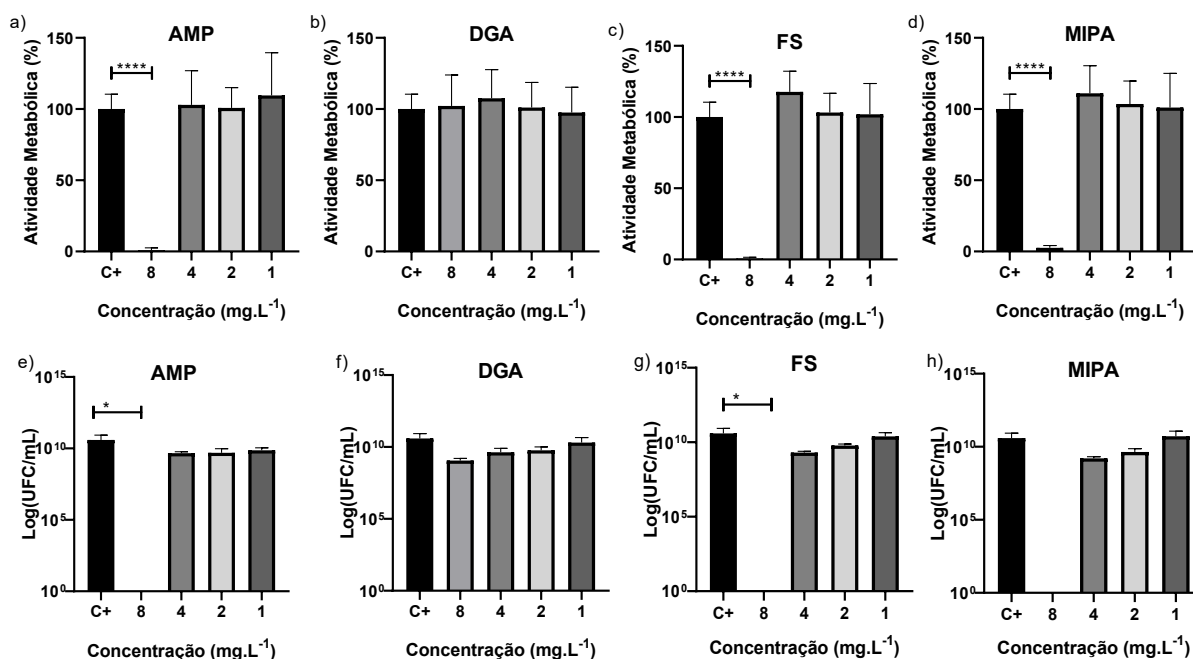
Fonte: Autora

Após a caracterização das moléculas isoladas, procedeu-se à avaliação das formulações completas, incorporando as alcanolaminas na matriz sintética, a fim de investigar o comportamento antimicrobiano no contexto real do sistema formulado. A atividade foi mensurada por redução de resazurina e por contagem de Unidades Formadoras de Colônia, permitindo análise complementar entre impacto metabólico e viabilidade celular efetiva.

A Figura 13 apresenta a atividade antimicrobiana das formulações frente a *Escherichia coli* em fase planctônica. Observou-se redução significativa da atividade metabólica, em comparação ao controle, nas formulações contendo AMP, FS e MIPA, com efeito estatisticamente mais pronunciado na concentração de 8 mg.L<sup>-1</sup> ( $p < 0,0001$ ), sugerindo a existência de um limiar mínimo de concentração para manifestação da atividade antimicrobiana. Por outro lado, a formulação contendo DGA

não apresentou redução estatisticamente significativa nas concentrações avaliadas, indicando menor eficácia sob as condições experimentais adotadas. Entre as formulações ativas, verificou-se maior efeito inibitório para AMP e FS, com desempenho semelhante, seguidos por MIPA.

Figura 13- Atividade antimicrobiana das formulações contendo alcanolaminas frente a *E. coli* em fase planctônica, avaliada por redução de resazurina (atividade metabólica) e contagem de UFC ( $\log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), nas concentrações de 1–8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Dados expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 3$ ). \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  (ANOVA).



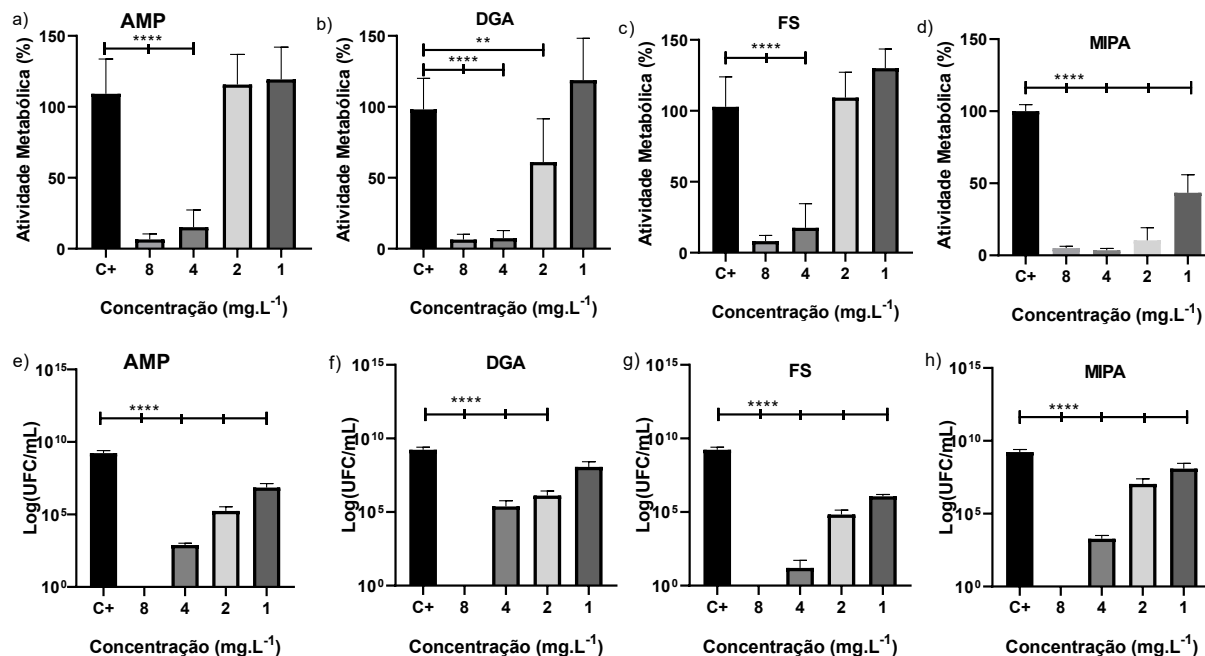
Fonte: Autora

A contagem de UFC corroborou a tendência observada para a atividade metabólica, embora com menor magnitude de redução, indicando que, no sistema formulado, o efeito antimicrobiano manifesta-se predominantemente como inibição metabólica associada à redução parcial da população viável.

A Figura 14 apresenta a atividade antimicrobiana das formulações frente a *S. aureus* em fase planctônica. Para essa espécie, observou-se comportamento claramente concentração-dependente, com redução progressiva da atividade metabólica à medida que a concentração aumentava.

Diferentemente do observado para *E. coli*, todas as formulações apresentaram redução significativa da atividade metabólica em concentrações mais elevadas, indicando maior suscetibilidade da bactéria Gram-positiva ao sistema formulado.

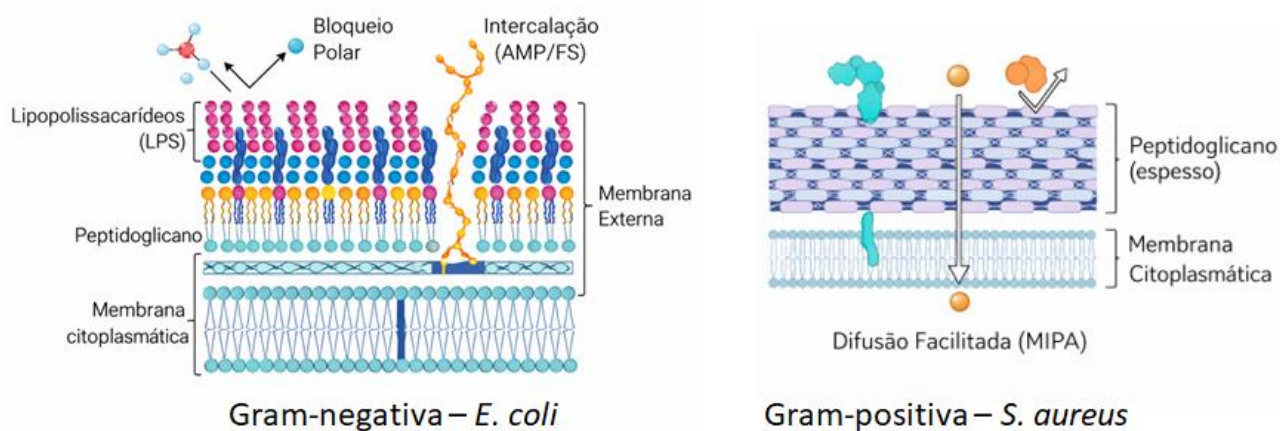
Figura 14 - Atividade antimicrobiana das formulações contendo alcanolaminas frente a *S. aureus* em fase planctônica, avaliada por redução de resazurina (atividade metabólica) e contagem de UFC (log UFC·mL<sup>-1</sup>), nas concentrações de 1–8 mg·L<sup>-1</sup>. Dados expressos como média ± DP (n = 3). \*\*\*\*p ≤ 0,0001 (ANOVA).



Fonte: Autora

Essas diferenças são compatíveis com particularidades estruturais entre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, conforme representado na Figura 15. A figura apresenta um modelo conceitual proposto, fundamentado na interpretação dos resultados experimentais e na literatura, não constituindo evidência direta de mecanismo molecular.

Figura 15 – Representação esquemática das diferenças estruturais entre bactérias Gram-negativas (*E. coli*) e Gram-positivas (*S. aureus*), destacando possíveis modos de interação das alcanolaminas com as estruturas celulares.



Fonte: elaborado pela autora com auxílio de inteligência artificial (BioRender AI).

A presença de membrana externa rica em lipopolissacarídeos nas bactérias Gram-negativas atua como barreira adicional à difusão de compostos, limitando a permeabilidade e modulando a suscetibilidade a agentes antimicrobianos<sup>24,46</sup>. Já nas bactérias Gram-positivas, a ausência dessa membrana externa e a exposição direta da espessa camada de peptidoglicano podem favorecer maior interação com moléculas anfífilas, contribuindo para a resposta concentração-dependente observada<sup>5,6</sup>.

Embora os ensaios não permitam elucidar mecanismo molecular específico, o padrão observado é compatível com a influência combinada entre propriedades estruturais das alcanolaminas, como grau de ramificação, densidade de grupos hidroxila, polaridade e estado de protonação em pH alcalino, e a arquitetura celular de cada microrganismo<sup>53,77,78</sup>.

Quando analisados em conjunto com os dados espectroscópicos, os resultados microbiológicos indicam tendência consistente entre estrutura molecular e desempenho biológico. As alcanolaminas com maior grau de ramificação estrutural e menor evidência espectral de envolvimento extensivo em redes intermoleculares apresentaram maior atividade relativa, com AMP e FS exibindo os melhores desempenhos, seguidos por MIPA, enquanto DGA apresentou o menor efeito.

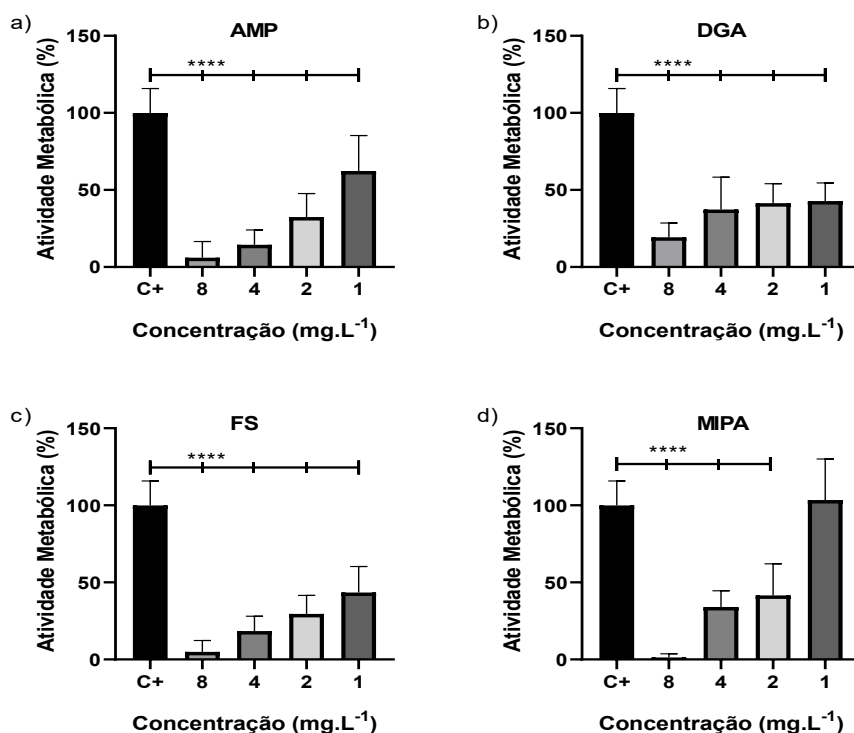
Essa convergência entre assinatura vibracional e resposta microbiológica sugere que maior polaridade e maior integração em redes de hidrogênio podem



reduzir a fração molecular efetivamente disponível para interação celular, influenciando o desempenho antimicrobiano <sup>53,80</sup>.

A Figura 16 demonstra que a formação de biofilme misto de *E. coli* e *S. aureus* foi significativamente modulada pela presença das formulações contendo alcanolaminas, com redução concentração-dependente da atividade metabólica após 48 horas de incubação (ANOVA,  $p < 0,0001$ ;  $n = 3$ ). Observou-se maior redução da viabilidade metabólica nas formulações contendo AMP e FS, enquanto a MIPA apresentou efeito intermediário e a DGA manteve atividade residual mais elevada.

Figura 16 – Atividade metabólica de biofilme misto (48 h) de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* formado na presença de formulações contendo alcanolaminas. Dados expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 3$ ). \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  (ANOVA).



Fonte: Autora.

Esse padrão indica que diferenças estruturais entre as moléculas influenciam sua atuação em estado sésil, sugerindo que características como maior impedimento estérico e balanço hidrofílico–hidrofóbico mais favorável contribuem para maior impacto sobre a viabilidade celular em biofilmes polimicrobianos. Considerando que biofilmes apresentam matriz extracelular polimérica (EPS), gradientes metabólicos e maior tolerância intrínseca a agentes antimicrobianos, a redução significativa da atividade metabólica mesmo nesse contexto indica interferência funcional sobre

células incorporadas à estrutura. No entanto, o ensaio baseado em resazurina não permite inferir desestruturação física do biofilme ou redução de biomassa total.

A diminuição da atividade metabólica pode implicar menor proliferação microbiana e redução da produção de metabólitos associados à deterioração de fluidos de corte, reforçando a relevância dos achados para a estabilidade microbiológica do sistema e para estratégias de controle menos dependentes de biocidas de elevada toxicidade.

Embora o comportamento observado em biofilme misto apresente convergência com os resultados obtidos em fase planctônica no sistema formulado, diferenças foram identificadas quando comparados aos resultados das alcanolaminas puras, especialmente para *S. aureus*. Esses achados indicam que a resposta microbiológica depende não apenas da estrutura molecular isolada, mas também do contexto do sistema formulado e da interação entre espécies em comunidades polimicrobianas <sup>53,73</sup>.

Do ponto de vista microbiológico, a formação de biofilme envolve adesão inicial, produção de matriz extracelular polimérica (EPS) e maturação estrutural com estabelecimento de gradientes metabólicos internos <sup>5,55</sup>. Células organizadas em biofilme apresentam reorganização fenotípica e maior tolerância a agentes antimicrobianos <sup>7,51</sup>. Nesse contexto, a redução significativa da atividade metabólica observada após 48 horas sugere interferência funcional na estabilidade dessas comunidades estruturadas, ainda que não tenha sido avaliada diretamente a composição ou integridade da matriz extracelular.

O comportamento concentração-dependente observado é compatível com múltiplos mecanismos potenciais, incluindo modulação do microambiente alcalino, interações eletrostáticas com componentes aniônicos da matriz e interferência na integridade de membrana ou no metabolismo respiratório <sup>53,73</sup>. Considerando o equilíbrio ácido-base das alcanolaminas em pH típico de fluidos de corte industriais, o estado de protonação influencia diretamente sua distribuição entre formas carregadas e não carregadas, modulando a interação com superfícies bacterianas negativamente carregadas <sup>18,78,89</sup>.

Estruturas com maior impedimento estérico e menor densidade de grupos fortemente hidratáveis tendem a apresentar caráter anfifílico mais pronunciado, favorecendo interação com regiões menos polares e potencial impacto sobre a

viabilidade celular. Em contraste, maior número de grupos hidroxila aumenta a solvatação e pode reduzir a interação efetiva com componentes lipídicos de membrana<sup>88,91,95</sup>.

Os principais parâmetros físico-químicos e estruturais das alcanolaminas avaliadas encontram-se consolidados na Tabela 4, cuja inserção neste ponto permite visualizar de forma integrada massa molar, número de grupos hidroxila, grau de ramificação e características eletrônicas relevantes para a análise estrutura–atividade.

Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos e estruturais das alcanolaminas avaliadas.

| Moléc<br>ula | MM<br>(g·mol <sup>-1</sup> ) | Nº de<br>grupos<br>OH | Tipo de<br>grupo<br>amino | Grau de<br>ramificação          | pKa<br>(25 °C)* | Polaridade<br>relativa** | Atividade<br>observad<br>a |
|--------------|------------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|
| <b>AMP</b>   | 89,14                        | 1                     | Primário                  | Alta (C<br>terciário)           | ~9,7            | Moderada                 | Alta                       |
| <b>DGA</b>   | 105,14                       | 2                     | Primário                  | Baixa<br>(cadeia linear)        | ~9,0–9,2        | Alta                     | Baixa                      |
| <b>FS</b>    | ~83–<br>90                   | 1                     | Predom.<br>primário       | Alta                            | ~9,7            | Moderada                 | Alta                       |
| <b>MIPA</b>  | 75,11                        | 1                     | Primário                  | Intermediária<br>(C secundário) | ~9,9            | Intermediár<br>ia        | Intermedi<br>ária          |

\*Valores de pKa reportados na literatura [61, 69, 74].

\*\*Estimativa qualitativa baseada na estrutura molecular e densidade de grupos hidroxila.

A análise dos espectros FT-Raman das alcanolaminas puras evidenciou diferenças vibracionais compatíveis com suas particularidades estruturais. Na região de 3000–2800 cm<sup>-1</sup>, associada a estiramentos C–H, observou-se maior contribuição relativa relacionada a grupos metil para o AMP e para FS, coerente com maior grau de ramificação estrutural. A MIPA apresentou perfil intermediário, enquanto a DGA exibiu menor intensidade relativa nessa região, consistente com uma arquitetura menos ramificada.

Na região de 1100–1000 cm<sup>-1</sup>, atribuída a vibrações associadas a C–O e C–N, a DGA apresentou contribuição mais pronunciada relacionada a modos C–O, compatível com maior densidade de grupos hidroxila e maior caráter polar, ao passo que o AMP e a MIPA exibiram menor contribuição relativa nessa faixa.

Particularmente relevante para a interpretação da relação estrutura–atividade foi o comportamento da banda associada ao estiramento N–H na região em torno de  $3350\text{ cm}^{-1}$  <sup>28–30,77,94</sup>. A variação sistemática da intensidade relativa dessa banda, após normalização entre as amostras, é compatível com diferenças no microambiente do grupo amino e na extensão de interações intermoleculares por ligações de hidrogênio.

Embora a espectroscopia Raman não permita inferir mecanismo antimicrobiano específico, as diferenças vibracionais observadas são coerentes com variações estruturais que tendem a modular basicidade aparente, polaridade efetiva e potencial de interação molecular com sistemas biológicos, fornecendo suporte físico-químico à interpretação microbiológica subsequente <sup>8,27,77–79</sup>.

Ao avaliar conjuntamente os resultados microbiológicos em fase planctônica e em biofilme misto, observou-se tendência consistente no sistema formulado, na qual AMP e FS apresentaram o melhor desempenho global, MIPA exibiu comportamento intermediário e DGA demonstrou o menor efeito relativo. Essa tendência foi sustentada por significância estatística elevada, indicando que o desempenho diferencial está associado a propriedades estruturais intrínsecas <sup>28–30,77,94</sup>.

De modo geral, moléculas mais ramificadas e com menor densidade de grupos hidroxila apresentaram melhor desempenho microbiológico, enquanto estruturas mais lineares e com maior densidade de grupos hidroxila demonstraram atividade inferior. No entanto, essa relação mostrou-se dependente do sistema avaliado, sendo modulada por fatores como tipo de microrganismo, estado fisiológico (planctônico ou séssil) e presença da matriz formulada.

A consistência observada no sistema formulado indica que o efeito antimicrobiano das alcanolaminas está ancorado em propriedades estruturais mensuráveis, embora moduladas pelo contexto biológico. A reprodução do padrão geral de desempenho em diferentes condições experimentais reforça a robustez da interpretação e sustenta a hipótese central deste estudo: a arquitetura molecular exerce influência relevante no comportamento microbiológico em sistemas de fluidos de corte.

Nesse contexto, as formulações contendo AMP e FS destacaram-se pelo desempenho superior, indicando que maior impedimento estérico e menor densidade de grupos fortemente hidratáveis constituem atributos estruturais favoráveis à estabilidade microbiológica. Estruturas mais lineares e extensamente solvatadas, por

sua vez, apresentaram desempenho inferior, reforçando a coerência da abordagem estrutura–atividade adotada.

Do ponto de vista aplicado, a redução da atividade metabólica do biofilme misto sugere potencial diminuição da carga microbiana funcionalmente ativa no sistema, com implicações diretas para a estabilidade microbiológica do fluido e para a mitigação da exposição ocupacional a agentes biológicos. Em sistemas industriais, biofilmes atuam como reservatórios persistentes de contaminação, promovendo liberação contínua de células viáveis e endotoxinas para o fluido circulante<sup>10,21,53</sup>, fenômeno associado ao risco ocupacional decorrente da geração de bioaerossóis contaminados<sup>8,61</sup>.

Ao atingir o objetivo proposto de correlacionar descritores estruturais com resposta biológica, este trabalho desloca a discussão de um modelo reativo, centrado na adição posterior de biocidas, para um modelo preventivo de engenharia de formulação. A análise estrutura–atividade aplicada às alcanolaminas se consolida, assim, como estratégia de decisão tecnológica voltada à segurança química, à proteção da saúde ocupacional e à sustentabilidade industrial<sup>38,72</sup>.

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou que características estruturais das alcanolaminas influenciam o comportamento microbiológico de fluidos de corte solúveis em água, evidenciando uma associação consistente entre arquitetura molecular e estabilidade microbiológica do sistema. A caracterização estrutural por espectroscopia FT-Raman confirmou distinções entre as moléculas avaliadas, mantidas após incorporação às formulações, permitindo correlacionar descritores estruturais com atividade antimicrobiana em diferentes condições experimentais.

Em cultura planctônica, as concentrações inibitórias mínimas variaram entre 2 e 4 mg·L<sup>-1</sup> para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com concentrações bactericidas entre 2 e 8 mg·L<sup>-1</sup>. Frente a *E. coli*, AMP e FS apresentaram maior atividade relativa, seguidos por MIPA, enquanto DGA apresentou o menor efeito. Para *S. aureus*, observou-se comportamento distinto, com maior atividade inibitória para MIPA, seguida por FS, enquanto AMP apresentou efeito intermediário e DGA manteve o menor desempenho.

Nos ensaios de biofilme misto, observou-se convergência no sistema formulado, com AMP e FS promovendo maior redução da atividade metabólica, MIPA apresentando efeito intermediário e DGA o menor efeito relativo, indicando que o desempenho antimicrobiano resulta da interação entre propriedades estruturais das moléculas e o contexto biológico do sistema avaliado.

De modo geral, verificou-se tendência na qual moléculas mais ramificadas e com menor densidade de grupos hidroxila apresentaram melhor desempenho microbiológico, enquanto estruturas mais lineares e mais polares exigiram maiores concentrações para inibição e efeito bactericida. No entanto, essa relação mostrou-se dependente do microrganismo e do estado fisiológico avaliado, evidenciando que a resposta microbiológica é modulada por fatores estruturais e biológicos de forma integrada.

Embora a abordagem seja exploratória e conduzida em modelo experimental simplificado, os resultados fornecem base racional para seleção de alcanolaminas com maior potencial de estabilidade microbiológica. A incorporação de princípios de relação estrutura–atividade na engenharia de formulação configura estratégia preventiva plausível para reduzir a formação de biofilmes, a dependência de biocidas corretivos e os riscos microbiológicos em sistemas de usinagem.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a expansão da biblioteca molecular de alcanolaminas investigadas, permitindo aprofundar a compreensão das relações entre arquitetura molecular, propriedades físico-químicas e comportamento microbiológico. Estudos envolvendo comunidades microbianas industriais mais complexas e representativas, bem como a validação experimental em sistemas reais de usinagem, serão fundamentais para consolidar a aplicabilidade dos princípios observados neste trabalho. Paralelamente, o desenvolvimento de formulações com maior biorresistência intrínseca representa um caminho promissor para reduzir a dependência de biocidas potencialmente tóxicos, contribuindo para o aumento da estabilidade microbiológica dos fluidos de corte ao longo de seu ciclo de uso.

Nesse contexto, a integração entre pesquisa acadêmica e setor industrial assume papel estratégico. A aplicação de abordagens baseadas em engenharia de formulação e relação estrutura–atividade pode favorecer o desenvolvimento de tecnologias mais seguras, eficientes e sustentáveis para a indústria metalmeccânica. Essa interface entre inovação tecnológica, eficiência produtiva e responsabilidade socioambiental reforça o potencial do setor privado como agente ativo na promoção de ambientes de trabalho mais seguros e na redução de impactos ambientais associados ao uso e descarte de fluidos de corte.

## REFERÊNCIAS

- 1 BRINKSMEIER, E. *et al.* Metalworking fluids—Mechanisms and performance. **CIRP Annals**, v. 64, n. 2, p. 605–628, 2015.
- 2 DEBMANDAL, M. *et al.* Metalworking Fluids: A Review on Their Types, Functions, and Health Hazards. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 29, n. 4, p.289-311, 2011.
- 3 SOKOVIĆ, M.; MIJANOVIĆ, K. Ecological aspects of the cutting fluids and its influence on quantifiable parameters of the cutting processes. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 109, n. 1-2, p. 181-189, 2001.
- 4 SOUSA, M. *et al.* Biocides as drivers of antibiotic resistance: A critical review. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 25, 2025.
- 5 FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The Biofilm Matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623-633, 2010.
- 6 MAILLARD, J. Y. Resistance of Bacteria to Biocides. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 2, 2018.
- 7 CAPELLETTI, E. **Biofilms in Metalworking Fluids**: Formation, Control, and Health Implications. 2016. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Università di Bologna, Bologna, 2016.
- 8 PERKINS, S. D.; ANGENENT, L. T. Potential Pathogenic Bacteria in Metalworking Fluids and Aerosols from a Machining Facility. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 74, n. 3, p. 643–654, 2010. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2010.00976.x
- 9 IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, v. 88, 2006.
- 10 PASSMAN, F. J. Biocorrosion of Metalworking Fluids. *In*: COVINO JR., B. S. (ed.): **Corrosion**: Fundamentals, Testing, and Protection. [s.l.]: ASM International, p. 1025-1030, 2003.
- 11 MATTSBY-BALTZER, I. *et al.* Microbial growth and accumulation in industrial metal-working fluids. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 55, n. 10, p. 2681–2689, out. 1989. DOI: 10.1128/AEM.55.10.2681-2689.1989.
- 12 NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH). Criteria for a Recommended Standard: Occupational Exposure to Metalworking Fluids. Cincinnati, OH: DHHS (NIOSH) Publication No. 98-102, 1998. DOI: 10.26616/NIOSH PUB98102.



- 13 COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, Washington, v. 284, n. 5418, p. 1318–1322, 1999.
- 14 FLEMMING, H.-C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 8, n. 9, p. 623–633, 2010. DOI: 10.1038/nrmicro2415.
- 15 GARCIA, E. et al. Lung cancer mortality and exposure to synthetic metalworking fluid and biocides: controlling for the healthy worker survivor effect. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 75, n. 10, p. 730–735, 2018.
- 16 THORNE, P. S. Environmental endotoxin exposure and asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 148, n. 1, p. 61-63, 2021. DOI 10.1016/j.jaci.2021.05.004.
- 17 KOCH, T. Microbiology of Metalworking Fluids: What We Know and Lessons to be Learnt. **Acta Mechanica et Automatica**, v. 17, n. 2, p. 166-172, 2023. DOI 10.2478/ama-2023-0018.
- 18 HENRIKS-ECKERMAN, M. L. et al. Determination of occupational exposure to alkanolamines in metal-working fluids. **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 51, n. 2, p. 153-160, 2007.
- 19 INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol**. Lyon: IARC, 2006. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 88).
- 20 JESSOP, P. G. *et al.* Opportunities for greener alternatives in chemical formulations. **Green Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 2664-2678, 2015.
- 21 BIODETERIORATION-CONTROL. What's in a name – are biocide-free metalworking fluids less toxic than those formulated with biocides? **Biodeterioration Control**, 2022. Disponível em: <https://biodeterioration-control.com/whats-in-a-name-are-biocide-free-metalworking-fluids-less-toxic-than-those-formulated-with-biocides/>. Acesso em: 01 set. 2025.
- 22 BYERS, J. P. Metalworking Fluids. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2017.
- 23 BASSETTI, J.; POULESQUEN, A.; PIERLOT, C. Review on Cutting Fluids: Formulation, Chemistry and Deformation. **Journal of Oleo Science**, v. 73, n. 7, p. 921-941, 2024. DOI: 10.5650/jos.ess24068
- 24 THOMPSON, Ian; VAN DER GAST, Chris. The microbiology of metal working fluids. In: FLICKINGER, Michael C. (ed.). **Encyclopedia of Industrial Biotechnology**: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology. New York: John Wiley & Sons, 2010. p. 1–10. DOI: 10.1007/978-3-540-77587-4\_173.
- 25 DAHLMAN-HÖGLUND, A. et al. Endotoxin in Aerosol Particles from Metalworking Fluids Measured with a Sioutas **Cascade Impactor**. **Annals of Work Exposures**

**and Health**, v. 66, n. 2, p. 260–268, 2022. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1093/annweh/wxab077>

26 VAN DER GAST *et al.* Identification and characterisation of bacterial populations of an in-use metal-working fluid by phenotypic and genotypic methodology. **Int. Biodeter Biodegr**, v. 47, n. 2, p. 113-123, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(01\)00036-1](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(01)00036-1)

27 ABRI, A.; SADEGHI, Y. J. New formulation of metalworking fluids using emulsifiers and alkanolamines for enhanced resistance to microbial degradation. **Results in Chemistry**, v. 15, p. 102275, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102275>

28 KABARA, J.J.; CONLEY, A. J.; TRUANT, J. P. Relationship of chemical structure and antimicrobial activity of alkyl amides and amines. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 2, n. 6, p. 492-498, 1972. DOI: 10.1128/AAC.2.6.492.

29 KOSZELEWSKI, D. *et al.* Relationship between Structure and Antibacterial Activity of  $\alpha$ -Aminophosphonate Derivatives Obtained via Lipase-Catalyzed Kabachnik-Fields Reaction. **Materials**, v. 15, n. 11, 3846, 2022. DOI: 10.3390/ma15113846.

30 PAN, Y.; WANG, Y.; Bryant, S. H. Pharmacophore and 3D-QSAR Characterization of 6-Arylquinazolin-4-amines as Cdc2-like Kinase 4 (Clk4) and Dual Specificity Tyrosine-phosphorylation-regulated Kinase 1A (Dyrk1A) Inhibitors. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 4, p. 938–947, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/ci300625c>.

31 ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Transformando nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**. Nova York: Nações Unidas, 2015. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda> . Acesso em: 20 fev. 2026.

32 PASSMAN, F. J.; KÜENZI, P. Microbiology in Water-Miscible Metalworking Fluids. **Tribology Transactions**, v. 63, n. 6, p. 1147-1171, 2020. DOI:10.1080/10402004.2020.1764684.

33 LUO, X. *et al.* Sustainable development of cutting fluids: The comprehensive review of vegetable oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 473, 142277, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.143544>.

34 JABBAR, M. A. Metalworking Fluid Exposure and Consequences on Skin Health in a Metal Machining Factory: Review Article. **International Journal For Empirical Education and Research**, v. 2, n. 9, p. 27-35, 2018.

35 OSAMA, M. *et al.* Recent developments and performance review of metal working fluids. **Tribology International**, v. 114, p. 389-401, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2017.04.050>

36 WEGST, W. F. Metalworking Fluids. *In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

37 KOCH, T. Microbiology of Metalworking Fluids: What We Know and Lessons to be Learnt. *Acta Mechanica et Automatica*, v. 17, n. 2, p. 166-173, 2023. DOI: 10.2478/ama-2023-0018.

38 DI MARTINO, P. Ways to improve biocides for metalworking fluid. **AIMS Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 13-27, 2021. DOI: 10.3934/microbiol.2021002

39 COLONIAL CHEMICAL INC. **Formulating semi-synthetic metalworking fluids**. [S.l.]: Colonial Chemical Inc., 2023. Disponível em: [https://colonialchem.com/wp-content/uploads/Formulating\\_SS\\_MWFs\\_CCI\\_03162023.pdf](https://colonialchem.com/wp-content/uploads/Formulating_SS_MWFs_CCI_03162023.pdf). Acesso em: 20 fev. 2026

40 CIMM. Qualidades e propriedades desejáveis nos fluidos de corte - Aditivos. **CIMM**, 2009. Disponível em: [https://www.cimm.com.br/portal/material\\_didatico/4831-qualidades-e-propriedades-desejaveis-nos-fluidos-de-corte-aditivos](https://www.cimm.com.br/portal/material_didatico/4831-qualidades-e-propriedades-desejaveis-nos-fluidos-de-corte-aditivos). Acesso em: 20 fev. 2026.

41 GOMES, R. C. *et al.* O fluido de corte e o controle da contaminação microbiana. **Molde Injeção Plásticos**, 2003. Disponível em: <http://moldesinjecao plasticos.com.br/o-fluido-de-corte-e-o-controle-da-contaminacao-microbiana/>. Acesso em: 20 fev. 2026.

42 ARANDANET. Recontaminação do fluido de corte presente em fresadoras. **MM**, 2017. Disponível em: [https://www.arandanet.com.br/revista/mm/materia/2017/02/23/recontaminacao\\_do\\_fluido.html](https://www.arandanet.com.br/revista/mm/materia/2017/02/23/recontaminacao_do_fluido.html). Acesso em: 20 fev. 2026.

43 CIMM. Controle do crescimento microbiano nos fluidos de corte utilizando a radiação ultravioleta. *CIMM*, [SI], [sd]. Disponível em: <https://www.cimm.com.br/uploads/cimm/publicacao/arquivo/43/ArtigoUV.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2026.

44 KAPOOR, R. *et al.* Estabelecimento de comunidade microbiana, sucessão e dinâmica temporal em uma operação de fluido metalúrgico semissintético industrial: um rastreamento em tempo real de 50 semanas. **Microrganismos**, v. 12, n. 2, 267, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020267>

45 SAHA, R.; DONOFRIO, R. S. The microbiology of metalworking fluids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 94, n. 5, p. 1119–1130, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4055-7>.

46 MURAT, Jean-Baptiste *et al.* Factors Influencing the Microbial Composition of Metalworking Fluids and Potential Implications for Machine Operator's Lung. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 1, p. 34-41, 2012. DOI: 10.1128/AEM.06230-11

47 DAHLMAN-HÅGLUND, Annette *et al.* Endotoxin in Aerosol Particles from Metalworking Fluids: Exposure Assessment and Workplace Characterization. **Annals**

of **Work Exposures and Health**, v. 66, n. 4, p. 237-248, 2022. DOI: 10.1093/annweh/wxab077.

48 HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE. **Bacterial contamination in metalworking fluids**. \*UK Health and Safety Executive Technical Guidance\*, 2024. Disponível em: <https://www.hse.gov.uk/metalworking/bacterial.htm>. Acesso em: 15 jan. 2026.

49 LEVILLY, Romain *et al.* Characterization of occupational inhalation exposures to particulate and gaseous straight and water-based metalworking fluids. **Scientific Reports**, v. 14, 18814, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-69677-w.

50 ENNING, D.; GARRELF, J. Corrosion of iron by sulfate-reducing bacteria: new views of an old problem. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 4, p. 1226–1236, 2014. DOI: 10.1128/AEM.02848-13.

51 BILLINGS, N. *et al.* The extracellular matrix component Psl provides fast-acting antibiotic defense in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 9, n. 8, e1003526, 2013. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003526.

52 ABU SHAQRA, Qahtan A.; GROOM, R. A.; AL-GABBIESH, A. Non-Tubercle Mycobacteria and Other Contaminants in Metalworking Fluids from Small Turneries. **Journal of Ecological Engineering**, v. 23, n. 4, p. 315-324, 2022. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/145462>

53 VON KÄNEL, G. *et al.* It is useless to resist: biofilms in metalworking fluid systems. **Life**, v. 15, n. 6, 890, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/life15060890>

54 HASHIM, Zailina *et al.* Exposure to microbial contaminants in metalworking fluids (MWF) and the fractional exhaled nitric oxide (FeNO) levels among machining industry workers. **Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences**, n. 15, p. 147-152, 2019. Disponível em: <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/76446>. Acesso em: 14 jan. 2026

55 MONDAL, S. *et al.* Quorum sensing in biofilm-mediated heavy metal resistance and transformation by microbial populations. **Front. Microbiol.**, v. 16, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1607370>

56 NETT, R. J. *et al.* Occupational respiratory and skin diseases among workers exposed to metalworking fluids. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 21, n. 2, p. 121-127, 2021. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000717

57 CHIA, T.-P. *et al.* Effectiveness of engineering interventions in decreasing worker exposure to metalworking fluid aerosols. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 923–927, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.355>

58 HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE (HSE). **Metalworking fluids: health and safety guidance**. HSG258. 2. ed. Bootle: Health and Safety Executive, 2019.

- 59 VANHAUTEGHEM, D. *et al.* Flow cytometry, a powerful novel tool to rapidly assess bacterial viability in metal working fluids: Proof-of-principle. **PLoS One**, v. 14, n. 2, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0211583.
- 60 GILBERT, Y; VEILLETTE, M.; DUCHAINE, C. Metalworking fluids biodiversity characterization. **J. Appl. Microbiol.**, v. 108, n. 2, p 437-449, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04433.x>.
- 61 THORNE, P. S. *et al.* Metalworking Fluid with Mycobacteria and Endotoxin induces hypersensitivity pneumonitis in Mice. **Am J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 173, n. 7, p. 759-768, 2005. DOI: 10.1164/rccm.200405-627OC.
- 62 XU, X. *et al.* Assessment of Workers' Personal Exposure to Metalworking Fluid Aerosols in an Automotive Parts Manufacturing Facility and Their Health Outcomes. **ACS Chemical Health & Safety**, v. 31, n. 3, p. 540-547, 2024. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chas.4c00058>. Acesso em: 2 out. 2025.
- 63 LEVILLY, Romain *et al.* Characterization of occupational inhalation exposures to particulate and gaseous straight and water-based metalworking fluids. **Scientific Reports**, v. 14, 18814, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-69677-w.
- 64 ABU SHAQRA, Q.; AL GROOM, R.; AL-GABBIESH, A. Non-Tubercle Mycobacteria and Other Contaminants in Metalworking Fluids from Small Turneries. *Journal of Ecological Engineering*, v. 23, n. 4, p. 315–324, 2022. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/145462>
- 65 GUO, S. G. *et al.* Experimental evaluation of the lubrication performance of mixtures of castor oil with other vegetable oils in MQL grinding of nickel-based alloy. **J. Clean Prod.**, v. 140, n. 3, 1060-1076, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.073>
- 66 DUARTE, P. D.; SANGI, D. P.; CORREA, A. Síntese de Compostos N-Heterociclos Empregando Micro-ondas. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 3, p. 204–213, 2010.
- 67 FERNANDES, F. de S. **Síntese, caracterização e avaliação biológica de aminoálcoois lipofílicos acoplados a carboidratos, candidatos a novos agentes antituberculose**. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.
- 68 VOGT, Monika; PASEL, Christoph; BATHEN Dieter. Characterisation of CO<sub>2</sub> absorption in various solvents for PCC applications by Raman Spectroscopy. **Energy Procedia**, v.4, p. 1520-1525, 2011.
- 69 TANG, L. *et al.* Biological Stability of Water-Based Cutting Fluids: Progress and Application. **Chinese Journal of Mechanical Engineering**, v. 35, n. 3, p. 1-15, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10033-021-00667-z>.

- 70 TRAFNY, E. A. Microorganisms in metalworking fluids: current issues in research and management. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, v. 26, n. 1, p. 4-15, 2013. DOI: 10.2478/S13382-013-0075-5
- 71 FALKINHAM III, J. O. Effects of Biocides and Other Metal Removal Fluid Constituents on Mycobacterium immunogenum. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 7, p. 2057-2061, 2009. DOI: 10.1128/AEM.02406-08.
- 72 ABRI, A.; SADEGHI, Y. J. New formulation of metalworking fluids using emulsifiers and alkanolamines for enhanced resistance to microbial degradation. **Results in Chemistry**, v. 15, 2025. DOI: 10.1016/j.rechem.2025.102275.
- 73 TRAFNY, Ewa A. *et al.* Microbial contamination and biofilms on machines of metal industry using metalworking fluids with or without biocides. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 99, p. 31–38, 2015. DOI: 10.1016/j.ibiod.2014.12.015.
- 74 GERNON, Michael D.; VERDINO, Guy; ASH, Robert. **Optimizing metalworking fluid performance with primary and tertiary amines**. Denver, CO: Eastman Chemical, 2018.
- 75 BRINKSMEIER, E. *et al.* Metalworking fluids—Mechanisms and performance. **CIRP Annals**, v. 64, n. 2, p. 605–628, 2015. DOI: 10.1016/j.cirp.2015.05.003.
- 76 VAN GINKEL, C. G.; LOUWERSE, A.; VAN DER TOGT, B. Substrate specificity of a long-chain alkylamine-degrading Pseudomonas sp. isolated from activated sludge. **Biodegradation, Dordrecht**, v. 19, n. 1, p. 129–136, 2008. DOI: 10.1007/s10532-007-9120-z.
- 77 SANDIN, M. Selective toxicity of alkanolamines. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 3, p. 491-493, 1990. DOI: 10.1128/AAC.34.3.491
- 78 MATTSBY-BALTZER, I.; SANDBERG, M.; AHLSTRÖM, B.; ALLENMARK, S.; EDEBO, M.; FALSEN, E.; PEDERSEN, K.; RODIN, N.; THOMPSON, R. A.; EDEBO, L. Control of microbial growth in water-based metal-working fluids. **International Biodeterioration, Barking**, v. 27, n. 1, p. 61–74, 1991. DOI: 10.1016/0265-3036(91)90024-L.
- 79 BAKALOVA, Svetlana; GEORGIEVA, Svetlana. Microbial toxicity of ethanolamines. **Diagnosis Net**, 2008. Disponível em: <http://www.diagnosisnet.com/bbeq/>. Acesso em: 15 mar. 2026.
- 80 GARSIN, D. A. Ethanolamine utilization in bacterial pathogens: roles and regulation. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 8, n. 4, p. 290–295, 2010. DOI: 10.1038/nrmicro2334
- 81 SUURONEN, K. *et al.* Occupational dermatitis and allergic respiratory diseases in Finnish metalworking machinists. **Occupational Medicine**, v. 57, n. 4, p. 277–283, 2007.

82 GORDON, T. Metalworking fluid—the toxicity of a complex mixture. **J. Toxicol Environ Health A**, v. 67, n. 3, p. 209–19, 2004. DOI: 10.1080/15287390490266864

83 AMRITA, M.; SRIKANT, R.; SITARAMARAJU, A. Performance Evaluation of Nanographite-Based Cutting Fluid in Machining Process. **Materials and Manufacturing Processes**, v. 29, n. 5, p. 600–605, 2014.

84 TIMMIS, K. N. **Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology**. Berlin: Springer, 2010.

85 KAPOOR, R.; YADAV, J. S. Expanding the mycobacterial diversity of metalworking fluids (MWFs): Evidence showing MWF colonization by *Mycobacterium abscessus*. **FEMS Microbiol. Ecol**, v. 79, n. 2, p. 392-399., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01227.x>.

86 FRIS, U. *et al.* Isothiazolinones in commercial products at Danish workplaces. **Contact Dermatitis**, v. 71, n. 2, p. 65-74, 2014. DOI: 10.1111/cod.12235.

87 GUERRA, André Fioravante. **Microbiologia de alimentos: métodos de contagem microbiana**. Valença: [s.n.], 2016. Disponível em: <[www.microbiologia-de-alimentos.com](http://www.microbiologia-de-alimentos.com)>.

88 LIN-VEN, D. *et al.* **Handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules**. [S.l.]: Elsevier, 1991. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124511606>. Acesso em: 11 fev. 2026.

89 IR Spectroscopy of Amines. Disponível em: <https://www.orgchemboulder.com/Spectroscopy/irtutor/aminesir.shtml>. Acesso em: 11 fev. 2026.

90 Corrguard FS multifunctional amino alcohol for improved Aluminum staining performance. **Technical Data Sheet**. Disponível em: [https://www.lehvoss.de/fileadmin/user\\_upload/oberflaechentechnik/Downloads/TDS\\_CORRGUARD\\_FS\\_20200416.pdf](https://www.lehvoss.de/fileadmin/user_upload/oberflaechentechnik/Downloads/TDS_CORRGUARD_FS_20200416.pdf). Acesso em: 11 fev. 2026.

91 JEFFREY, G. A. **An Introduction to Hydrogen Bonding**. New York: Oxford University Press, 1997.

92 RAMAN Database Table with Search. InstaNANO. Disponível em: <https://instanano.com/all/characterization/raman/raman-database-table-with-search/>. Acesso em: 11 fev. 2026.

93 MORSH, K. *et al.* Spectroscopy of amines. In: MORSH, K. *et al.* **Organic chemistry**. Houston: OpenStax, 2023. Disponível em: <https://openstax.org/books/organic-chemistry/pages/24-10-spectroscopy-of-amines>. Acesso em: 11 fev. 2026.

94 SANDIN, M.; ALLENMARK, S.; EDEBO, L. Selective toxicity of alkanolamines. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 3, p. 491-493, 1990. DOI: 10.1128/AAC.34.3.491

95 YAMAMURA, H. *et al.* Rule of hydrophobicity/hydrophilicity balance in membrane-disrupting antimicrobial activity of polyalkylamino cyclodextrins synthesized via click chemistry. **ChemistrySelect**, Weinheim, v. 1, n. 2, p. 469–472, 2016. DOI: 10.1002/slct.201500017.

96 CHEMBK. **Diisopropanolamine (DIPA)**: chemical properties and application. Disponível em: <https://www.chembk.com/en/chem/Diisopropanolamine>. Acesso em: 11 fev. 2026.

97 SUVITHA, A.; PERIANDY, S. Vibrational analysis using FT-IR, FT-Raman spectra and HF-DFT methods and NBO, NLO, NMR, HOMO-LUMO, UV and electronic transitions studies on 2,2,4-trimethyl pentane. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 138, p. 900-912, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.031>



## ANEXO A – TERMO DE COLABORAÇÃO COM EMPRESA YUSHIRO DO BRASIL IND. QUIM. LTDA

Termo de colaboração e doação de amostras.



YUSHIRO DO BRASIL Ind. Quim. Ltda  
Av. Henry Nestlé, 3100 – Bairro da Grama  
Caçapava – São Paulo – CEP 12286-140  
Tel.: 55 (12) 3654-8100

ISO 9001 2015  
ISO 14001 2015

### TERMO DE DOAÇÃO DE AMOSTRAS

Eu, Rafael Gemignani, gerente de Pesquisa e Desenvolvimento na Yushiro do Brasil, inscrito no CRQ 04361778, autorizei a doação de amostras de fluidos de usinagem solúveis, amostras de alcanolaminas e biocidas para testes laboratoriais. Estou ciente que estas amostras serão utilizadas por Paula Macedo Rodrigues, sob orientação da Professora Doutora Maiara Lima Castilho no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba para testes microbiológicos e realização de trabalho científico com publicação de artigo.

Caçapava, 06 de junho de 2023.

## ANEXO B – XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA

Participação no XXIX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, realizado pela SBEB – Sociedade Brasileira de Engenharia Biomédica em 2024 com a publicação do trabalho em [https://doi.org/10.1007/978-3-031-94921-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-031-94921-0_2)



### Inhibitory Effect of Alkanolamines for Bioresistance of Cutting Fluids Associated With Occupational Diseases

P.M. Rodrigues<sup>1</sup>, G.M.A de Abreu<sup>1</sup>, L.G. dos Santos<sup>1</sup>, E. J. N. de Andrade<sup>1</sup>, M.L. Castilho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bionanotechnology Laboratory, Research and Development Institute, University of Paraíba Valley, São José dos Campos 12244-000, SP, Brazil

**Abstract—** In metallurgical industry, water-soluble cutting fluids are a frequent cause of occupational irritation and/or contact dermatitis in operators. Inhalation of aerosols from cutting fluids can cause irritation to the throat, nose and lungs, while exposure is often associated with chronic inflammation of the bronchi, hypersensitivity pneumonitis and worsening of pre-existing respiratory issues. Gram-negative, Gram-positive bacteria and mycobacteria isolated from cutting fluid has generated great concern due to their ability to act as potential pathogens, which justify why biocides are generally incorporated into the cutting fluid formulation by the manufacturer. Alkanolamines have been used in metallurgical fluids as corrosion inhibitors, but they also have an antimicrobial effect and can be used as an alternative way to contain bacterial proliferation. Therefore, the objective of this work is to evaluate the biological activity of alkanolamines against the bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) and

Alkanolamines are ammonia derivatives in which one, two or three groups (alkanol) are linked to an amino group (NH<sub>3</sub>), an important chemical class that are present in a vast group of natural and synthetic substances with biological activity. Each component present in the formulation of cutting fluids can contribute differently to the harmful effects on the health of workers exposed to aerosols or through contact with the skin. Inhalation of aerosols from machining fluids are etiological agents of pathologies of the conduction and respiratory system, causing irritation, pain, burning, rhinorrhea, congestion and bleeding of the airways, in addition to coughing, dyspnea and bronchiectasis [4].

Exposure to aerosols is often associated with chronic bronchial inflammation, hypersensitivity pneumonitis and worsening of pre-existing respiratory issues [3]. Concern of the

## ANEXO C – 2º SCIENCE & BUSINESS CONNECTION REALIZADO POR PIT – PARQUE DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

Participação no 2º Science & Business Connection, realizado pelo PIT – Parque de Inovação Tecnológica em 2024.



### ANÁLISES DO EFEITO INIBITÓRIO DE AMINOALCOÓIS EM CEPA GRAM-NEGATIVA

Paula Macedo Rodrigues<sup>1</sup>; Erick José Nogueira de Andrade<sup>2</sup>; Maiara Lima Castilho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento Técnico, Yushiro do Brasil - Indústria Química Ltda, Avenida Henry Nestlé, 3100, Bairro do Grama - 12287-260 - Caçapava-SP, Brasil, paula.yushiro@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratório de Bionanotecnologia, Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. erick.n.andrade@gmail.com, mcastilho@univap.br.

**Introdução:** Na indústria metal mecânica, os fluidos de corte solúveis em água são mais comumente utilizados nos processos de usinagem de metais para a lubrificação, bem como para redução de calor e o atrito entre ferramenta e peça. Embora, o sistema água/óleo possua vasta aplicação ao oferecer a vantagem da refrigeração proporcionada pela água e da lubrificação pelo óleo, devido a sua formulação (óleo, água e aditivos), os fluidos solúveis de base mineral e ou semissintéticos apresentam condições favoráveis ao crescimento de microrganismos. Os compostos orgânicos das formulações servem como nutrientes para as bactérias patogênicas, como a *Escherichia coli* (*E. coli*), proporcionando contaminação, maus odores, quebra de emulsões, elevando os riscos à saúde de trabalhadores, sendo a principal causa de descarte prematuro das emulsões. Os fluidos de usinagem a base de aminas são diretamente responsáveis em manter a alcalinidade tanto no produto concentrado como em sua diluição em água. Portanto, desenvolver formulações com aminas de maior biorresistência são formas de aumentar a vida útil dos fluidos de usinagem e melhorar a sinergia do processo produtivo com o meio ambiente. Os aminoalcoóis são aminas primárias formadas pela substituição de um hidrogênio da amônia por um radical orgânico e possuem amplo registro em fluidos de corte como eficientes estabilizadores de pH e inibidores de corrosão. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de aminoalcoóis contra a bactéria *E. coli* por meio da concentração inibitória mínima (CIM). **Metodologia:** A cepa padrão de *E. coli* foi reativada, repicada e o inóculo foi padronizando a 10<sup>6</sup> UFC/mL. A determinação da CIM foi realizada por meio do método de microdiluição seriada de diferentes soluções de aminas em caldo Mueller Hinton, começando com a concentração de 32 µg/mL em placas de 96 poços. As placas foram incubadas a 35°C por 18 horas em uma estufa bacteriológica. **Resultados:** As análises de CIM realizadas demonstraram que os diferentes aminoalcoóis testados apresentam uma redução significativa de crescimento microbiológico da cepa de *E. coli*. No entanto, o aminoalcoól 1-amino-2-propanol apresentou um efeito de redução significativo para quase todas as concentrações testadas. **Conclusão.** Os compostos aminoalcoóis apresentaram efeitos inibitórios para cepa de *E. coli* evidenciando que formulações a base de aminas possuem efeito significativos para produção de novos fluidos industriais.

## ANEXO D – 3º SIMPÓSIO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA REALIZADO POR UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

Participação no 3º Simpósio de Engenharia Biomédica, realizado pela UNIVAP – Universidade do Vale do Paraíba em 2024.



### CARACTERIZAÇÃO DE ALCANOLAMINAS COM ATIVIDADE BIOLÓGICA POR ESPECTROSCOPIA FT-RAMAN

Paula M. Gonçalves, Luiza G. dos Santos, Maiara L. Castilho.

Laboratório de Bionanotecnologia, Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 – São José dos Campos - SP, Brasil, paula.yushiro@gmail.com

**Introdução:** As alcanolaminas são derivados da amônia em que um, dois ou três grupos (alcohol) estão ligados a um grupo amino ( $\text{NH}_2$ ), podendo ser classificadas como primárias, secundárias ou terciárias, dependendo do número de átomos de hidrogênio ligados diretamente ao átomo de nitrogênio. Como resultado, elas sofrem uma ampla variedade de reações comuns às aminas e aos álcoois. Devido a essas características físico-químicas, as alcanolaminas são usadas em uma ampla variedade de aplicações, incluindo surfactantes, cosméticos, produtos de higiene, fluidos para usinagem de metais, entre outros. Consistem uma importante classe química que está presente em um vasto grupo de substâncias naturais e sintéticas que possuem atividade biológica. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi caracterizar os grupos funcionais de alcanolaminas primárias por espectroscopia FT-Raman. **Metodologia:** Alcanolaminas puras, em fase líquida, na temperatura ambiente, foram analisadas por FT-Raman com detector de diodo de germânio para coletar os dados. Para excitar os espectros, uma fonte de laser Nd:YAG ( $\lambda = 1064,1 \text{ nm}$ ) foi usada. Com base nas medições, foi obtida uma média espectral para cada alcanolamina, que foi então analisada selecionando uma faixa de 450 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ . O software OPUS® foi usado para aquisição de dados. **Resultados:** As bandas foram analisadas por regiões espectrais que exibem características dos grupos amino e álcool, correspondendo à composição química das alcanolaminas estudadas. **Conclusão:** A espectroscopia Raman exibiu resultados satisfatórios de identificação espectral dos principais grupos funcionais das amostras, reforçando o uso da técnica na caracterização de grupos funcionais que apresentam atividade biológica.



## ANEXO E – XXIX ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA REALIZADO POR UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

Participação no XXIX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, realizado pela UNIVAP – Universidade do Vale do Paraíba em 2025.



*Certificamos que o trabalho intitulado "AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE ESPALHAMENTO EM PLACA E DO BIOLAMINOTEST PARA QUANTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus*" de autoria de Milena Yuki Rosental Sudo, Gabriel de Almeida Valentin, Erick José Nogueira de Andrade, Paula Macedo Gonçalves e Maiara Lima Castilho, foi apresentado no XXIX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica (XXIX INIC), realizado na Universidade do Vale do Paraíba, nos dias 29, 30 e 31 de outubro de 2025.*



*Alan Prestes*  
Prof. Dr. Alan Prestes  
Pró-reitor de Pós-Graduação e Pesquisa da Univap  
Coordenador Geral do XXIX INIC

São José dos Campos, 31 de outubro de 2025.

Apoio:



Realização:



**univap**  
UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

**FV** FUNDAÇÃO  
VALEPARAIBANA  
DE ENSINO

### AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE ESPALHAMENTO EM PLACA E DO BIOLAMINOTEST PARA QUANTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus*

Milena Yuki Rosental Sudo, Gabriel de Almeida Valentin, Erick José Nogueira de Andrade, Paula Macedo Gonçalves, Maiara Lima Castilho.

Laboratório de Bionanotecnologia. Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, milenarosental@gmail.com, gabriel.almeida.valentin@gmail.com, erick.n.andrade@gmail.com, paula.yushiro@gmail.com, mcastilho@univap.br.

#### Resumo

O controle microbiológico é essencial na indústria alimentícia, química e ambiental para garantir a qualidade dos produtos e a segurança do consumidor. A escolha de métodos adequados de contagem bacteriana impacta diretamente na tomada de decisões, prevenção de contaminações e atendimento às normas sanitárias. Este estudo analisou a técnica tradicional de espalhamento em ágar com alça de Drigalski e o método alternativo Biolaminotest, utilizando *Staphylococcus aureus*. Os resultados mostraram que a técnica de espalhamento em placa apresentou maior precisão, estabilidade e menor desvio padrão, sendo mais indicada para análises quantitativas e rigorosas. Em contrapartida, o Biolaminotest se destacou pela praticidade e rapidez, mostrando-se útil para triagens preliminares em ambientes industriais, mas com elevada variação entre repetições. Conclui-se que, para análises que exijam resultados confiáveis e quantitativos, o método de espalhamento permanece sendo o mais indicado, ideal para avaliação da segurança alimentar, detecção de contaminações e validação das etapas industriais, enquanto o Biolaminotest pode ser aplicado em monitoramentos iniciais de campo.

## ANEXO F – 4º SIMPÓSIO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA REALIZADO POR UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

Participação no 4º Simpósio de Engenharia Biomédica, realizado pela UNIVAP – Universidade do Vale do Paraíba em 2025.



### AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE FLUIDOS DE CORTE FORMULADOS COM ALCANOLAMINAS: CONTRIBUIÇÕES PARA A BIOSSEGURANÇA OCUPACIONAL E SAÚDE AMBIENTAL

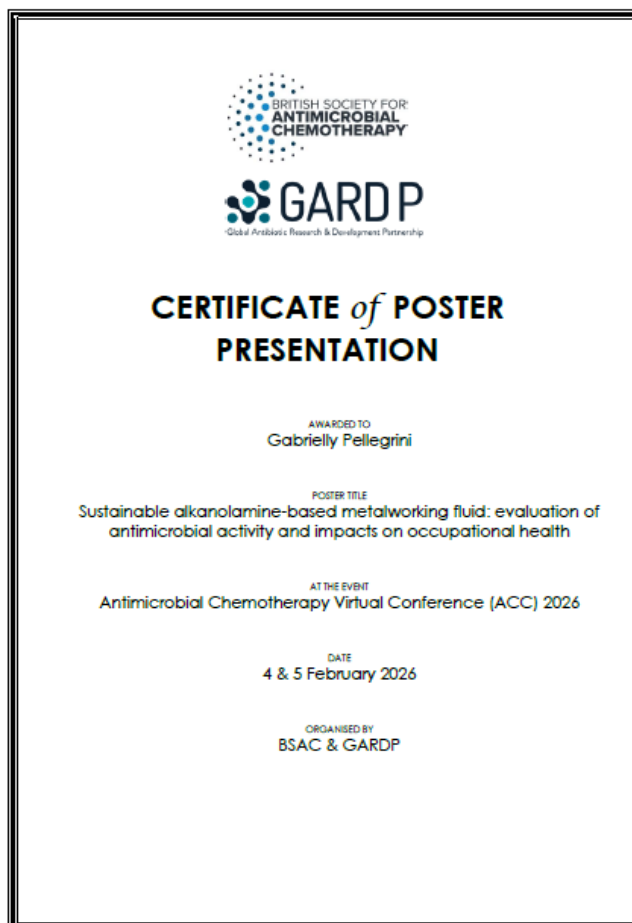
Paula M. Gonçalves, Sophia Franzoni A. Souza, Maiara L. Castilho.

Laboratório de Bionanotecnologia, Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 – São José dos Campos - SP, Brasil, paula.mgon@gmail.com

**Introdução:** A contaminação microbiológica de fluidos de corte representa um risco relevante à saúde ocupacional, associando-se a dermatites, infecções respiratórias e degradação prematura do produto. Tradicionalmente, a contaminação é controlada pelo uso de biocidas, os quais podem apresentar elevada toxicidade dérmica e impacto ambiental. A formulação de fluidos mais estáveis e menos tóxicos surge, portanto, como alternativa promissora para reduzir a exposição dos operadores e promover práticas industriais mais seguras e sustentáveis. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana de um fluido de corte solúvel formulado com alcanolaminas, frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), microrganismo indicador de contaminação em ambientes industriais e hospitalares. **Metodologia:** A atividade antimicrobiana foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando resazurina como indicador metabólico. A manutenção da coloração azul indicou ausência de atividade metabólica bacteriana, evidenciando inibição do crescimento de *S. aureus* pelo fluido formulado. **Resultados:** O fluido formulado apresentou efeito antimicrobiano frente a *S. aureus*, com inibição completa do metabolismo bacteriano em determinadas diluições. O desempenho sugere ação sinérgica entre as alcanolaminas e os demais componentes da formulação. **Conclusão:** Os resultados evidenciam que fluidos de corte formulados com alcanolaminas apresentam potencial para o controle microbiológico e a redução de riscos ocupacionais, favorecendo práticas industriais mais seguras e ambientalmente responsáveis.

## ANEXO G – ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY CONFERENCE – ACC

Participação no Antimicrobial Chemotherapy Conference, realizado pela GARDP - Global Antibiotic Research and Development Partnership e pela BSAC - British Society For Antimicrobial Chemotherapy em 2026.



### SUSTAINABLE ALKANOLAMINE-BASED METALWORKING FLUID: EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND IMPACTS ON OCCUPATIONAL HEALTH

Paula M. Gonçalves, Sophia Franzoni A. Souza, Gabriela, Maiara L. Castilho

Microbiological contamination of metalworking fluids is a critical factor for both occupational health and the durability of industrial products, as it may promote the growth of pathogens such as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), leading to dermatitis, respiratory infections, and unpleasant odors in the industrial environment. Traditionally, contamination control relies on the addition of biocides which, although effective, are associated with dermal toxicity and environmental risks. Therefore, the development of formulations containing alkanolamines, capable of exhibiting intrinsic antimicrobial activity, represents a safer and more sustainable alternative that may reduce or even replace the use of harsh preservatives. In this study, the antimicrobial activity of a soluble metalworking fluid formulated with alkanolamines was evaluated using the microdrop technique to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the colony-forming unit count (CFU/mL) against *S. aureus*. Diluted samples of the metalworking fluid were incubated with standardized bacterial suspensions and subsequently plated in microdrops on nutrient agar. The results demonstrated a significant reduction in CFU counts, with complete inhibition of bacterial growth at concentrations corresponding to the MIC previously determined by the colorimetric resazurin assay. The concordance between the methodologies confirms the antimicrobial efficacy of the formulation and highlights its potential for sustainable application, being less toxic to operators and economically feasible as a metalworking fluid, with relevance to the control of biological risks and the preservation of occupational and environmental biosafety.