



FABIANO JOSÉ FERREIRA

***BIOSPECKLE LASER* APLICADO NA IDENTIFICAÇÃO DE
ATIVIDADE BIOLÓGICA EM FLUIDO DE CORTE DE BASE
VEGETAL MISCÍVEL EM ÁGUA**

**LAVRAS-MG
2022**

FABIANO JOSÉ FERREIRA

***BIOSPECKLE LASER* APLICADO NA IDENTIFICAÇÃO DE ATIVIDADE
BIOLÓGICA EM FLUIDO DE CORTE DE BASE VEGETAL MISCÍVEL EM ÁGUA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas e Automação, área de concentração em Instrumentação, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Roberto Alves Braga Júnior
Orientador

Dra. Ellem Waleska Nascimento da Fonseca Contado
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ferreira, Fabiano José.

Biospeckle laser aplicado na identificação de
atividade biológica em fluido de corte de base vegetal miscível em
água / Fabiano José Ferreira. - 2022.

42 p. : il.

Orientador(a): Roberto Alves Braga Júnior.

Coorientador(a): Ellem Waleska Nascimento da Fonseca

Contado .

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. *Biospeckle Laser (BSL)*. 2. Metal Mecânica. 3. Biossensores.
I. Braga Júnior, Roberto Alves. II. Fonseca, Ellem Waleska
Nascimento da. III. Título.

FABIANO JOSÉ FERREIRA

***BIOSPECKLE LASER APLICADO NA IDENTIFICAÇÃO DE ATIVIDADE
BIOLÓGICA EM FLUIDO DE CORTE DE BASE VEGETAL MISCÍVEL EM ÁGUA***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas e Automação, área de concentração em Instrumentação, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 22/08/2022.

Prof. Dr. José Luís Contado

UFLA

Prof. Dr. José Eduardo Silva Gomes

CEFET/VGA


Prof. Dr. Roberto Alves Braga Júnior
Orientador

**LAVRAS-MG
2022**

Meu eterno agradecimento aos mestres que me guiaram até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir esta oportunidade de profundo aprendizado.

Ao Prof. Roberto Braga, por ter acreditado neste projeto. À Dra. Ellem Waleska Nascimento da Fonseca Contado, pelo grande apoio e direcionamento.

Aos professores da Universidade Federal de Lavras (UFLA) que contribuíram e contribuem para o desenvolvimento deste programa, em especial aos Professores Giovanni Francisco Rabelo e Ricardo Rodrigues Magalhães.

À minha esposa, Adriane, pelo carinho e companheirismo. Aos demais membros da família que estiveram sempre me apoiando, em especial ao meu irmão Dudu, pela inspiração naquele dia de pescaria.

Aos profissionais do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Lavras, Érika Helena Arantes, Daniel Vitor Martimiano e ao Prof. Geraldo Márcio da Costa, pelos ensinamentos e esforços dedicados.

Muito obrigado!

“As oportunidades multiplicam-se à medida que são agarradas.” (Sun Tzu)

RESUMO

O *biospeckle laser* (*BSL*) é um fenômeno transformado em técnica amplamente utilizada em vários segmentos e sua efetividade tem sido confirmada em setores como medicina, agricultura e indústria química. Ser capaz de detectar, de forma não invasiva, pequenas mudanças ao longo do tempo, em amostras biológicas e não biológicas, vem se mostrando uma característica importante para a observação e análise de certos fenômenos. Nesse sentido, experimentos e pesquisas têm sido realizadas para detecção de microrganismos em diversos meios com a utilização de *BSL* como ferramenta de medição. No setor de metal mecânica, fluidos de corte (FC) que possuem funções de escoamento de cavacos, refrigeração e lubrificação entre a ferramenta e o material da peça são altamente suscetíveis à contaminação por bactérias. Desenvolver formas de detecção precoce de contaminação por esses agentes é uma constante preocupação do setor produtivo, bem como aplicar técnicas de processamento de imagens para extrair informações da presença de bactéria por modelos matemáticos com o uso do *BSL* para auxiliar no monitoramento das condições dos FC. Neste trabalho objetivou-se avaliar a viabilidade do *BSL* para identificação de atividade biológica de bactérias em fluido de corte de base vegetal miscível em água, nesse caso, éster sintético de base vegetal. Para alcançar esse objetivo, foi utilizada uma cepa da bactéria *staphylococcus capitis*, comumente encontrada nos FC para contaminação induzida da solução salina. Para determinar o nível de contaminação, foi feito o repique e contagem pelo método de semeadura em meio sólido. Conhecendo o nível de contaminação da solução salina em unidades formadora de colônia por mililitro (UFC/mL), foram preparadas diferentes concentrações de emulsões (água e óleo), e iluminadas com *laser* (*Ligh Amplification by Stimulated Emission of Radiation*); o mesmo procedimento foi realizado com solução salina sem contaminação induzida com o *staphylococcus capitis*. Padrões foram adquiridos com a utilização de um microscópio digital e, posteriormente, analisados por modelo matemático. Os resultados obtidos foram comparados pelo método *Tukey* ao nível de significância de 5%. A técnica do *BSL* apresentou resultados favoráveis para identificação de atividade biológica em três diferentes diluições.

Palavras-chave: *Biospeckle Laser* (*BSL*). Metal Mecânica. Biossensores.

ABSTRACT

Biospeckle laser is a phenomenon that has been used as a technique in a broad range of segments, and its effectiveness has been confirmed in sectors such as medicine, agriculture and the chemical industry. The ability to non-invasively detect small changes over time in biological and non-biological samples, has proven to be a valuable aspect for the observation and analysis of certain phenomena. Therefore, experiments and research have been carried out for the detection of microorganisms in different media using the Biospeckle laser as a measurement tool. In the metalworking industry, cutting fluids (CF), which supports the chip transport, cooling and lubrication functions between the tool and the workpiece material, are highly susceptible to bacterial contamination. Developing methods of early detection of contamination by these agents is a constant concern of the productive sector. By applying image processing techniques, we can extract information on the presence of bacteria through mathematical models using Biospeckle laser to assist in monitoring CF conditions. This work aimed to evaluate the feasibility of Biospeckle laser to identify the biological activity of bacteria in water-miscible plant-based cutting fluid, in this case plant-based synthetic ester. To achieve this objective, a strain of *Staphylococcus Capitis* bacteria was used, a strain which is commonly found in FC. An induced contamination was carried out, and to determine the level of contamination, a score level was established through a solid medium seeding method. The contamination levels of the saline solutions were registered, with their values expressing colony forming units per milliliter (CFU/mL). Different emulsion concentrations of water and oil were prepared and illuminated with laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). The same procedure was carried out with a control sample, a saline solution free of induced contamination. The patterns acquired through a digital microscope were posteriorly analyzed by a mathematical model and the results compared using the Tuckey model with a 5% significance level. The Biospeckle Laser Technique presented favorable results as a means to identify biological activity for the tree types of solutions studied.

Keywords: Biospeckle Laser (BSL). Metal Mechanics. Biosensors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Padrão de <i>Speckle</i>	15
Figura 2 - THSP.....	19
Figura 3 - Classificação dos fluidos de corte segundo ASTM-D2881 (2019).	22
Figura 4 - Montagem Experimental.....	30
Figura 5 - a) análise gráfica pelo método AVD 10%; b) análise gráfica pelo método AVD 50%; c) análise gráfica pelo método AVD 90%.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do fluido	21
Tabela 2 - Propriedades.	21
Tabela 3 - Pré-teste	28
Tabela 4 - Coleta de dados	29
Tabela 5 - Resultados do pré-teste para determinar a sensibilidade da técnica BSL para diluições	31
Tabela 6 - Comparação entre emulsões com contaminação induzida e emulsão-referência Teste Tukey	32
Tabela 7 - Dados das emulsões-referência - Teste de Tukey.....	33
Tabela 8 - Dados das emulsões com contaminação induzida-Teste de Tukey.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.1.1 Objetivos específicos.....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Speckle	15
3.2 Biospeckle laser	15
3.2.1 Métodos de processamento do <i>BSL</i>	18
3.2.1.1 Métodos numéricos	18
3.2.1.2 Diferença dos Valores Absolutos (<i>AVD</i>).....	18
3.2.1.3 Matriz de Coocorrência (MCO).....	19
3.2.1.4 Time History Speckle Pattern (THSP)	19
3.3 Fluidos de corte	20
3.3.1 Categoria dos fluidos de corte.....	22
3.3.2 Funções dos fluidos de corte.....	23
3.3.3 Microbiologia dos fluidos de corte	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Preparo das amostras.....	27
4.2 Montagem e ajuste da configuração experimental	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Pré-testes de sensibilidade.....	31
5.2 Validação da técnica para faixas de diluição e contaminação pré-determinadas	32
6 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

Metalworking fluids ou fluidos de corte (FC) são misturas complexas de produtos químicos utilizados na indústria metal-mecânica, para refrigeração e lubrificação de diferentes tipos de processos de usinagem que consomem uma grande quantidade de energia. Maior parte dessa energia é dissipada em forma de calor devido à combinação de altas taxas de deformação com forte atrito entre peça, ferramenta e cavaco. Variações de temperatura inerentes ao processo impactam na qualidade da peça usinada e longevidade das ferramentas. Questões como a velocidade e a profundidade de corte podem interferir na quantidade de calor gerado, ou seja, quando há um aumento das velocidades de corte e/ou avanço, há um aumento progressivo da energia dissipada em forma de calor. Ao longo do tempo, vêm sendo aperfeiçoadas várias composições de FC para melhorar sua eficiência, que podem ser divididas em quatro classes: óleo integral, fluido sintético, fluido semissintético e óleo solúvel em água.

- i. Óleo integral ou puro é utilizado conforme fornecido, não é misturado à água, podendo ser de origem mineral ou base vegetal.
- ii. Óleo sintético, obtido de fontes não dependentes diretamente do petróleo, pode ser formulado com vários compostos obtidos por meio de síntese petroquímica como poliglicóis, ester vegetal, polialfaolefinas, ácidos graxos, amidas, entre outros.
- iii. Fluido semissintético ou misto são concentrados de fluidos que contêm compostos de base sintética misturados a compostos de base mineral e outros aditivos.
- iv. Óleo solúvel em água, misturados à água formam emulsões, contêm em sua formulação emulsificantes e outros aditivos, podem ser sintético, mineral, semissintético.

Fluidos de corte de base vegetal provêm de fontes renováveis, gerando lubrificantes que possuem uma biodegradabilidade superior aos óleos produzidos com outras bases; além de serem menos agressivos ao meio ambiente, apresentam boa capacidade de lubrificação. A inclusão de produtos naturais em processos e formulações é uma prática cada vez mais comum no mercado de lubrificantes. O óleo de mamona ou de rícino, extraído pela prensagem das sementes, contém 90 % de ácido graxo ricinoleico, o que confere ao óleo suas características singulares, tais como baixo ponto de solidificação, em torno de 30 °C negativos, resistência ao escoamento e viscosidade, elevada capacidade de aderência a superfícies molhadas, possibilitando ampla gama de utilização industrial. A partir desses óleos, são preparadas emulsões que conferem características de resfriamento da água e lubrificante dos óleos.

Todavia, essas emulsões são sucessíveis à contaminação por bactérias e fungos; dessa forma, manter estes microrganismos sob controle é fundamental, pois a falta de controle provoca alterações em suas propriedades, tornando os óleos menos eficientes. Assim, quanto maior a taxa de crescimento bacteriano, maior é sua degradação. A multiplicação bacteriana produz ácidos que diminuem o potencial hidrogeniônico (pH) do fluido causando o aumento da corrosão e diminuição da lubrificação e, conseqüentemente, sua perda de qualidade e produtividade, levando as indústrias a descartarem grandes quantidades de FC, gerando perdas financeiras.

Dessa forma, implementar meios de monitoramento para verificação do desenvolvimento microbiológico auxilia na tomada de decisões, contribuindo para a manutenção da vida útil do FC, minimizando impactos ambientais e econômicos, com o correto descarte e a perda de qualidade dos processos envolvidos.

Nesse cenário, desenvolver meios para detecção da contaminação por estes agentes é uma importante contribuição para o setor produtivo, que pode ser realizado por tecnologias de instrumentação óptica. Ser capaz detectar mudanças ao longo do tempo torna a *Dynamic Laser Speckle* ou *Biopeckle Laser* uma importante ferramenta na instrumentação óptica. A técnica de interferometria de *speckle* realiza um registro das informações da superfície do objeto em estudo, formado pela interação de uma luz coerente como a *laser* (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) com a superfície analisada.

A interferometria de *speckle* é uma técnica não invasiva; nesse contexto, entende-se por interferometria métodos que fazem uso das características dos padrões de *speckle*. Ao longo do tempo, esforços têm sido empreendidos para aperfeiçoamento de aplicações em instrumentação óptica, tais como: medição de deslocamento com a precisão da ordem de 10^{-9} m, visualização de modos de vibração, deformação tridimensional, aplicações na indústria química para análise de processo de secagem de tintas. Todas essas aplicações contribuíram e contribuem para o desenvolvimento da Mecânica Experimental no setor petrolífero como sensor para monitoramento de variáveis de processo em áreas classificadas.

Quando aplicada em amostras biológicas é denominada *Biospeckle Laser (BSL)*, sensível aos movimentos dos dispersores formados em função da dinâmica do processo analisado ao ser iluminado, com aplicações na medicina, na agricultura, na indústria alimentícia e na detecção de patógenos em águas residuais, em que são observadas variações do padrão do *speckle* no tempo.

Neste trabalho, será avaliada a viabilidade da aplicação da técnica *BSL* para identificação da atividade biológica causada pela presença de bactérias em fluido de corte sintético de base vegetal miscíveis em água.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Aplicar a técnica *BSL* para identificação de contaminante microbiológico em FC.

2.1.1 Objetivos específicos

- i. Propor uma configuração experimental para uso do *BSL* em amostras de fluido de corte miscível em água com e sem contaminação induzida.
- ii. Identificar as melhores diluições de contaminantes para iluminação;
- iii. Validar com iluminação de 60 observações e testes estatísticos para separação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Speckle

Uma superfície rugosa iluminada por uma luz *laser* gera um padrão de pequenas áreas claras e escuras. Cada um dos elementos microscópicos que constitui a superfície dá origem a uma onda difratada (BRIERS, 2007). No entanto, os caminhos ópticos de elementos vizinhos exibem diferenças aleatórias as quais podem chegar a vários comprimentos de onda. Assim, quando as ondas difratadas desses elementos interferem entre si, forma-se um padrão granular estacionário (MURAMATSU; GUEDES; GAGGIOLI, 1994) denominado padrão de *speckle*, sendo cada grão um *speckle* (FIGURA 1).

Figura 1 - Padrão de Speckle.



Fonte: Do autor (2022).

3.2 Biospeckle laser

No ano de 1975 começou a ser observado que os padrões de *speckle* (manchas) traziam informações úteis sobre pequenas modificações na superfícies dos objetos iluminados por um *laser* que, ao retornar para o observador, formava uma figura de interferência entre ondas harmônicas com amplitudes iguais, frequências e comprimentos de onda parcialmente diferentes, originando o fenômeno do batimento, que provoca flutuações de níveis intensidades (AIZU; ASAKURA, 1991). Iwai e Asakura (1989) apresentaram uma metodologia para análise de fluxo sanguíneo. Objetos iluminados com laser geralmente se apresentam cobertos por essa estrutura granular. Esse efeito é pelo fato de, na escala microscópica, grande parte das superfícies se mostrarem extremamente rugosas (YOUNG, 2016).

Quando aplicado em materiais biológicos recebe o nome de *BSL*; esse fenômeno de interferência tem sido utilizado como uma forma de monitorar sensíveis mudanças em amostras biológicas ao longo do tempo, de forma não invasiva (NISENBAUM *et al.*, 2013).

Braga Júnior *et al.* (2007) afirmaram que o *BSL* é uma ferramenta apropriada para análise de alguns fenômenos industriais e biológicos de interesse prático devido à sua característica não invasiva. Na indústria alimentícia, a qualidade dos alimentos é uma preocupação constante/ desenvolver meios para o correto monitoramento das condições do estágio de maturação de frutos e legumes fornece ferramentas para o processo decisório de naseio pré e pós-colheita (RABAL; BRAGA JÚNIOR, 2009). Segundo Adamiak *et al.* (2012), é possível avaliar a influência dos métodos de armazenamento de maçãs e a qualidade final pós-colheita em condições de temperatura controlada.

Pode-se observar em Nassif *et al.* (2014), a viabilidade da técnica para determinar o momento apropriado para colheita e análise da influência da variação de temperatura no armazenamento e pós-colheita de maçãs, correlacionando a concentração de emissão de etileno com os parâmetros obtidos com o *BSL*. Romero *et al.* (2009) observaram a capacidade do *BSL* para analisar o comportamento biológico de tomates durante o processo de amadurecimento; mudança em sua coloração provocam um aumento significativo no índice de absorção do *laser*, relacionando a cor do fruto com o grau de dispersão do *laser*.

Foi possível classificar, quanto à toxicidade, duas cultivares de batata de superfícies lisas, realizando a identificação de solanina, um glicoalcaloide tóxico de sabor amargo, que está relacionado com o grau de maturação (BABAZADEH *et al.*, 2016).

Rabelo, Braga Júnior e Fabbro (2005) constaram que o *BSL* fornece indicadores de senescência e qualidade relacionados com o período de estocagem de laranjas. Nassif *et al.* (2014) relatam que *BSL* é uma forma eficaz e não destrutiva, simples de alta precisão para classificação de maçãs.

Segundo Braga Júnior *et al.* (2009), o *BSL* apresenta potencial para construir um mapa de atividade biológica, em tecidos radicular de plantas, e ainda relatam que a técnica poderia ser aplicada como solução acessível e de alto rendimento para quantificar estas mudanças. Segundo Koley e Nirala (2022), com a aplicação da técnica em conjunto com a abordagem da transformada *wavelet*, é possível estudar os fenômenos fisiológicos sobre o transporte de água em folhas de plantas de forma não destrutiva, em ambientes controlados. De acordo com o trabalho de Carvalho *et al.* (2020), é possível aplicar a técnica para análise do comportamento de sistemas radiculares de capim *Paspalum*, fornecendo informações sobre a distribuição espacial com maior detalhamento.

Rahman *et al.* (2006) aplicaram a técnica do *BSL* em colírios, com o objetivo de identificar microrganismos responsáveis por graves infecções oculares, sendo os resultados comparados com técnicas-padrão de identificação microbiológica, a contagem realizada ao final do período de incubação e os valores foram dados em unidades formadoras de colônia (UFC). Ainda na medicina, Patel e Lipinski (2020) relatam que mapas de contraste podem ser usados para determinar mudanças relativas taxas de fluxo sanguíneo do sistema ocular.

Segundo Hadi *et al.* (2020), é possível observar, por simulação usando microesferas de poliestireno calibradas, a variação dos parâmetros do *speckle*, recriando o processo de fermentação decorrente do crescimento bacteriano, e indicando, do ponto de vista óptico, uma variação do espalhamento. A cinética do crescimento bacteriano provoca um espalhamento proveniente das partículas difusoras que promovem alterações do padrão de *speckle*, de modo que o *BSL* pode fornecer uma boa estimativa do número e do tamanho dos espalhadores ópticos (LOUTFI *et al.*, 2020). Borisov e Wolfbeis (2008) observaram que a interação entre técnicas analíticas associadas a métodos de análise de imagens fornecem meios para o desenvolvimento de biossensores, embora a definição de biossensores não seja muito clara.

De acordo com um novo relatório de mercado publicado pela *Transparency Market Research*, '*Biosensors Market*', estima-se que o mercado global de biossensores expanda em uma *Compound Annual Growth Rate (CAGR)*, ou taxa de crescimento anual de 7,2%, entre 2021 a 2031 (RESEARCH, 2021).

Segundo Ansari *et al.* (2016), a técnica *Biospeckle* apresenta uma boa correlação com métodos de rotina para monitoramento do crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* usando o processamento numérico do método *AVD*, e mostrando a evolução da atividade de crescimento bacteriano durante um período de 12h, após a inoculação em meio sólido. Kim *et al.* (2014) analisaram o crescimento de colônias da bactéria *Bacillus* e constataram que, à medida que a colônia cresce, o tamanho médio do padrão *speckle* diminui e a quantidade de *speckle* menores cresce, podendo ser usado como um indicador para avaliar a contaminação microbiológica.

3.2.1 Métodos de processamento do *BSL*

3.2.1.1 Métodos numéricos

Métodos numéricos são utilizados quando se deseja quantificar um determinado nível de atividade em uma região de interesse *ROI* (BRAGA JÚNIOR *et al.*, 2012; BRAGA JÚNIOR; RIVERA, 2016). A construção um Padrão Temporal do Speckle (*THSP*) de ordem ($m \times n$) é feita pela escolha aleatória de pontos quaisquer da coleção de imagens em *ROI*. A partir da construção da (*THSP*), é feita Matriz de Coocorrência (*COM*) na qual é observada a coocorrência de níveis de cinza entre 0-255, e então é calculado o Momento de Inércia (*MI*) (BRAGA JÚNIOR; RIVERA, 2016).

3.2.1.2 Diferença dos Valores Absolutos (*AVD*)

Proposto por Braga Júnior *et al.* (2011), a partir da matriz de coocorrência modificada, um método para quantificar a atividade biológica, denominado Diferença dos Valores Absolutos (*AVD*), que indica com que frequência ocorreram mudanças bruscas de intensidade na matriz (*THSP*). A Equação 1 descreve matematicamente a diferença dos valores absolutos:

$$AVD = \sum_{ij} \{MCO|i, j|*|i-j|\} \quad (1)$$

Essa técnica exhibe altos valores quando a amostra apresenta alta atividade, e baixos valores em situação contrária. Esse cálculo é uma ferramenta importante para estimar a atividade global em diversas aplicações biológicas e não biológicas. Por exemplo, se a intensidade de um pixel qualquer muda de 0 (preto) para 255 (branco), ela irá adicionar $|0 - 255| = |- 255| = 255$ no valor final. No entanto, se a variação foi de 50 a 45, ela irá adicionar $|50 - 45| = 5$ para o valor final de *AVD*. Dessa forma, se o fenômeno a ser observado muda seu estado de uma forma dinâmica, então este será registrado como uma variação na intensidade pixel. No entanto, se o fenômeno apresenta pequenas mudanças nos padrões de salpico, o *AVD* irá adicionar um valor para quantificá-lo (BRAGA JÚNIOR *et al.*, 2011; DA SILVA *et al.*, 2008).

3.2.1.3 Matriz de Coocorrência (MCO)

Aplicada à análise numérica do padrão de *speckle*, é utilizada como passo intermediário no cálculo dos valores finais, que expressa o número de transições de cada pixel da imagem *THSP* (RABAL; BRAGA JÚNIOR, 2009) (EQUAÇÃO 2).

$$MCO|_{i,j} = N_{i,j} \quad (2)$$

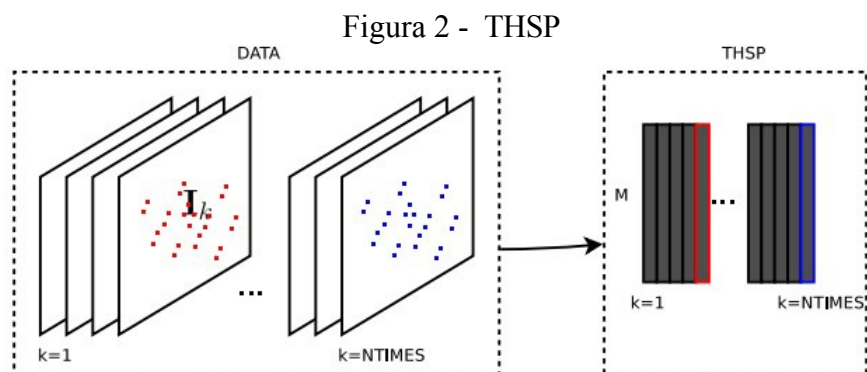
Em que:

$MCO[i,j]$: representa o valor do pixel na i-ésima linha e j-ésima coluna, variando de 0 a 255 tons de cinza

$N_{i,j}$: número de vezes que a variação da intensidade do nível de cinza ocorre de i a j na imagem *Time history speckle pattern (THSP)* analisada. Essa variação é um passo, indicando que i é imediatamente seguido por j , na faixa de 0 a 255.

3.2.1.4 Time History Speckle Pattern (THSP)

THSP é base para a construção da matriz de coocorrência e também uma forma de obter informações ao longo do tempo do processo analisado, quadros suscetíveis de imagens são capturados; Imagens *THSP* são matrizes $M \times N$ de 2D construídas em escala de cinza de 8 *bits*, variando de 0 (preto) ao (branco) 255, para representar os valores dos *pixels*, em que M representa o número de pontos selecionados aleatoriamente na primeira imagem, mantendo a mesma posição nas demais; N representa o número de imagens ao longo do tempo. O conjunto de pontos será representado nas linhas da matriz (FIGURA 2) (BRAGA JÚNIOR; RIVERA, 2016).



Fonte: (BRAGA JÚNIOR; RIVERA, 2016).

3.3 Fluidos de corte

Na indústria de manufatura atual, a demanda por baixo custo, alta produtividade e repetibilidade dos processos é uma crescente. Nos processos de usinagem, alta produtividade está diretamente associada às altas taxas de velocidade de corte, avanço e profundidade, elevando significativamente a geração de calor na zona de corte (DEBNATH; REDDY; YI, 2014). Schulz e Moriwaki (1992) observaram que a usinagem de alta velocidade é reconhecida como uma das principais tecnologias de fabricação para maior produtividade e rendimento.

A crescente demanda por maior qualidade de usinagem e eficiência de fabricação tem levado a um grande número de pesquisas voltadas ao controle e monitoramento dos processos de corte (ZHANG; LI; WANG, 2012). Vários estudos têm sido aplicados para avaliar as características de lubrificação, capacidade de resfriamento e expansibilidade dos fluidos de corte de base vegetal, que podem ser considerados como bons lubrificantes (MACHADO *et al.*, 2015).

De acordo com Shashidhara e Jayaram (2010), óleos vegetais são uma alternativa promissora para desenvolver lubrificantes biodegradáveis para várias aplicações industriais, inclusive para formulação de fluidos de corte ecologicamente corretos. A busca por produtos mais sustentáveis vem motivando o setor metal-mecânico a substituir seus lubrificantes de base mineral por produtos renováveis. A grande demanda por produtos que produzem menores impactos ambientais tem apontado os óleos vegetais como uma alternativa, devido ao seu poder lubrificante (SOUZA *et al.*, 2019).

De acordo com Commission *et al.* (2019), a utilização de produtos de base natural, não derivados fósseis, em setores como indústria de manufatura, revestimentos e corantes, vem aumentando nos últimos anos, embora ainda seja modesta. Conforme Chetan, Ghosh e Venkateswara (2015), fluidos convencionais à base de minerais são amplamente utilizados como refrigerantes e lubrificantes em operações de usinagem em todo o mundo; no entanto, são fontes de problemas ambientais e biológicos; para minimizar os efeitos nocivos associados aos fluidos de corte, é necessário mudar para técnicas de usinagem sustentáveis.

Jayal *et al.* (2010) definem a fabricação sustentável como a criação de produtos manufaturados que utilizam processos que minimizam impactos ambientais negativos, conservam energia e recursos naturais, são seguros para funcionários, comunidades, consumidores e são economicamente viáveis.

Pensando no fator sustentabilidade, é necessária a implementação das técnicas de fabricação limpa; dentre elas estão os fluidos de corte alternativos de origem vegetal. O uso

de emulsões de fluidos de corte permite a combinação das excelentes propriedades dos óleos (lubrificação, resistência ao desgaste e resistência à corrosão) e da água (refrigeração), além de garantir uma boa economia, em que a maior parte da composição é água.

Estudos têm sido desenvolvidos para análise do óleo de mamona ou de rícino, extraído pela prensagem das sementes, como base para produção de fluido lubrificante, características singulares, tais como: baixo ponto de solidificação, em torno de 30 °C negativos, resistência ao escoamento, elevada viscosidade, capacidade de aderência a superfícies molhadas possibilitam ampla gama de utilização industrial (PERVAIZ; KANNAN; KISHAWY, 2018). Oitenta por cento do óleo de mamona e seus derivados são produzidos pela Índia, sendo o Brasil e a China outros importantes produtores (COMMISSION *et al.*, 2018). Segundo Pervaiz, Kannan e Kishawy (2018), óleo de rícino apresenta um bom potencial em processos de usinagem, reduzindo significativamente o coeficiente de atrito e a energia dissipada.

A inclusão de produtos naturais em processos e formulações é uma prática cada vez mais comum no mercado de lubrificantes. As Tabelas 1 e 2 apresentam a composição e propriedades do fluido utilizado neste estudo.

Tabela 1- Composição do fluido

Nome Químico	Descrição	Concentração
Preservante	S-triazina C3-H3-N3	≤ 10 %
Éster sintético de base vegetal	Óleo de rícino sulfonado	≤ 2 %
Alcanolamina	Trolamina C6H15NO3	≤ 5 %

Fonte: Dados coletados da FISPQ do produto (2022).

Tabela 2 – Propriedades.

Aspecto	Líquido límpido amarelo
Densidade a 25 °C (g/mL)	0,95 - 1,10
Odor	Leve
Solubilidade em água	Completa
pH a 25 C	9,0 - 11,0
Teste de corrosão em cavacos de ferro, 1:39	10 pontos máximo
Estabilidade da emulsão	Estável, sem separação
Teste de torque (Microtap)	Conforme padrão
Teste de espuma, tempo de quebra	2 minutos máximo

Fonte: Dados coletados da ficha do produto (2022).

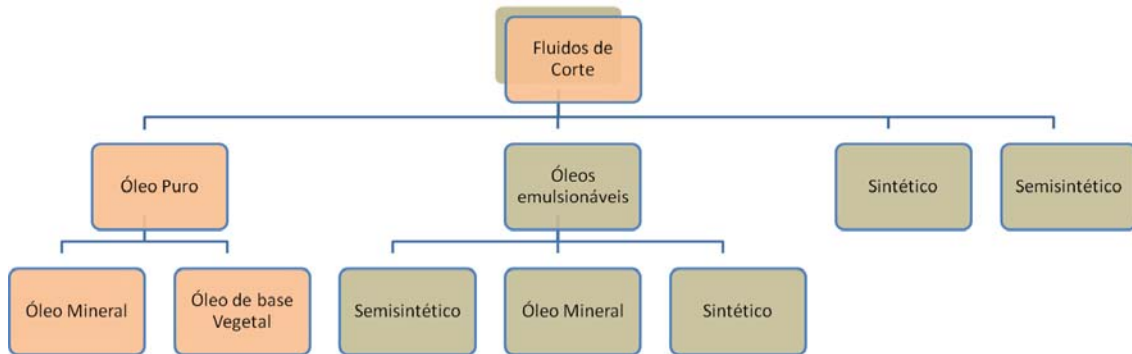
Em Rinschede *et al.* (2021), é possível observar apresentação de um concentrado à base de éster, que tem boas propriedades de lubrificação para corte de aços de alta resistência, apresentando boa estabilidade, mesmo em alta pressão e temperaturas elevadas.

3.3.1 Categoria dos fluidos de corte

Fluidos de usinagem miscíveis em água são usados na remoção de material da região de interferência entre ferramenta e peça usinada, além de promover lubrificação e refrigeração dessa área. Óleos concentrados são diluídos com água para produzir emulsões que variam entre 3 a 15% . Conforme a classificação de ASTM-D2881 (2019), existem quatro classes básicas de FC, das quais três são miscíveis em água, conforme descrito abaixo:

- i. Óleos puro;
- ii. Óleos emulsionáveis; (conhecidos como óleos solúveis);
- iii. Semissintéticos;
- iv. Sintéticos.

Figura 3- Classificação dos fluidos de corte segundo ASTM-D2881 (2019).



Fonte: Do autor (2022).

Óleos puros são formulados a partir de óleos básicos e aditivos funcionais, não contendo água, nem se destinam a ser misturados em água. Seu uso é limitado a aplicações que requerem alta lubrificação e pouco resfriamento (PASSMAN; KüENZI, 2020). Óleos-base podem ser minerais (naftênicos e parafínicos), óleos vegetais (principalmente ésteres) e poliolefina.

Óleos vegetais, água e polialfaolefinas são usados em formulações de fluidos de corte semissintéticos e sintéticos.

3.3. 2 Funções dos fluidos de corte

- i. Lubrificação a baixas velocidades de corte;
- ii. Refrigeração a altas velocidades de corte;
- iii. Remoção dos cavacos da zona de corte;
- iv. Proteção da máquina-ferramenta e da peça contra a oxidação.

3.3.3 Microbiologia dos fluidos de corte

As características dos processos de fabricação, que possuem uma vasta rede produtiva, em que insumos são manuseados ao decorrer das etapas, torna os FC suscetíveis à contaminação por várias fontes. Nota-se que, ao longo do tempo, vários esforços têm sido empregados para minimizar os efeitos nocivos dos contaminantes, meios de controle, desenvolvimento de novas formulações, aplicações de quantidade mínima, biocidas, dentre outras (JAMIL *et al.*, 2022).

Os biocidas, por sua vez, possuem um papel importante nas formulações; no entanto, sua utilização provoca efeitos adjacentes importantes, alergias de pele devido ao contato direto dos operadores com os FC, e intoxicação respiratória provocada pelas névoas (GRZESIK, 2008). Técnicas de aplicação mínima têm sido desenvolvidas com a utilização de fluidos de base vegetal, e a constante preocupação com maneiras sustentáveis de produção faz com que a cadeia produtiva busque alternativas aos derivados de produtos fósseis.

Além disso, as formulações de FC devem ser compatíveis com vedações, revestimentos das máquinas-ferramenta e serem de fácil descarte. Paradoxalmente, espera-se que o FC seja bioestável durante o uso e biodegradável para o descarte (ELANSKY *et al.*, 2022). Segundo Wang *et al.* (2020), os fluidos de base vegetal vêm conquistando espaço, o que é bom, pois além de possuírem características biodegradáveis durante o uso, impulsionam a produção agrícola; porém, em grande parte das aplicações, é utilizado em forma de emulsões e, para tanto, é necessária a adição de agentes surfactantes, pois o termo óleo solúvel não é apropriado.

Essas emulsões possuem boas características de lubrificação do óleo e capacidade de refrigeração da água; no entanto, esse composto propicia um ambiente favorável para o desenvolvimento de microbiologia (CHOWDHURY, 2012). Portanto, desenvolver meios de monitoramento das condições dos Fc é uma constante (KOCH; PASSMAN; RABENSTEIN, 2015). O principal parâmetro que leva ao envelhecimento prematuro de um FC à base de água

é a sua colonização por microrganismos. A contaminação microbiana de FC está no foco de publicações científicas desde o século passado. Microrganismos são capazes de colonizar os FC e metabolizar a maioria das substâncias disponíveis (óleos e aditivos) (BENNETT, 1972; LEE; CHANDLER, 1941; PASSMAN, 1988b; GAST *et al.*, 2003).

Por outro lado, o estudo de bactérias que degradam os FC missíveis em água é de grande importância para auxiliar no correto descarte, pois a composição de espécies de microrganismos muda durante a operação do fluido. Esses agentes de biodegradação são de grande interesse para a indústria (ELANSKY *et al.*, 2022). De acordo com Brinksmeier *et al.* (2015), para alcançar alta produtividade e eficiência de recursos, a longevidade dos FC é uma preocupação constante no setor produtivo. Descobertas recentes baseadas em GC-MS (cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa) revelaram que substâncias marcadoras adequadas podem ser identificadas. A aplicação de sensores correspondentes pode permitir a detecção *on-line* de alterações na composição do FC e, assim, melhorar e facilitar o monitoramento e manutenção do FC. Na literatura, a busca por meios eficazes de monitoramento dos FC é uma constante (PALMOWSKI *et al.*, 2014).

De acordo com Zeeuwen *et al.* (2012), a pele humana fornece um ambiente favorável para o desenvolvimento de bactérias do filo Firmicutes (representado por *Staphylococcus*), considerando que, em um processo de usinagem, o contato dos operadores com os FC é inerente, caracterizando uma constante fonte de contaminação (GRICE *et al.*, 2009). Laurent e Butin (2019) relatam que a bactéria *Staphylococcus capitis*, comumente encontrada em regiões da pele de seres humanos, possui potencial virulência em se tratando de infecções em recém-nascidos prematuros, e constataram ainda que uma variante da cepa NRCS-A vem ao longo do tempo, desenvolvendo resistência à vancomicina (antibiótico pertencente ao grupo dos glicopeptídeos); portanto, o uso de antibióticos de forma indiscriminada, ou seja, sem um correto controle, pode produzir cepas de bactéria resistente a certos protocolos. No presente estudo, será utilizada espécimes do grupo Gram-positiva comumente encontradas em fluidos miscíveis em água (MURAT *et al.*, 2012).

O controle e monitoramento das populações de bactérias em diferentes processos é uma constante preocupação no setor industrial, dentre outros. O seguimento de metal mecânica, que incluem soldagem, deformação plástica, fundição e usinagem, confere forma, dimensão e acabamento na peça, mediante a remoção de material sob a forma de cavacos (porção irregular de material retirado por ferramentas). É uma fonte geradora de calor devido à combinação de altas taxas de formação com forte atrito entre peça, ferramenta e cavaco. Com o objetivo de minimizar esse efeito, são aplicados fluidos de corte, que possuem a função de

refrigeração, lubrificação, antioxidante e retirada do cavaco da região de corte; devida suas características, são degradados por agentes microbiológicos.

O controle da contaminação microbiana e o efetivo monitoramento das condições do FC são práticas que corroboram para a manutenção da vida útil do sistema de refrigeração (PASSMAN, 1988a). Implementar procedimentos que incluem amostragem regular dos fluidos de corte reduzem os riscos da falta de controle da contaminação microbiológica. Segundo Murat *et al.* (2012), em um sistema de refrigeração, formulado por emulsões de base vegetal, a predominância de bactérias isoladas foram do grupo Gram-positivas, e meios aquosos fornecem um ambiente extremamente favorável para o desenvolvimento de microrganismos, o representante do grupo Gram-positivo será o *staphylococcus capitis*, o qual é um *cóccus* gram-positivo, coagulase-negativo, presente como parte da flora normal humana localizada, principalmente, em áreas ao redor do couro cabeludo e rosto (ARAGÜÉS; GONZÁLEZ-ARRIBA, 2007). Devido à sua abundância nos ambientes e eficiência na produção de biofilmes torna o controle das populações desse patógeno um desafio, e o desenvolvimento do biofilme permite às colônias mais profundas maior resistência ao antibióticos e biocidas, dificultando os processos de limpeza dos sistemas; a formação desse meio ocorre em quatro estágios: adesão, acúmulo, maturação e dispersão (SAPKOTA, 2020).

Ao longo do tempo, vários autores têm se dedicado ao estudo do controle e monitoramento dos FC (COOK; GAYLARDE, 1988; SANDIN; MATTSBY-BALTZER; EDEBO, 1991; COOKSON, 1985). De acordo com Trafny (2013), novas técnicas, relativamente rápidas e baratas para avaliar a diversidade de espécies dentro dos microbiomas FC e seu tamanho populacional, devem ser desenvolvidas a fim de controlar a proliferação dos microrganismos em FC e diminuir a exposição ocupacional à bioaerossóis prejudiciais na indústria metalúrgica. Neu (1984) adverte para os mecanismos de mudança da resistência bacteriana a antibióticos, confirmando a necessidade de um profundo conhecimento sobre a microbiologia dos fluidos de corte.

O método apresentado neste trabalho utilizou como referência a contagem de colônias em meio sólido, um procedimento amplamente utilizado em testes microbiológicos. Métodos de cultura têm sido utilizados como ferramenta para quantificar cargas microbiológicas; porém, existe uma lacuna entre a coleta da amostra/cultura e disponibilidade dos dados, que podem variar de horas a dias para alguns microrganismos (PASSMAN; KÜENZ, 2015). Determinar o número de UFC por meio de testes laboratoriais utilizando meios de cultivo tem sido empregado para quantificar o número de células microbianas em FC (ISENBERG; BENNETT, 1959; IOWA, 2003).

O uso da atividade enzima catalase como parâmetro para indicar contaminação biológica FC apresentam limitações devido à presença de bactérias anaeróbicas e redutoras de sulfato que possam atuar como biodegradadores no FC (PASSMAN *et al.*, 2010). De acordo com Webster, Lee e Deininger (2005), o ensaio de bioluminescência da *Adenosine TriPhosphate (ATP)* pode ser associado ao desenvolvimento de populações de bactérias. Passman *et al.* (2009) confirmam que o método pode melhorar o monitoramento de contaminação microbiológica em FC.

Gelinski *et al.* (2016) utilizaram a técnica de determinação da demanda biológica de oxigênio (DBO) para verificar a estabilidade microbiológica em estudos de desenvolvimento de novo fluido a base glicerol/água. Apesar das múltiplas vantagens oferecidas por esses métodos para monitoramento bacteriano, eles possuem a desvantagem de serem relativamente caros ou exigirem processamentos de resultados demorados; além disso, eles precisam de pessoal altamente qualificado. Para superar essas desvantagens, o *BSL* é uma alternativa viável.

De acordo com Nisenbaum *et al.* (2013), é possível observar resultados favoráveis com a aplicação da técnica em efluentes para detecção de quimiotaxia, quando os hidrocarbonetos são os atrativos para os microrganismos em baixas concentrações, até de 10^5 UFC/mL, e se comparado com técnicas clássicas, apresenta melhor resultado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos de Análise do *BSL* foram realizados no CEDIA (Centro de Desenvolvimento de Instrumentação Aplicada à Agropecuária), Universidade Federal de Lavras, MG, Brasil. Quanto aos procedimentos microbiológicos, foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das amostras

De acordo com Mattsby-Baltzer *et al.* (1989), Sloyer, Novitsky e Nugent (2002), Saha e Donofrio (2012), análises microbiológica em FC evidenciam altos níveis de contaminação, podendo variar de 10^4 a 10^{10} UFC/mL de bactérias usualmente detectadas, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, dentre outras.

Considerando que exista uma ampla variedade de agentes contaminantes microbiológicos que habitam os sistemas de refrigeração dos processos de usinagem, o *staphylococcus capitis*, uma bactéria de coagulase-negativo, que ocupa nichos muito específicos da pele humana, mais abundantemente no couro cabeludo, conforme Mattsby-Baltzer *et al.* (1989) e Finzi (2015), faz com que esse microrganismo seja comumente encontrado em diversos meios, sendo os testes foram realizados como descrito abaixo.

Inicialmente foram preparados 200 mL de solução salina (NaCl) na proporção de 0,085% em água tratada pelo processo de osmose reversa, equipamento (modelo OR Prolab, marca WS Proaqua); posteriormente, foram divididas em tubos de 50 mL e armazenadas em refrigeração à temperatura de 8 °C.

O inóculo para o teste foi constituído de uma suspensão de 50 mL de solução salina adicionada uma alça da bactéria *Staphylococcus Capitis* previamente ativadas, ou seja, inicialmente estava preservado a -20 °C, em seguida, foi aquecido em estufa e mantido a 37 °C, por 24h, utilizando-se um agitador tipo vórtex (marca NORTE CIENTIFICA) por 1 min, para completa homogenização.

Posteriormente, foi tomado uma alíquota de 0,1 mL da solução e misturada em tubo *ependorf* contendo 0,9 mL de óleo solúvel sintético de base vegetal (10^{-1}); diluições seriadas foram realizadas até 10^{-10} , em duplicata, sempre realizando o homogeneização durante 1min entre as diluições. Os procedimentos adotados para o plaqueamento foi o método de plaqueamento por semeadura em superfície, da seguinte forma: para o preparo do

meio Agar *TSA* foram utilizados 20 g de pó desidratado de *TSA* (pesado em balança modelo BL3200H) e reidratado em 600 mL de água tratada pelo processo de osmose reversa equipamento (modelo OR Prolab, marca WS Proaqua); na sequência, promoveu-se a homogeneização em *Erlenmeyer* de 1000 mL, após a homogeneização, foi levado para autoclave a 121 °C, durante 20 min para completa solubilização e esterilização, em condições assépticas adequadas; em seguida foram vertidos cerca de 15 mL do meio em placas de Pétri 90 mm devidamente esterilizadas, total de 20 placas.

Aguardou-se o tempo de resfriamento e solidificação; as placas, então, foram viradas e armazenadas. Posteriormente, foi feito o repique das amostras na superfície do meio de cultura, um volume de 0,3 mL de cada diluição, e o espalhamento foi feito com uma alça de *Drigalsky* (PDSHPPC, 2015). Decorrido o período 24h em estufa incubadora a 37 °C, verificou-se o crescimento das colônias e foi feita a contagem das placas, sendo o valor obtido de $6,1 \times 10^6$ UFC/mL, o que está de acordo com Finzi (2015). Após a realização da contagem foi promovida a inibição de crescimento de microrganismos, aplicando 1% de formaldeído à solução salina anteriormente inoculada, e realizada a homogeneização (PDSHPPC, 2015; LEE, 1995).

Para fins de avaliar a sensibilidade da técnica, foi realizado um pré-teste para definir as diluições a serem utilizadas, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Pré-teste para teste da sensibilidade da técnica do BSL para diferentes diluições de contaminantes.

Tratamentos
10%
20%
30%
40%
50%
60%
70%
80%
90%

Fonte: Do autor (2022).

Sendo a concentração de microrganismos conhecida, foram preparados três grupos de amostras de emulsão, conforme a Tabela 4. Considerando que FC de base vegetal podem ser diluídos em proporções variadas, optou-se por analisar valores de diluições próximos das máximas, mínimas e central.

Tabela 4 - Coleta de dados.

Volume total 1 mL		Repetições					Concentração Final
Grupo	Contaminante	0	1	2	3	4	UFC/mL
A	10%	A 0	A 1	A 2	A 3	A 4	$6,10 \times 10^5$
B	50%	B 0	B 1	B 2	B 3	B 4	$30,50 \times 10^5$
C	90%	C 0	C 1	C 2	C 3	C 4	$54,90 \times 10^5$

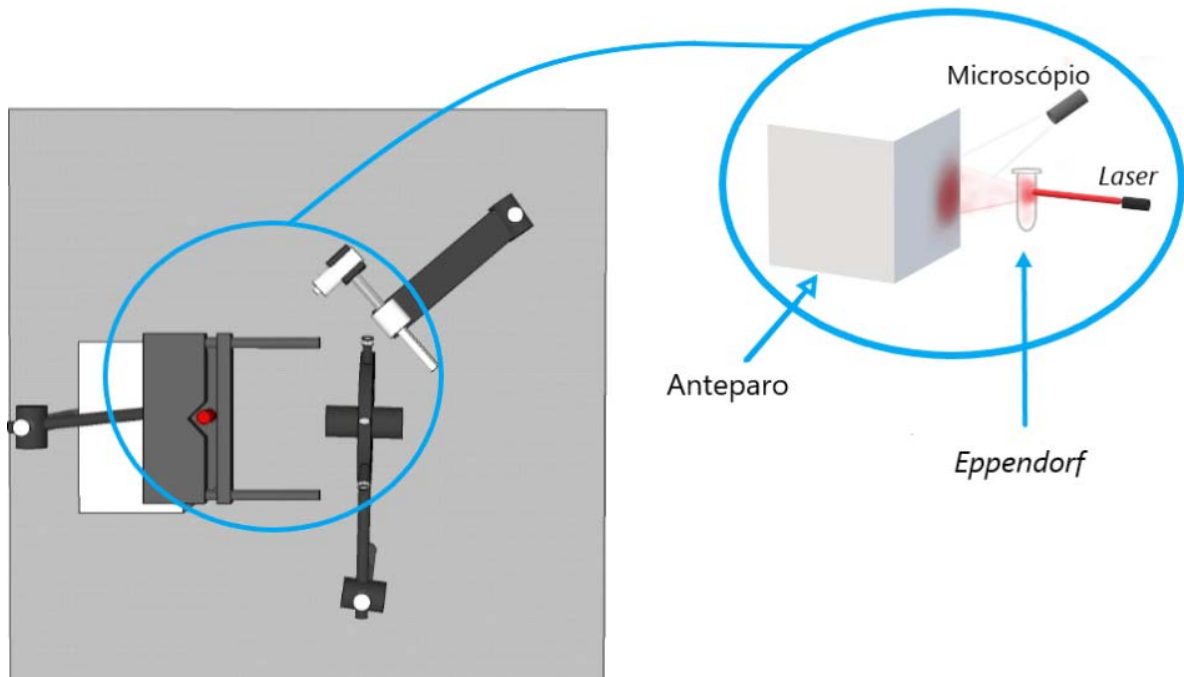
Fonte: Do autor (2022).

4.2 Montagem e ajuste da configuração experimental

A configuração experimental proposta neste trabalho está baseada em instruções contidas em (BRAGA JÚNIOR; RIVERA, 2016). Os padrões de *speckle* gerados a partir das amostras iluminadas por um *laser* He-Ne linearmente polarizado (632,8 nm, 30 mW) serão obtidas através de um microscópio digital com resolução de 2.0 *Megapix*, no formato de imagem *jpeg* via protocolo *USB* do inglês de Universal Serial Bus.

As amostras foram acondicionadas em *Eppendorf* de 1,5 mL devidamente posicionadas. Para evitar interferências, a montagem experimental foi mantida dentro de uma câmara escura durante todo o experimento, sendo a temperatura e a umidade relativa do ambiente foram monitoradas. A Figura 4 apresenta o diagrama da configuração experimental, devido à homogeneidade das amostras à luz coerente produzida pelo emissor que atinge o material a ser analisado, do qual se espera que um padrão de *speckle* seja formado no anteparo após a incidência. Esse padrão, que a princípio seria estático, tende a se tornar dinâmico, evidenciando as mudanças em consequência de sua atividade intrínseca. Pode-se dizer que mudanças no padrão de *speckle* amplificam as alterações que ocorrem nas amostras.

Figura 4 - Montagem Experimental.



Fonte: Do autor (2022).

Os ensaios preliminares ocorreram da seguinte maneira: inicialmente foram realizados testes para determinar a disposição dos equipamentos, suportes de fixação, microscópio digital, *laser*, anteparo e *Eppendorf*, conforme a Figura 4. Padrões de *speckle* foram adquiridos a partir de uma configuração de espalhamento que utilizou um feixe de *laser* incidindo sobre o *Eppendorf*, sendo projetado no anteparo e, então, organizados a partir de um microscópio digital com uma taxa de 0,08s, o que resultou em uma coleção de 160 quadros por amostra, sendo o *software* utilizado para aquisição *Speckle tool*.

Esse *software* produz um histograma que foi utilizado para ajustar o posicionamento do *laser*, microscópio e amostras; durante o processo de calibração, utilizou-se um *Eppendorf* vazio, lacrado e esterilizado, que foi iluminado entre todas as amostras para garantir que o histograma estivesse zerado, servindo como indicador de possíveis interferências significativas. Após o *Eppendorf* contendo as amostras ser fixado no suporte aguardou-se 1min; então, as imagens que foram organizadas, a temperatura ao longo do experimento estava em torno de 26 °C, e a umidade, cerca de 29%. Devido à sensibilidade da técnica, foram tomados cuidados referentes à iluminação externa, para que não houvesse interferências que poderiam provocar alterações nas aquisições das imagens.

Feitos os ajustes prévios e determinado o protocolo a ser seguido, foram produzidas sessenta amostras divididas em três grupos, cada amostra contendo 1 mL com diluições do inóculo de 10,50 e 90%; então, foi adquirida uma coleção de 160 quadros por amostra e, posteriormente, processada pelo método numérico *AVD*; o mesmo procedimento foi aplicado para amostras sem a presença do contaminante *staphylococcus capitis*, sendo chamada, neste estudo, como emulsões-referência.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Pré-testes de sensibilidade

Na Tabela 5, é possível observar que as diferentes diluições com diferentes concentrações de contaminantes apresentaram resultados usando a técnica do BSL que indicam capacidade de separação dos níveis em grandes faixas. Ou seja, foi possível separar com o teste de Tukey as faixas de 10 a 30%, de 40 a 80% e de 90% de diluição de contaminantes.

Desta forma, para a validação, foram escolhidas as diluições de contaminantes de 10%, 50 % e 90 %.

Tabela 5 – Resultados do pré-teste para determinar a sensibilidade da técnica BSL para diluições

Tratamentos	Médias	Resultados do Teste de Tukey
10%	3,438	a2
20%	3,566	a2 a3
30%	3,516	a2 a3
40%	4,196	a2 a3 a4
50%	4,526	a4 a5
60%	4,492	a4 a5
70%	4,342	a3 a4 a5
80%	5,160	a5 a6
90%	5,556	a6

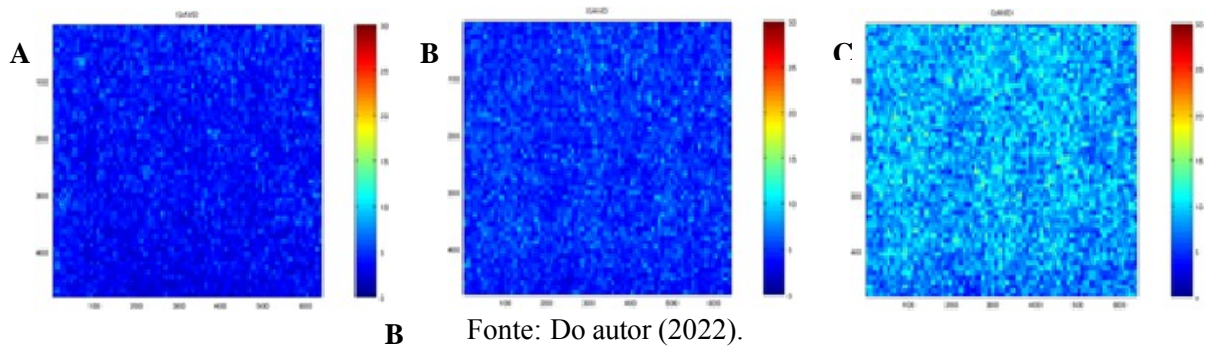
Fonte: Do autor (2022).

5.2 Validação da técnica para faixas de diluição e contaminação pré-determinadas

Os resultados dos testes apresentados na Tabela 5 mostram que a técnica foi capaz de separar estatisticamente as nove diluições; no entanto, entende-se a necessidade de trabalhos futuros para avaliar a sensibilidade do *BSL* para as amostras intermediárias.

Nas Figuras 5a, 5b e 5c, estão representados pelo método gráfico *AVD* os diferentes níveis de atividade das emulsões com contaminação induzida, estando de acordo com os resultados obtidos com a análise estatística.

Figura 5 - a) análise gráfica pelo método AVD 10%; b) análise gráfica pelo método AVD 50%; c) análise gráfica pelo método AVD 90%.



A Tabela 6 apresenta os resultados estatísticos do teste *Tukey* com nível de significância de 5% da comparação do resultados entre as emulsões, com contaminação induzida e emulsões-referência, de acordo com *BSL*.

Tabela 6 - Comparação entre emulsões com contaminação induzida e emulsões-referência – Teste de Tukey

Tratamentos	AVD	Classificação
Amostra referência	3.025667	a1
Contaminação Induzida	3.588966	a2
Coeficiente de variação (%)	10.26	

Fonte: Do autor (2022).

Assim, considerando que o *BSL* conseguiu diferenciar as emulsões (Tabela 6), as mesmas quando comparadas apresentam diferença estatística, e o aumento do valor do *AVD* é justificado pela presença de *staphylococcus capitis*.

Dos resultados da Tabela 7, verifica-se que há diferença significativa entre as amostras de referência, que pode estar relacionada às concentrações das emulsões somado ao efeito natural de movimentação das partículas em um fluido.

Tabela 7 - Dados das emulsões-referência – Teste de Tukey.

Tratamentos	AVD	Classificação
10%	2.294000	a1
50%	3.203000	a2
90%	3.580000	a3
Coeficiente de variação (%)		10.26

Fonte: Do autor (2022).

A Tabela 8 apresenta os resultados estatísticos do teste *Tukey* com nível de significância de 5% da comparação das diferentes concentrações de contaminação induzida, 10,50 e 90%.

Tabela 8 - Dados das emulsões com contaminação induzida – Teste de Tukey

Tratamentos	AVD	Classificação
10%	2.502000	a1
50%	3.783333	a2
90%	4.501000	a3
Coeficiente de variação (%)		8.27

Fonte: Do autor (2022).

Analisando os dados da Tabela 8, pode-se observar que as emulsões diferem entre si quanto à concentração de contaminação pelo *BSL*. Esse valor de *AVD* registra o aumento associado à concentração, devido à presença de bactérias.

Em outras palavras, a partir da análise estatística, pode-se dizer que há diferença entre os resultados apresentados nas três diferentes concentrações; portanto, o *BSL* fornece informações sobre as concentrações de bactérias nas emulsões. Ainda assim, é importante observar que partículas suspensas em meio líquido estão sujeitas à dinâmica do movimento browniano, que afeta a distribuição aleatória, interferindo nas relações de fase. A luz

incidente, ao interagir com o meio, carrega informações, sendo o aumento da concentração de espalhadores relacionado diretamente ao aumento da dinâmica do movimento browniano.

LOUTFI *et al.*, (2020), Hadi *et al.* (2020) utilizaram a técnica *BSL* para monitorar a cinética de crescimento bacteriano em meio líquido, apresentando resultados favoráveis.

Como foi encontrada uma diferenciação entre as amostras referência e a contaminada pelo *staphylococcus capitis* e considerando que o método foi aplicado sob condições controladas e até onde se pesquisou não foram encontrados estudos referentes a aplicação da técnica em análise de FC para identificação da contaminação microbiológica.

Pode-se concluir que o método traz informações de forma rápida e não invasiva, sendo válido para identificar a presença dessa bactéria em suspensão nesses meios, fornecendo uma abordagem alternativa às técnicas-padrão, pela dinâmica do movimento browniano, para o monitoramento microbiológico .

6 CONCLUSÃO

O objetivo geral, que foi aplicar a técnica *BSL* para identificação de contaminante microbiológico em FC , foi alcançado através de uma configuração de iluminação compatível com o fenômeno analisado. Pré-testes foram realizados para definir quais diluições são mais apropriadas, sendo definidas três diferentes diluições das emulsões e comparadas com diluições-referência. Para validação do experimento, foram iluminadas 120 amostras com diluições de 10, 50 e 90% divididas dois grupos, emulsões com contaminação induzida e emulsões-referência. Portanto, o *BSL* foi capaz de identificar, em ambiente controlado, a diferença das concentrações de contaminantes (*staphylococcus capitis*) nas emulsões utilizando o processamento numérico do método *AVD*.

REFERÊNCIAS

- ADAMIÁK, A. *et al.* Application of the biospeckle method for monitoring bull's eye rot development and quality changes of apples subjected to various storage methods—preliminary studies. **Sensors**, v. 12, n. 3, p. 3215–3227, 2012. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/12/3/3215>. Acesso em: 15 jun. 2022.
- AIZU, Y.; ASAKURA, T. Bio-speckle application blood flow. **Optics & Laser Technology**, v. 23, n. 4, 1991.
- ANSARI, M. Z. *et al.* Real time and online dynamic speckle assessment of growing bacteria using the method of motion history image. **Journal of Biomedical Optics**, SPIE, v. 21, n. 6, p. 1-6, 2016.
- ARAGÜÉS, M.; GONZÁLEZ-ARRIBA, A. Infecciones cutáneas primarias por estafilococos y estreptococos. Actualización en infecciones bacterianas cutáneas. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 98, p. 4-14, 2007.
- ASTM-D2881. **Standard classification for metalworking fluids and related materials**. [S.l.]: ASTM International West Conshohocken, PA, 2019.
- BABAZADEH, S. *et al.* Classification of potato tubers based on solanine toxicant using laser-induced light backscattering imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 129, n. 1, nov. 2016.
- BENNETT, E. The biology of metalworking fluids. **Lubrication Engineering**, v. 28, n. 6, p. 237-247, 1972.
- BORISOV, S. M.; WOLFBEIS, O. S. Optical biosensors. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 2, p. 423-461, 2008.
- BRAGA JÚNIOR R. A.; RIVERA, F. P. M. J. B. **A practical guide to biospeckle laser analysis: theory and software**. Lavras: UFLA, 2016.
- BRAGA JÚNIOR, R. A. *et al.* Live biospeckle laser imaging of root tissues. **European Biophysics Journal**, v. 38, p. 679–686, 2009.
- BRAGA JUNIOR, R. A. *et al.* Reliability of biospeckle image analysis. **Optics and Lasers in Engineering**, v. 45, p. 390–395, 3 2007.
- BRAGA JÚNIOR, R. A. *et al.* Biospeckle numerical values over spectral image maps of activity. **Optics Communications**, v. 285, n. 5, p. 553-561, 2012.
- BRAGA, R. A. *et al.* Evaluation of activity through dynamic laser speckle using the absolute value of the differences. **Optics Communications**, v. 284, n. 2, p. 646–650, 2011.
- BRIERS, D. Laser speckle contrast imaging for measuring blood flow. **Optica Applicata**, v. 37, n.1, 2007.

- BRINKSMEIER, E. *et al.* Metalworking fluids—mechanisms and performance. **CIRP Annals**, v. 64, n. 2, p. 605–628, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007850615001420>. Acesso em: 10 jul. 2020.
- CARVALHO, A. M. D. *et al.* Digital image processing for evaluation of paspalum millegrana schrad root system. **Revista Caatinga**, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, v. 33, p. 100–107, 2020.
- CHENG, C.; PHIPPS, D.; ALKHADDAR, R. M. Treatment of spent metalworking fluids. **Water Research**, v. 39, n. 17, p. 4051-4063, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135405003970>. Disponível em: 12 jul. 2022.
- CHETAN; GHOSH, S.; VENKATESWARA, R. P. Application of sustainable techniques in metal cutting for enhanced machinability: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 100, p. 17-34, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652615002577>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- CHOWDHURY, S. Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. **Environmental monitoring and assessment**, Springer, v. 184, n. 10, p. 6087–6137, 2012.
- COMMISSION, E. *et al.* **Grand View Research Report Cover Castor Oil Derivatives Market Size, Share Trends Report**. Castor Óleo Derivados Tamanho de Mercado, Relatório de Análise de Ações Tendências Por Produto (Ácido Sebáico, 12 HSA, Ácido Ricinoleico, Cera de Rícino, Ácido Não Diminuílico), Por Aplicação, Por Região, E Previsões do Segmento, 2019 - 2025. [S.l.]: Publications Office, 2018.
- COMMISSION, E. *et al.* **Insights into the European market for bio-based chemicals: analysis based on 10 key product categories**. Publications Office, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Jurjen-Spekrijse/publication/330578517_Insights_into_the_European_market_for_bio-based_chemicals_Analysis_based_on_10_key_product_categories/links/5c49765992851c22a38c2e98. Acesso em: 10 jun. 2022.
- COOK, P. E.; GAYLARDE, C. C. Biofilm formation in aqueous metal working fluids. **International Biodeterioration**, v. 24, n. 4, p. 265–270, 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0265303688900103>. Acesso em: 10 jun. 2022.
- COOKSON, J. Monitoring and maintenance of aqueous metal-working fluids: Emulsions, synthetics and hydraulic fluids edited by k.w.a. chater and e.c. hill. **Tribology International**, v. 18, n. 1, p. 58, 1985. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0301679X85900180>.
- DA SILVA, E. R. *et al.* A new estimator for activity on dynamic speckles based on contrast of successive correlations. **AIP Conference Proceedings**, v. 992, p. 314–319, 2008.
- DEBNATH, S.; REDDY, M. M.; YI, Q. S. Environmental friendly cutting fluids and cooling techniques in machining: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 83, p. 33-47, 2014.

ELANSKY, S. N. *et al.* Microorganisms in spent water-miscible metalworking fluids as a resource of strains for their disposal. **Journal of Cleaner Production**, v. 350, p. 131438, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652622010605>. Acesso em: 10 abr. 2022.

FINZI, M. B.de A. **Microbioma do fluido de corte utilizado na indústria metal-mecânica brasileira**: composições quantitativa e qualitativa, fatores que influenciam a presença de microrganismos, biodegradação e impacto nas propriedades lubri-refrigerante. 2015. 88 p. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/30173>. Acesso em: 10 jun. 2022.

GAST, C. J. V. D. *et al.* Bacterial community structure and function in a metal-working fluid. **Environmental Microbiology**, Wiley Online Library, v. 5, n. 6, p. 453–461, 2003.

GELINSKI, S.; WINTER, M.; WICHMANN, H.; BOCK, R.; HERRMANN, C.; BAHADIR, M.T. Development and testing of a novel glycerol/chitosan based biocide-free hydraulic fluid. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, n. 4, p. 3589-3596, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652615016157>. Acesso em: 12 abr. 2022.

GRICE, E. A. *et al.* Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. **science, American Association for the Advancement of Science**, v. 324, n. 5931, p. 1190-1192, 2009.

GRZESIK, W. Chapter nine - heat in metal cutting. *In*: GRZESIK, W. (Ed.). **Advanced Machining Processes of Metallic Materials**. Amsterdam: Elsevier, 2008. p. 127.

HADI, L. *et al.* Interpretation of the bacterial growth process based on the analysis of the speckle field generated by calibrated scattering media. **Opt. Express**, OSA, v. 28, n. 19, p. 28648–28655, Sep 2020. Disponível em: <http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-28-19-28648>. Acesso em: 15 jul. 2022.

IOWA, W. R. C. **Cutting Fluid Management**: Small Machining Operations. Iowa Waste Reduction Center Book Gallery, 2003. Disponível em: https://scholarworks.uni.edu/iwrc_facbook/12. Acesso em: 10 abr. 2022.

ISENBERG, D. L.; BENNETT, E. Bacterial deterioration of emulsion oils. ii. nature of the relationship between aerobes and sulfate-reducing bacteria. **Journal of Bacteriol**, v. 7, p. 121-25, 1959. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1057483/>. Acesso em: 10 jun. 2022.

IWAI, T.; ASAKURA, T. Dynamic properties of speckled speckles with relation to velocity measurements of a diffuse object. **Optics Laser Technology**, v. 21, n. 1, p. 31–36, 1989. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030399289900091>. Acesso em: 10 abr. 2022.

JAMIL, M. *et al.* Assessment of energy consumption, carbon emissions and cost metrics under hybrid mql-dry ice blasting system: A novel cleaner production technology for manufacturing sectors. **Journal of Cleaner Production**, v. 360, p. 132111, 2022.

JAYAL, A. *et al.* Sustainable manufacturing: Modeling and optimization challenges at the product, process and system levels. **CIRP Journal of Manufacturing Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 144-152, 2010.

KIM, H. *et al.* Induced speckle scatter patterns in Bacillus colonies. **Front Microbiol.**, v. 14, n. 5, p. 537, Oct. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25352840/>. Acesso em: 11 jul. 2022.

KOCH, T.; PASSMAN, F.; RABENSTEIN, A. Comparative study of microbiological monitoring of water-miscible metalworking fluids. **International Biodeterioration Biodegradation**, v. 98, p. 19–25, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830514003539>. Acesso em: 12 jun. 2022.

KOLEY, C.; NIRALA, A. K. Visual biospeckle analysis of just torn plant leaf using frequency filtering. **Laser Physics**, IOP Publishing, v. 32, n. 7, p. 075-603, jun. 2022.

LAURENT, F.; BUTIN, M. Staphylococcus capitis and nrcs-a clone: the story of an unrecognized pathogen in neonatal intensive care units. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 9, p. 1081–1085, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X19301119>. Acesso em: 10 abr. 2022.

LEE, M.; CHANDLER, A. C. A study of the nature, growth and control of bacteria in cutting compounds. **Journal of Bacteriology**, Am Soc Microbiol, v. 41, n. 3, p. 373-386, 1941.

LEE, P. S. K. Preservation of metalworking fluids. *In*: _____. **Preservation of Surfactant Formulations**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995. p. 284-310.

LOUTFI, H. *et al.* Real-time monitoring of bacterial growth kinetics in suspensions using laser speckle imaging. **Scientific Reports**, Nature Research, v. 10, 12 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57281-2>. Acesso em: 20 jul. 2022.

MACHADO, A.R.; ABRÃO, A.M.; COELHO, R. T. SILVA, M. B. da. **Teoria da Usinagem dos Materiais**. 3. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2015. p. 407.

MATTSBY-BALTZER, I. *et al.* Microbial growth and accumulation in industrial metal-working fluids. **Applied and environmental microbiology**, v. 55, p. 2681–9, 11 1989.

MURAMATSU, M.; GUEDES, G.; GAGGIOLI, N. Speckle correlation used to study the oxidation process in real time. **Optics Laser Technology**, v. 26, n. 3, p. 167–168, 1994.. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030399294900388>. Acesso em: 04 maio 2022.

MURAT, J. B. *et al.* Factors influencing the microbial composition of metalworking fluids and potential implications for machine operator lung. **American Society for Microbiology Journals**, v. 78, n. 1, p. 34-41, 2012. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/78/1/34>. Acesso em: 12 jul. 2022.

NASSIF, R. *et al.* Detection of golden apples' climacteric peak by laser biospeckle measurements. **Applied Optics**, The Optical Society, v. 53, p. 8276, dez. 2014.

NEU, H. C. Changing mechanisms of bacterial resistance. **The American Journal of Medicine**, v. 77, n. 1, Part 2, p. 11–23, 1984. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002934384800911>. Acesso em: 20 jul. 2022.

NISENBAUM, M. *et al.* Hydrocarbon biodegradation and dynamic laser speckle for detecting chemotactic responses at low bacterial concentration. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 3, p. 613-625, 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001074212600205>. Acesso em: 10 maio 2022.

PALMOWSKI, B. *et al.* Identification of marker substances for the efficient online monitoring of metal working fluids. *In*: CONFERENCE AND EXHIBITION ON LUBRICATION, MAINTENANCE AND TRIBOTECHNOLOGY (LUBMAT), 4TH., 2014, Manchester. **Proceedings** [...]. Manchester, 2014. p. 25–27.

PASSMAN, F.J. Microbial problems in metalworking fluid. **Tribology and Lubrication Technology**, v. 27, p. 14-17, 06 1988a.

_____. Microbial problems in metalworking fluids. **Lubrication engineering**, v. 44, n. 5, p. 431–433, 1988b.

PASSMAN, F. J. *et al.* Real-time testing of bioburdens in metalworking fluids using adenosine triphosphate as a biomass indicator. **Tribology and Lubrication Technology**, v. 66, p. 40-45, 05, 2010.

PASSMAN, F. J. *et al.* Real-time testing of bioburdens in metalworking fluids using adenosine triphosphate as a biomass indicator. **Tribology Transactions**, Taylor and Francis, v. 52, n. 6, p. 788-792, 2009.

PASSMAN, F. J.; KÜENZ, P. A differential adenosine triphosphate test method for differentiating between bacterial and fungal contamination in water-miscible metalworking fluids. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 66, p. 129 – 137, 05 2015.

_____. Microbiology in water-miscible metalworking fluids. **Tribology Transactions**, Taylor Francis, v. 63, n. 6, p. 1147–1171, 2020.

PATEL, D. D.; LIPINSKI, D. M. Validating a low-cost laser speckle contrast imaging system as a quantitative tool for assessing retinal vascular function. **Scientific Reports**, Nature Research, v. 10, 12 2020.

PDSHPPC. Programa de desenvolvimento setorial de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Guia de Microbiologia**. 1. ed. [s.l.]: ABDI; ABIHPEC; SEBRAE, 2015.

PERVAIZ, S.; KANNAN, S.; KISHAWY, H. A. An extensive review of the water consumption and cutting fluid based sustainability concerns in the metal cutting sector. **Journal of Cleaner Production**, v. 197, p. 134–153, 2018.

- RABAL, H.J.; BRAGA JR., R.A. (Eds.). *Dynamic Laser Speckle and Applications*. 1. ed. [s.l.]: CRC Press, 2009. p. 181-220. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9781315219080>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- RABELO, G. F.; BRAGA JÚNIOR, R. A.; FABBRO, I. Laser speckle techniques in quality evaluation of orange fruits. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 570–575, 2005.
- RAHMAN, M. Q. *et al.* Microbial contamination of preservative free eye drops in multiple application containers. **British Journal of Ophthalmology**, BMJ Publishing Group Ltd, v. 90, n. 2, p. 139-141, 2006. Disponível em: <https://bj.o.bmj.com/content/90/2/139>. Acesso em: 10 jun. 2022.
- RAO, D. N.; SRIKANT, R. R. Influence of emulsifier content on cutting fluid properties. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B. **Journal of Engineering Manufacture**, v. 220, n. 11, p. 1803-806, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1243/09544054JEM564>. Acesso em: 12 jul. 2022.
- RESEARCH, T. M. **Biosensors Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast, 2021-2031**. 2021. Disponível em: <https://www.reportlinker.com/p06250657/Biosensors-Market-Global-Industry-Analysis-Size-Share-Growth-Trends-and-Forecast-2031>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- RINSCHÉDE, T. *et al.* Development of a concept for the use of low-temperature emulsion in drilling of inconel 718. **Procedia CIRP**, v. 104, p. 774-779, 2021.
- ROMERO, G. G. *et al.* Bio-speckle activity applied to the assessment of tomato fruit ripening. **Biosystems Engineering**, v. 103, n. 1, p. 116–119, 2009.
- SAHA, R.; DONOFRIO, R. S. **The microbiology of metalworking fluids**. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 94, p.1119-1130, 2012.
- SANDIN, M.; MATTSBY-BALTZER, I.; EDEBO, L. Control of microbial growth in water-based metal-working fluids. **International Biodeterioration**, v. 27, n. 1, p. 61-74, 1991.
- SAPKOTA, A. **Staphylococcus Capitis**. Uma Visão Geral. 2020. Disponível em: <https://microbenotes.com/staphylococcus-capitis/#habitat-of-staphylococcus-capitis>. Acesso em: 20 jun. 2022.
- SCHULZ, H.; MORIWAKI, T. High-speed machining. **CIRP Annals**, v. 41, n. 2, p. 637-643, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007850607632508>. Acesso em: 10 jun. 2022.
- SHASHIDHARA, Y.; JAYARAM, S. Vegetable oils as a potential cutting fluid—an evolution. **Tribology International**, v. 43, n. 5, p. 1073-081, 2010. Special Issue on Second International Conference on Advanced Tribology (iCAT2008). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X09004022>. Acesso em: 02 fev. 2022.

- SLOYER, J. L.; NOVITSKY, T. J.; NUGENT, S. Rapid bacterial counts in metal working fluids. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 323–324, 12 2002.
- SOUZA, M. C. de. *et al.* Use of jatropha and moringa oils for lubricants: Metalworking fluids more environmental-friendly. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 594-603, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/>. Acesso em: 12 maio 2022.
- 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. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/S13382-013-0075-5>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- WANG, X. *et al.* Vegetable oil-based nanofluid minimum quantity lubrication turning: Academic review and perspectives. **Journal of Manufacturing Processes**, v. 59, p. 76-97, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- WEBSTER, A. R.; LEE, J.; DEININGER, R. A. Rapid assessment of microbial hazards in metalworking fluids. **Journal of Occupational Environmental Hygiene**, Taylor Francis, v. 2, n. 4, p. 213–218, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15459620590930282>. Acesso em: 30 abr. 2022.
- YOUNG, R. A. F. H. D. **Sear and Zemansky 's University physics with modern physics**. 12. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil Ltda, 2016. p.196-199.
- ZEEUWEN P.L. J. *et al.* Microbiome dynamics of human epidermis following skin barrier disruption. **Genome Biol**, **R101**, n. 13, 2012. Disponível em: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2012-13-11-r101#citeas>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- ZHANG, S.; LI, J.; WANG, Y. Tool life and cutting forces in end milling inconel 718 under dry and minimum quantity cooling lubrication cutting conditions. **Journal of Cleaner Production**, v. 32, p. 81–87, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652612001485>. Acesso em: 10 maio 2022.