

Caracterização de superfície com selante bactericida para equipamento de proteção individual (EPI) produzido por manufatura aditiva**Characterization of surface with bactericide sealant for individual protection equipment produced by additive manufacturing**

DOI:10.34117/bjdv6n11-565

Recebimento dos originais: 25/10/2020

Aceitação para publicação: 25/11/2020

Fernanda Torres de Souza

Mestranda em Engenharia Mecânica

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ; Departamento de Engenharia Mecânica e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

Rua Fonseca Teles, 121, São Cristóvão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil CEP. 20940-903
ftorresouza@gmail.com**Norberto Mangiavacchi**

Doutorado em Engenharia Mecânica e Computação Científica

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ; Departamento de Engenharia Mecânica e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

Rua Fonseca Teles, 121, São Cristóvão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil CEP. 20940-903
norberto.mangiavacchi@gmail.com**Marília Garcia Diniz**

Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ; Departamento de Engenharia Mecânica e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

Rua Fonseca Teles, 121, São Cristóvão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil CEP. 20940-903
diniz@uerj.br**Alex de Carvalho Reis**

Graduando em Engenharia Mecânica

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ; Departamento de Engenharia Mecânica e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

Rua Fonseca Teles, 121, São Cristóvão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil CEP. 20940-903
alex_acr3@yahoo.com.br**Daniel José Nahid Mansur Chalhub**

Doutorado em Engenharia Mecânica

Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ; Departamento de Engenharia Mecânica e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

Rua Fonseca Teles, 121, São Cristóvão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil CEP. 20940-903
daniel.chalhub@eng.uerj.br

Leandro de Oliveira Pereira

Doutorado em Física

Laboratório de Instrumentação e Simulação Computacional – LISComp / Instituto Federal do Rio de Janeiro – IFRJ, Paracambi, RJ, Brasil
Rua Sebastião Lacerda, s/nº, Centro, Paracambi – RJ, Brasil, CEP. 26.600-000
leandro.pereira@ifrj.edu.br

André Rocha Pimenta

Doutorado em Engenharia Mecânica

Laboratório de Instrumentação e Simulação Computacional – LISComp / Instituto Federal do Rio de Janeiro – IFRJ, Paracambi, RJ, Brasil
Rua Sebastião Lacerda, s/nº, Centro, Paracambi – RJ, Brasil, CEP. 26.600-000
andre.pimenta@ifrj.edu.br

Marco Antônio Lemos Miguel

Doutorado em Ciências de Alimentos

Instituto de Microbiologia Paulo de Góes - Depto. Microbiologia Médica - Lab. Microbiologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ
Cidade Universitária da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, Brasil, CEP. 21941-902
marco.miguel@micro.ufrj.br

RESUMO

Este trabalho objetivou obter propriedades da superfície de polímero à base de poliácido láctico (PLA) utilizados na confecção de protetores faciais (*face shields*) fabricados por manufatura aditiva (impressão 3D), na situação não recoberta e recoberta com selante inorgânico à base de cobre, o qual espera-se que venha a fornecer atividade bactericida. A metodologia incluiu a fabricação das placas poliméricas de PLA através de manufatura aditiva, as quais foram revestidas com um selante à base de sulfato de cobre. Foram utilizadas técnicas de inspeção visual, microscopia óptica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise química semiquantitativa por espectroscopia por dispersão de energia (EDS), medidas de rugosidade superficial e análise e processamento digital de imagens (PDI). Os resultados mostraram que chegou-se a atingir 17% de recobrimento superficial e que o sulfato de cobre foi encapsulado pelo verniz.

Palavras-chave: PLA, impressão 3D, rugosidade, selante inorgânico bactericida.

ABSTRACT

This work aimed to obtain surface properties of polymer based on lactic polyacid (PLA) used in the manufacture of face shields manufactured by additive manufacturing (3D printing). The surface was characterized in the situation not covered and covered with inorganic sealant based on copper, which is expected to provide bactericidal activity. The methodology included the manufacture of polymeric PLA plates through additive manufacturing coated with a copper sulfate based sealant. Visual inspection techniques, optical microscopy (OM), scanning electron microscopy (SEM), semi-quantitative chemical analysis by energy dispersion spectroscopy (EDS), surface roughness measurements, and digital image analysis and processing (PDI) were used. The results showed that 17% of the surface coating was reached and that the varnish encapsulated the copper sulfate.

Keywords: PLA, 3d printing, roughness, bactericidal inorganic sealant

1 INTRODUÇÃO

A habilidade de uma substância para matar ou deixar inativos micróbios tais como as bactérias, fungos e vírus faz dela uma superfície dita antimicrobiana. Alguns estudos têm demonstrado a maior eficácia antimicrobiana do cobre quando comparado com o alumínio, aço inoxidável, PVC (policloroeteno) e polietileno, por exemplo. O efeito antimicrobiano do cobre depende de uma série de fatores relacionados ao sistema, tais como a temperatura, a acidez ou basicidade do meio e presença de matéria orgânica, entre outros. Além disso, propriedades relacionadas à superfície do material, tais como aspectos morfológicos, rugosidade, composição química e tensão superficial, irão afetar a capacidade de adesão, sobrevivência e reprodução de microorganismos¹⁻⁵.

Apesar da ação antimicrobiana contra diversos microrganismos de importância industrial e ambiental, destaca-se a eficácia do cobre contra patógenos humanos e animais, que são rapidamente inativados quando em contato com esta substância. Entre os microrganismos de interesse clínico se destacam as bactérias patógenos *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *Legionella pneumophila*, *Enterobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* do grupo D, *Pseudomonas aeruginosa* e Mycobacterias associadas à tuberculose. Entre os fungos patogênicos já existe ação comprovada contra *Aspergillus niger* e *Candida albicans*. Entre os vírus já foi verificada a ação contra o Poliovírus, agente causador da poliomielite e o vírus Influenza, causador da gripe H1N1^{6,7}.

Os mecanismos antimicrobianos do cobre são complexos e ocorrem em diferentes formas, tanto dentro das células quanto nos espaços intersticiais entre as células. Um fator crítico responsável pelas propriedades antimicrobianas do cobre é o seu alto potencial de redução. Esta propriedade química permite que os íons de cobre alterem as proteínas dentro das células dos micróbios para que elas já não possam realizar suas funções normais. Também já foi observado que o cobre é responsável por inibir o transporte eletrônico nas interações da parede celular, ligando-se ao DNA (ácido desoxirribonucleico) e desordenando as estruturas helicoidais. Através destes mecanismos e outros, o cobre deixa inativos muitos tipos de bactérias, fungos e vírus^{5,6}.

Uma vez que a utilização de equipamentos hospitalares e equipamentos de proteção individual (EPI's) de cobre não seriam viáveis, devido aos custos envolvidos e outras questões de projeto, o uso de revestimentos à base de cobre (vernizes, tintas ou selantes) poderão trazer os benefícios antimicrobianos no ambiente hospitalar. Os selantes são revestimentos orgânicos ou inorgânicos que podem ser usados sobre diversos tipos de superfícies como esquema de

pintura. Os selantes podem ser a base de resina (epóxi, poliéster ou poliuretano) ou cera, podem ter pigmentos metálicos ou não. No entanto, para que seja garantido o bom desempenho dos selantes, eles devem ter baixa razão de sólidos por volume, os pigmentos sólidos devem ser pequenos e compatíveis com a superfície a ser recoberta, o selante deve absorver pouca água, ser compatível com ambiente de trabalho e possuir baixa espessura, geralmente 75 μm ou menor^{8,9}.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar as superfícies de polímero à base de PLA (poliácido láctico) usados na confecção de *face shields* (protetores faciais) fabricados por manufatura aditiva (impressão 3D), não recobertas e recobertas com um selante inorgânico à base de Cobre, com diferentes proporções de cobre. Espera-se que este selante possa ser aplicado manualmente e de modo simples sobre *face shields* e outros materiais usados em ambiente hospitalar para inibir a proliferação bacteriana e viral.

2 METODOLOGIA

Foram confeccionadas 100 placas de PLA com 2,5 X 2,5 X 0,5 cm de dimensões através do processo de manufatura aditiva^{10,11} utilizando-se uma impressora Sethi, modelo BB, com mesa de 400 x 400 x 400 mm. O processo de fabricação das placas utilizou os mesmos parâmetros que usualmente são usados para a confecção da estrutura suporte do acetato transparente de *face shields* (temperatura do bico: 210 °C; mesa sem aquecimento; velocidade do bico nas camadas externas: 17,5 mm/s; velocidade do bico nas camadas internas: 35 mm/s; altura da camada: 0,3 mm) utilizados em ambientes hospitalares (Figura 1) e o PLA teve origem de um único fornecedor.

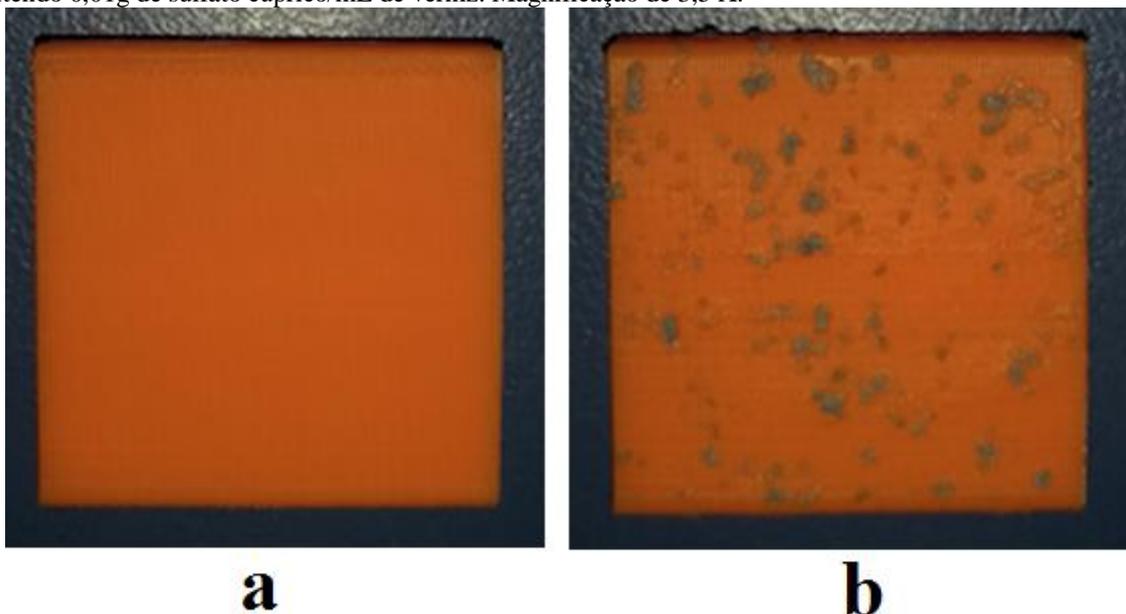
Fig. 1 – *Face shields* confeccionados por manufatura aditiva. A estrutura de cor laranja é obtida a partir de filamentos de PLA.



Medidas de rugosidade das superfícies das placas antes e após recobrimento com selante inorgânico foram realizadas através de um rugosímetro Mitutoyo modelo SurfTest SJ – 210 equipado com *software* ST Communication Tool. Foram feitas 20 medições para cada uma de duas direções perpendiculares entre si.

O selante para recobrir um dos lados das superfícies das placas, foi feito através de uma mistura de partículas sólidas de sulfato cúprico com diâmetros variando entre 0,5-200 μm e um verniz. Misturas contendo entre 0,1 – 0,001 g de sulfato cúprico e 1 mL do verniz foram aplicadas manualmente nas superfícies das placas com pincel marca Tigre número 267-6 e após 24 horas de cura as misturas foram consideradas adequadamente aderidas, através de uma inspeção visual. A Figura 2 mostra um exemplo de placa impressa não recoberta e de placa impressa recoberta com o selante inorgânico.

Fig. 2 – Placas de PLA impressas por manufatura 3D. a - sem selante; b - recoberta com selante à base de cobre contendo 0,01g de sulfato cúprico/mL de verniz. Magnificação de 3,5 X.



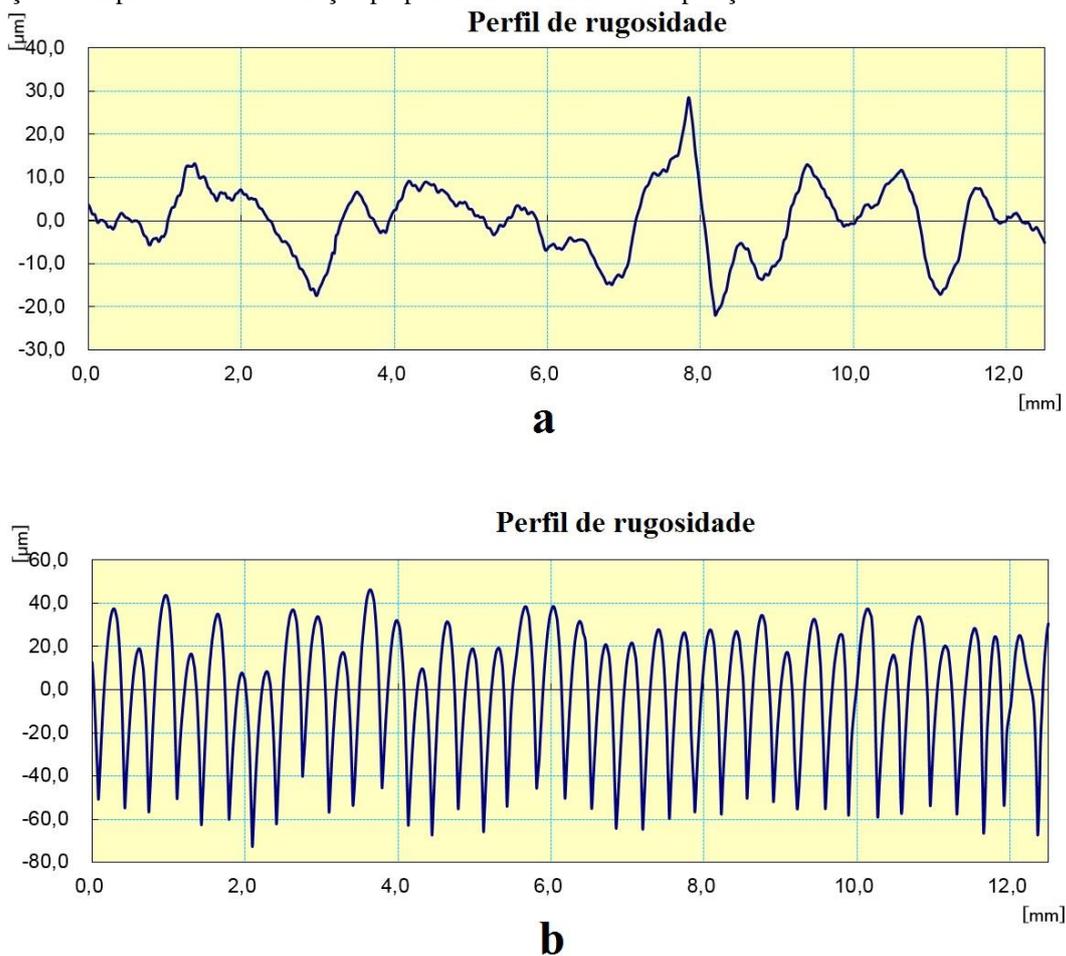
As superfícies das placas sem e com selante, nas diversas composições testadas, foram observadas por estéreo microscopia, microscopia óptica (MO)^{12,13} e por eletrônica de varredura (MEV)^{12,14}, respectivamente através dos microscópios Olympus modelo 8ZX16, Zeiss modelo M2m e Hitachi modelo TM3000, este último operando a 15kV. Análise e mapeamento dos elementos químicos¹⁵⁻¹⁸ presentes foi realizada por espectroscopia por dispersão de energia (*Energy Dispersive Spectroscopy* - EDS)¹⁹⁻²³ utilizando-se um detector X Flash MIN SVE fabricado pela Bruker acoplado ao MEV.

Análise e processamento digital de imagens (PDI)^{24,25} em escala macro (10 imagens de cada condição com aumentos de 3,5 X) das superfícies recobertas com selante foram realizadas através do *software* FIJI Image J versão 2.0.0-rc-66/1.52b. Foram utilizadas técnicas de segmentação colorida no sistema Red- Green- Blue (RGB) para a obtenção da fração de área percentual recoberta com Sulfato Cúprico para cada condição de mistura testada.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 3 apresenta exemplos dos perfis de rugosidade obtidos para a superfície do PLA fabricado por manufaturada aditiva, onde uma forte anisotropia ou variação da propriedade em função da direção pôde ser observada. Tal situação está associada à forma como as camadas de polímero foram depositadas na obtenção das placas e ao seu processo de fabricação^{26,27}.

Figura 3- Perfil de rugosidade (*Evaluation Profile*) do PLA sem selante. a - em direção paralela às linhas de deposição da impressão. b - em direção perpendicular às linhas de deposição.



Os valores de rugosidade média Ra obtidos foram de $22,51 \pm 8,40 \mu\text{m}$ na direção paralela às linhas de orientação preferencial geradas pela impressão e $8,72 \pm 3,49 \mu\text{m}$ em direção perpendicular à estas linhas. A presença do selante com as menores concentrações de sulfato cúprico testadas provocou uma suave redução nos valores de Ra, para ambas as direções. Tal fato já era esperado, uma vez que o verniz preencheu as cavidades das ranhuras e suavizou as diferenças entre vales e depressões da superfície. Os valores de Ra obtidos para $0,001\text{g}$ de sulfato cúprico / mL de verniz foram $18,10 \pm 0,67 \mu\text{m}$ e $4,36 \pm 0,81 \mu\text{m}$, para as direções paralela e perpendicular às linhas de impressão respectivamente. Para as maiores concentrações de sulfato cúprico no selante, não foi possível avaliar os perfis de rugosidade, uma vez que as partículas de sulfato de cobre formaram *clusters* de pequenos aglomerados sobre o PLA. Essa suavização dos vales pode ser observada na Figura 4, que apresenta as imagens da superfície das amostras observadas por MEV nas condições com e sem selante. A Figura 5 apresenta com maior detalhe, aspectos do relevo e das partículas de sulfato cúprico envolvidas pelo verniz pela técnica de MO. A técnica de MO apenas, não permitiu determinar se as partículas encontravam-se completamente encapsuladas pelo verniz. Na Figura 4 é possível observar que o processo de manufatura aditiva resultou em aproximadamente 3 filetes por milímetro, o que é condicente com o perfil de rugosidade da Figura 3b.

Fig. 4 – Superfície do PLA com selante (a) e superfície do PLA sem selante (b). MEV, magnificação 50 X.

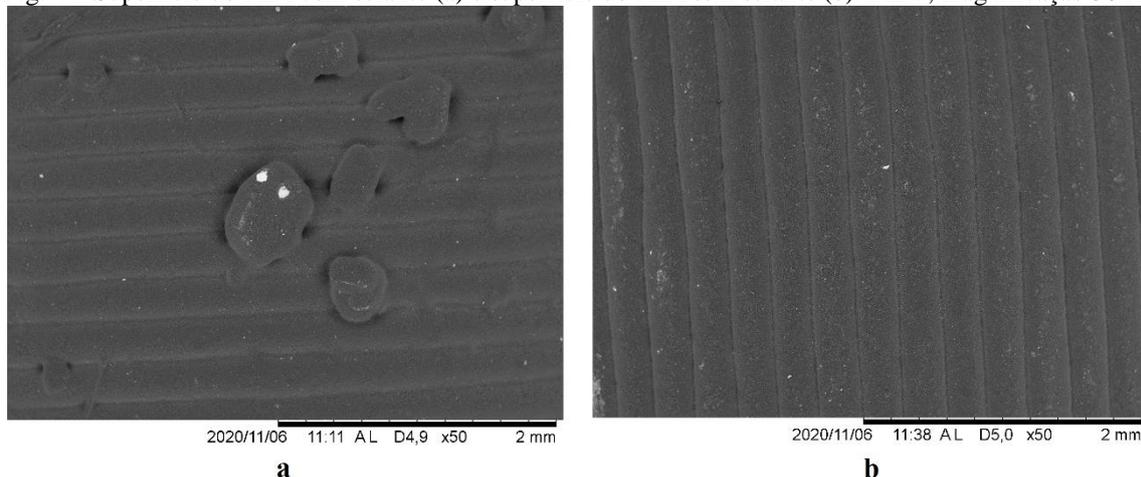
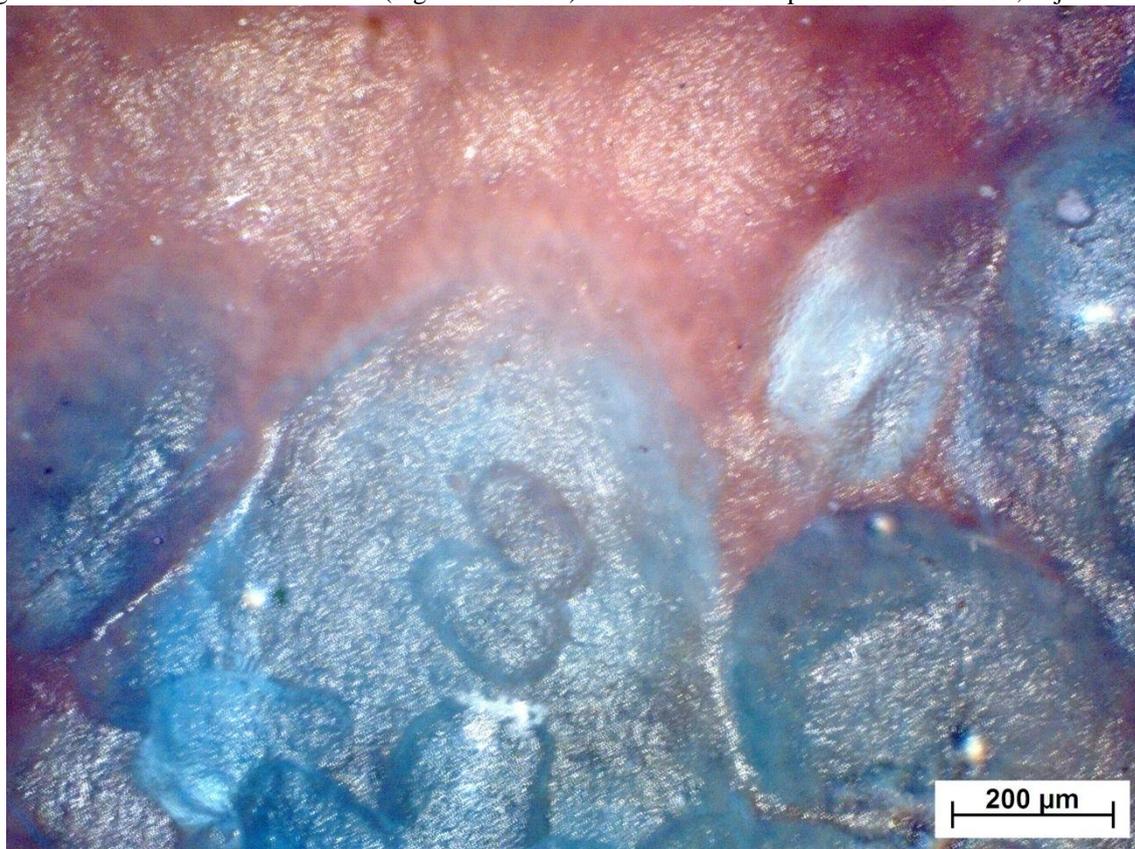
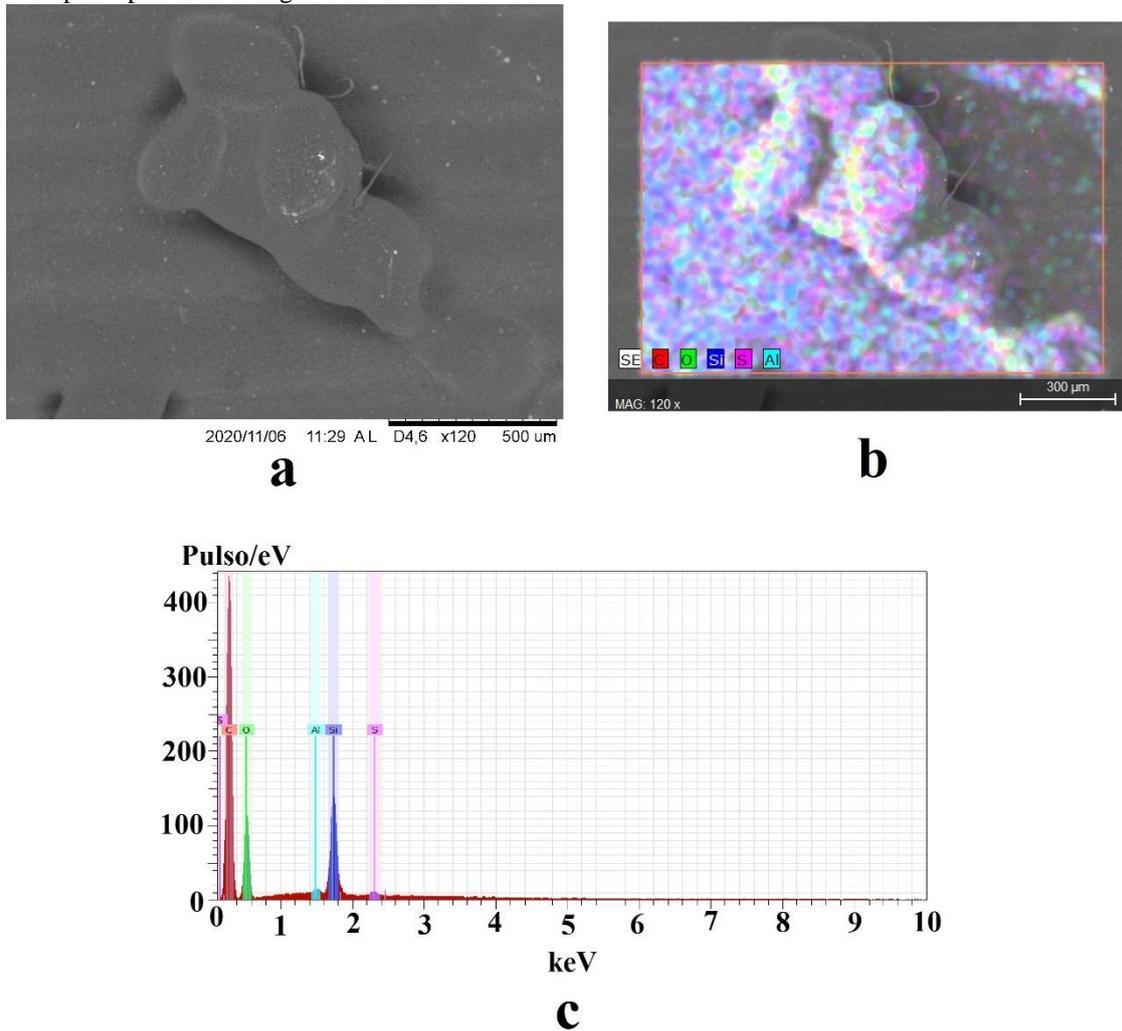


Fig. 5 – Partículas de sulfato de cobre (regiões azuladas) aderidas sobre a superfície do PLA. MO, objetiva 10 X.



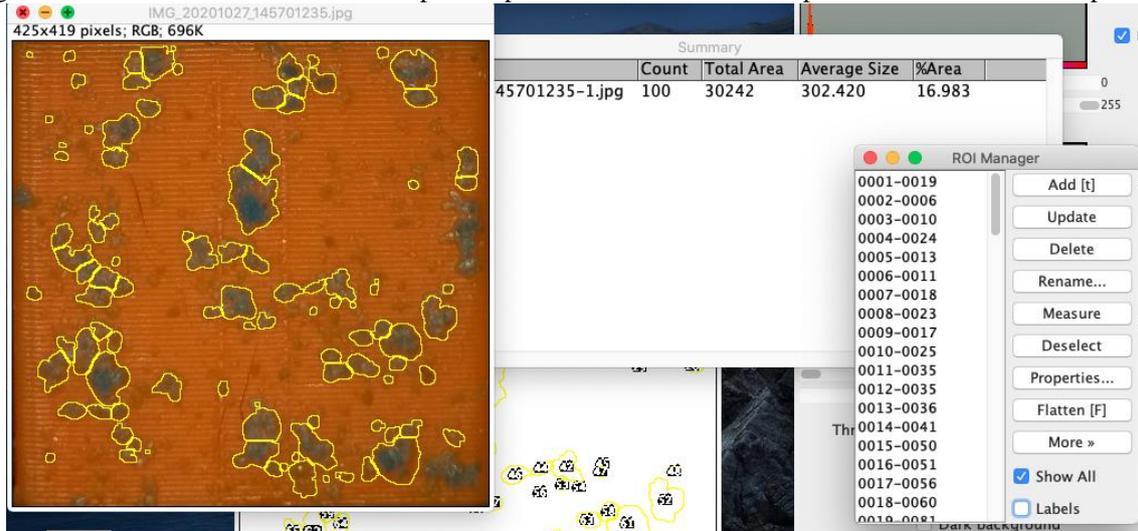
Os resultados da microanálise química por EDS para todas as condições testadas e em inúmeros locais sobre o PLA, revelaram que as partículas de sulfato de cobre estavam completamente encapsuladas pelo verniz, pois apenas as presenças significativas dos elementos carbono e silício, componentes principais do verniz utilizado, foram identificados através de maiores picos de energia, conforme mostra a imagem obtida por MEV de local contendo partícula de sulfato de cobre, o mapeamento por cores de elementos químicos presentes neste local e seu espectro de energias características associado (Figura 6). O total encapsulamento das partículas aderidas sobre as superfícies será positivo para a durabilidade da permanência do sulfato de cobre sobre os EPI's, entretanto, a efetiva ação bactericida e antiviral resultante do sistema, estará associada à esta condição^{7,28,29}.

Fig. 6 – Análise por MEV e EDS de *cluster* de partículas de sulfato de cobre depositado no PLA. a – imagem de MEV, ampliação 120X. b – resultado de EDS por mapeamento dos elementos químicos presentes; c – resultado do EDS por espectro de energias características.



O PDI revelou que o processo manual de aplicação dos selantes recobriu as superfícies de PLA com sulfato cúprico com valores que variaram entre 1 – 17% da área da superfície das placas, tais valores associados com a menor ou maior presença desta substância. A Figura 7 exemplifica um dos resultados obtidos para as imagens analisadas e utilizadas na quantificação da fração de área ocupada pelo reagente à base de cobre (tons de azul).

Fig. 7 – Partículas de sulfato de cobre ocupando aproximadamente 17% da superfície revestida medidas por PDI.



Considerando que as características e parâmetros associados a superfície irão afetar fortemente os mecanismos de adesão, sobrevivência e proliferação das bactérias e vírus sobre o material, tais como a rugosidade média Ra, aspectos morfológicos e a composição química, eles devem ser determinados para que possam ser associados aos mecanismos biológicos das culturas celulares contactantes.^{1,7}

4 CONCLUSÃO

Considerando as técnicas de caracterização utilizadas, pôde-se concluir que o selante ora proposto contendo partículas de sulfato de cobre, para recobrir as partes em PLA obtidas por manufatura aditiva em *face shields* de uso em ambiente hospitalar, apresentaram forte caráter anisotrópico em relação à rugosidade média Ra, tal situação associada ao processo de fabricação por deposição de PLA em camadas da manufatura aditiva. As partículas de sulfato de cobre formaram *clusters* que ocuparam áreas variando entre 1 – 17% das superfícies revestidas, para teores entre 0,1 - 0,001g de sulfato de cobre por ml de selante e que estavam fortemente aderidos após 24 horas de cura. Com a presença do selante, mesmo com as maiores concentrações de sulfato de cobre, as superfícies apresentaram essencialmente carbono e silício, mostrando que as partículas estavam encapsuladas e bem envolvidas, uma vez que não foram detectados sinais da presença do cobre. Como o sulfato de cobre é uma substância tóxica, espera-se que o sistema interfira no processo de proliferação bacteriana sem afetar os usuários dos *face shields*. Análises morfológicas, qualitativas e quantitativas da superfície do material e do agente inorgânico serão futuramente associadas às medidas quantitativas e qualitativas de culturas celulares para avaliação dos efeitos bactericidas da superfície com o selante proposto.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado em parte: pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento; pelo Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (PIBICT/PROCIENCIA 2020-2021 e ProGP 2019-2020). Os autores agradecem ao CNPq e ao PIBIC.

REFERÊNCIAS

1. Canabarro A, Diniz MG, Paciornik S, Carvalho L, Sampaio EM, Beloti MM, et al. High concentration of residual aluminum oxide on titanium surface inhibits extracellular matrix mineralization. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2008;87(3):588–97.
2. Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Habib SS, Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A comparative study. *Int J Nanomedicine*. 2012;7(June 2014):6003–9.
3. Amousoltani N, Salimijazi H, Golozar M. Study of alumina sealing of HVOF thermally sprayed WC-Co coatings by sol-gel method. *Mater Res Express*. 2019;7(1).
4. Casey AL, Karpanen TJ, Adams D, Lambert PA, Nightingale P, Miruszenko L, et al. A comparative study to evaluate surface microbial contamination associated with copper-containing and stainless steel pens used by nurses in the critical care unit. *Am J Infect Control* [Internet]. 2011;39(8):e52–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2010.12.012>
5. Cioffi N, Torsi L, Ditaranto N, Tantillo G, Ghibelli L, Sabbatini L, et al. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chem Mater*. 2005;17(21):5255–62.
6. Delgado K, Quijada R, Palma R, Palza H. Polypropylene with embedded copper metal or copper oxide nanoparticles as a novel plastic antimicrobial agent. *Lett Appl Microbiol*. 2011;53(1):50–4.
7. Diniz MG, Soares GA, Coelho MJ, Fernandes MH. Surface topography modulates the osteogenesis in human bone marrow cell cultures grown on titanium samples prepared by a combination of mechanical and acid treatments. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13(4):421–32.

8. International Organization for Standardization. Standard ISO 8501 corrosion protection of steel structures by painting. Vol. 33. 2011. 1–4 p.
9. Jiao J, Luo Q, Wei X, Wang Y, Shen J. Influence of sealing treatment on the corrosion resistance of Fe-based amorphous coatings in HCl solution. *J Alloys Compd* [Internet]. 2017;714:356–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.04.179>
10. Brandl E, Greitemeier D. Microstructure of additive layer manufactured Ti-6Al-4V after exceptional post heat treatments. *Mater Lett* [Internet]. 2012;81:84–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2012.04.116>
11. Liu S, Shin YC. Additive manufacturing of Ti6Al4V alloy: A review. *Mater Des* [Internet]. 2019;164:107552. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.107552>
12. Pimenta AR, Tavares SSM, Dias DF, Correa SR, Sobreiro AL, Diniz MG. Failure Analysis of a Titanium Hip Prosthesis. *J Fail Anal Prev*. 2020;
13. Pimenta AR, Tavares SSM, Diniz MG, Roco RAA, Oliveira MJ, Galiza JAG, et al. Finite element analysis of a mechanical fuse failure. *J Fail Anal Prev* [Internet]. 2020;20(2):370–5. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11668-020-00839-4>
14. Pimenta AR, Diniz MG, Perez G, Solórzano-Naranjo IG. Nitrogen addition to the shielding gas for welding hyper-duplex stainless steel. *Soldag Inspeção*. 2020;25:1–8.
15. Braga AV de C, do Lago DCB, Pimenta AR, de Senna LF. The influence of heat treatment of inorganic conversion coatings produced by sol-gel dip coating on the anticorrosive properties of alumina films deposited on steel substrate – Part I: Single conversion coatings. *Surf Coatings Technol* [Internet]. 2019;372(May):190–200. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.05.040>
16. Braga AVC, do Lago DCB, Pimenta AR, de Senna LF. The influence of heat treatment of inorganic conversion coatings produced by sol-gel dip coating on the anticorrosive properties of alumina films deposited on steel substrate - Part II: silica/boehmite or boehmite/silica multilayered conversion coatings. *Surf Coatings Technol* [Internet]. 2020;386(February):125500. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.125500>
17. Sales EL de, Rocha UG, Silva DM da, Correa SR, Pimenta AR, Diniz MG. Fracture Failure Analysis in Tie Rods of Stacker Reclaimer. *Rev Mundi Eng Tecnol e Gestão*

- (ISSN 2525-4782) [Internet]. 2020;5(2):1–13. Available from: [http://periodicos.ifpr.edu.br/index.php?journal=MundiETG&page=article&op=view&path\[\]=1155](http://periodicos.ifpr.edu.br/index.php?journal=MundiETG&page=article&op=view&path[]=1155)
18. Campos PK, Cardoso BR, Furtado HC, Pimenta AR, Diniz MG. Characterization of mechanical and surface finishing properties of metallic coating obtained by arc electric thermal spray. *Brazilian J Dev.* 2020;6(3):11078–90.
 19. Freitas RP, Ribeiro IM, Calza C, Oliveira AL, Silva ML, Felix VS, et al. Analysis of clay smoking pipes from archeological sites in the region of the Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brazil) by FT-IR. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2016;163:140–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.03.036>
 20. Ribeiro IMN, Freitas RP, Calza C, Oliveira ALC, Felix VS, Ferreira DS, et al. Analysis by raman spectroscopy and XRF of glass beads from excavations in the harbor area of rio de janeiro, Brazil. *Vib Spectrosc.* 2016;87.
 21. Freitas RP, Ribeiro IM, Calza C, Oliveira AL, Felix VS, Ferreira DS, et al. Analysis of a Brazilian baroque sculpture using Raman spectroscopy and FT-IR. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2016;154:67–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.10.013>
 22. Pereira MO, Felix VS, Oliveira AL, Ferreira DS, Pimenta AR, Carvalho CS, et al. Investigating counterfeiting of an artwork by XRF, SEM-EDS, FTIR and synchrotron radiation induced MA-XRF at LNLS-BRAZIL. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2021;246:118925. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118925>
 23. Felix VS, Mello UL, Pereira MO, Oliveira AL, Ferreira DS, Carvalho CS, et al. Analysis of a European cupboard by XRF, Raman and FT-IR. *Radiat Phys Chem.* 2018;151:198–204.
 24. Gonzalez RC, E. W. *Digital Image Processing.* Pearson; 2007. 954 p.
 25. Paciornik S, Mauricio MHP. *Digital Imaging.* In: ASM, editor. *ASM handbook, vol 9 metallography and microstructure.* Ohio: ASM International; 1989.
 26. Love LJ, Duty C. *Cincinnati big area additive manufacturing (BAAM)* [Internet]. Oak Ridge National Laboratory. 2015. Available from: <https://www.osti.gov/scitech/biblio/1210140/>

27. Ashby MF. Technology of the 1990s: advanced materials and predictive design. *Philos Trans R Soc London Ser A, Math Phys Sci* [Internet]. 1987 Jul 27;322(1567):393–407. Available from: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsta.1987.0059>
28. Nordstrom JM, Reynolds KA, Gerba CP. Comparison of bacteria on new, disposable, laundered, and unlaundered hospital scrubs. *Am J Infect Control* [Internet]. 2012;40(6):539–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2011.07.015>
29. Sanin SL, Sanin FD, Bryers JD. Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria. *Process Biochem*. 2003;38(6):909–14.