

Palavras-chave: inativação, esporos, placas de aço inoxidável

## 1. Introdução

**Esterilização da superfície → tecnologia chave para dispositivos biomédicos**

CO<sub>2</sub> supercrítico (CO<sub>2</sub>-SC): alternativa para inativação microbiana de biomateriais poliméricos **sensíveis ao calor**.

**Vantagens:** ❖ Uso de condições moderadas de pressão e temperatura (CO<sub>2</sub>: T<sub>c</sub> = 31,1°C, P<sub>c</sub> = 73,8 bar);  
❖ CO<sub>2</sub> é atóxico e barato.

**Objetivos:** ❖ Adaptação do aparato experimental para validar a metodologia de tratamento com CO<sub>2</sub>-SC como método de esterilização alternativo.  
❖ Investigar o potencial do tratamento com CO<sub>2</sub>-SC e do ar comprimido na inativação de *Aspergillus niger* inoculados na superfície de implantes metálicos (placas de aço-inoxidável).

## 2. Metodologia

**Microrganismo:** *Aspergillus niger* liofilizado (ATCC 16404)

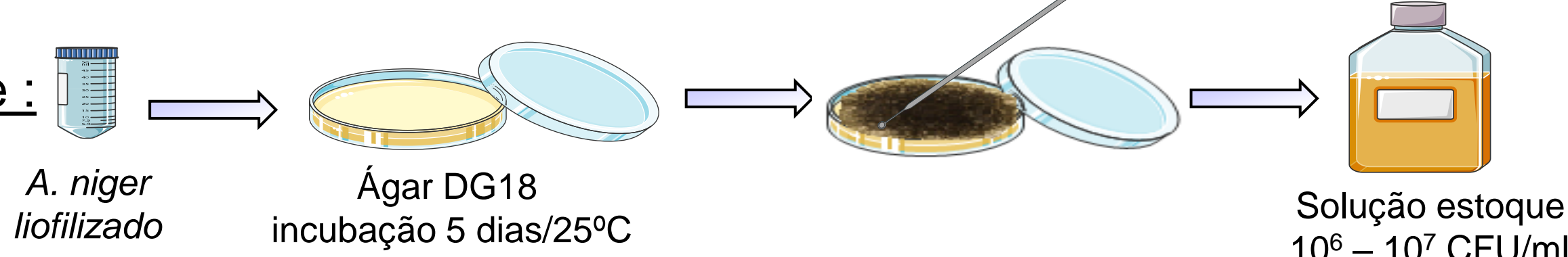
✓ **Solução estoque:** 

Figura 1: Ativação e propagação dos esporos de *Aspergillus niger*.

✓ **Inoculação na superfície de implantes modelo estéreis:**

- Procedimento: Aplicação de três alíquotas de 50 µL de solução estoque na superfície do implante.

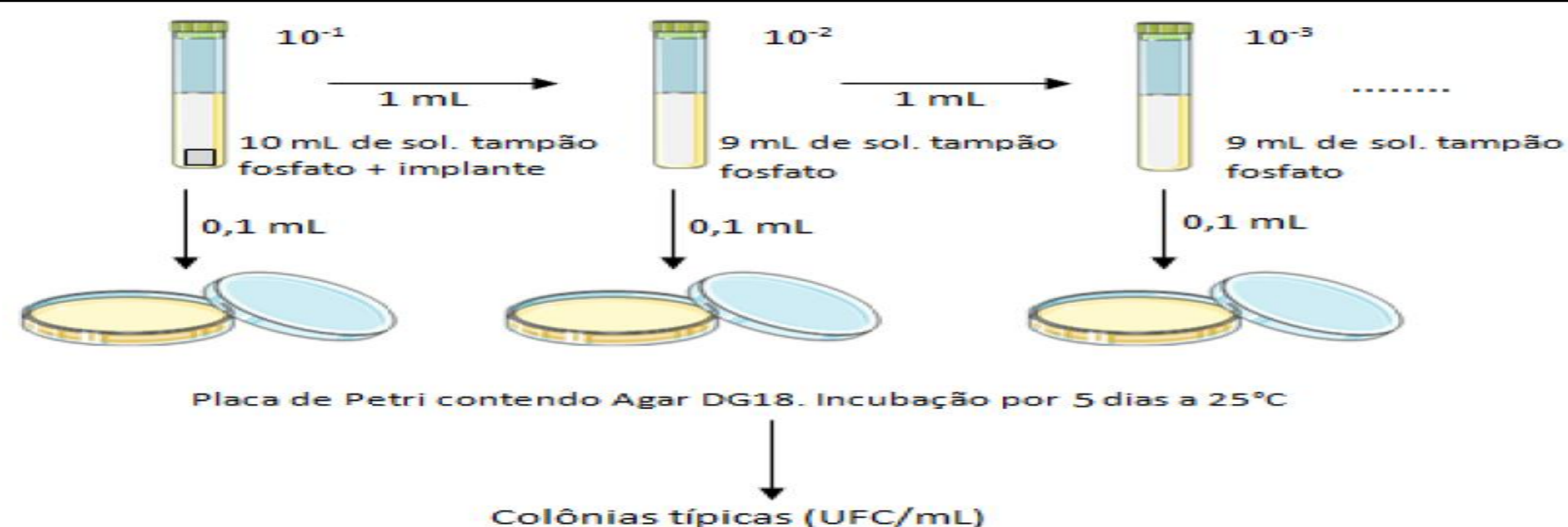


Figura 2: Procedimento para a contagem de esporos viáveis.

**Unidade de tratamento com fluidos supercríticos:**

**Condições experimentais:** Temperatura: 30°C  
Pressão: 60 bar a 100 bar  
Tempo de tratamento: 0 a 30 minutos

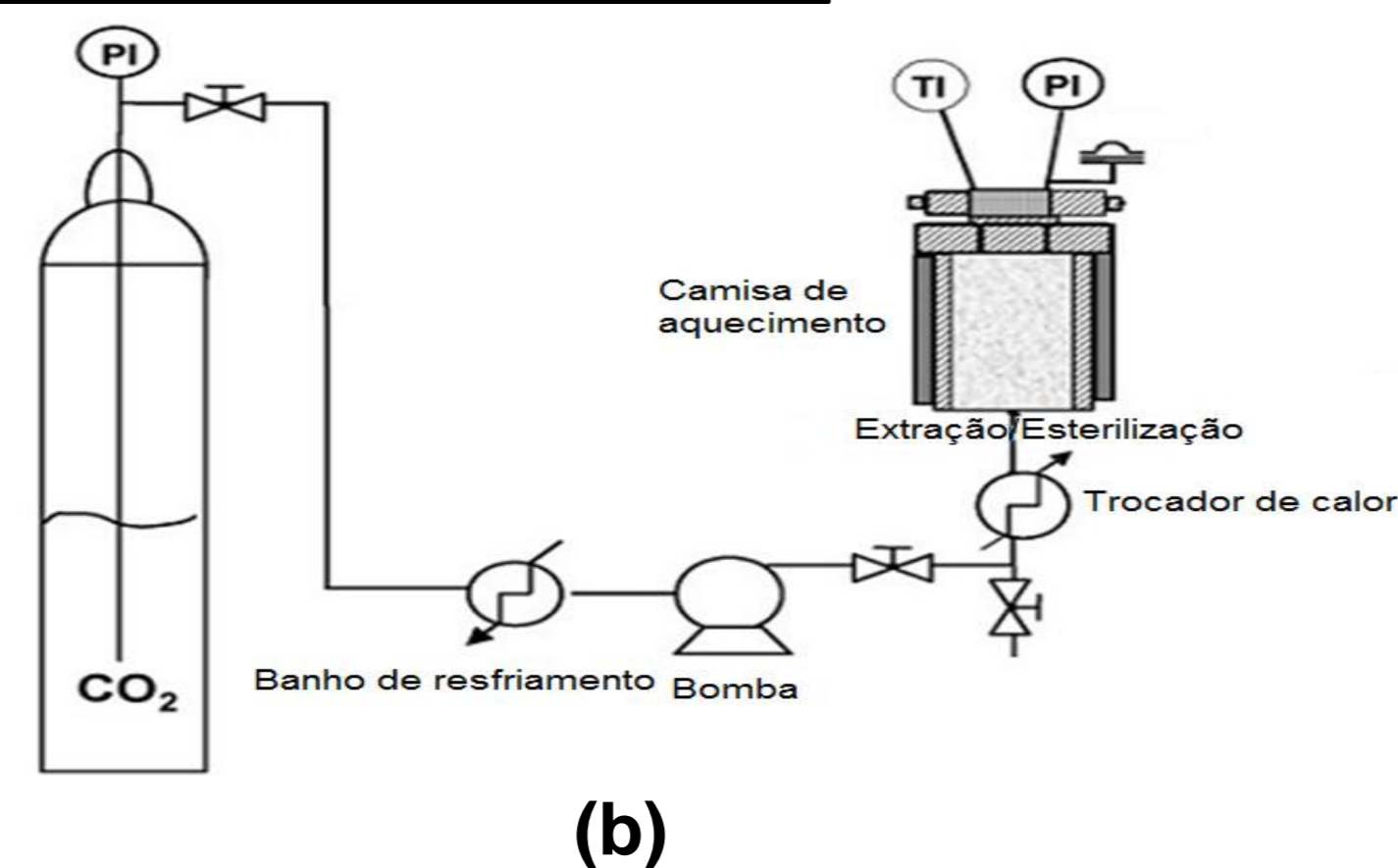


Figura 3: (a) Equipamento para processos com fluidos supercríticos; (b) Diagrama de fluxo simplificado do sistema de esterilização.

Após tratamento com CO<sub>2</sub>: implantes foram submetidos à contagem de esporos viáveis (técnica de contagem padrão em placas).

✓ Ensaios utilizando ar comprimido em substituição ao CO<sub>2</sub>, nas mesmas condições experimentais, foram realizados para verificar se o CO<sub>2</sub> desempenha papel fundamental no mecanismo de esterilização.

## 3. Resultados e discussão

**Adaptações do equipamento:**

❖ Para aperfeiçoar e otimizar o processo foram realizadas modificações no aparato experimental:

- Substituição das tubulações, acessórios e válvulas de diâmetro de 1/4" para 1/8", a redução do diâmetro tornou o carregamento de CO<sub>2</sub> mais rápido;
- Troca das válvulas e do sistema de fechamento e vedação da tampa do reator para eliminar pontos de vazamento do gás;
- O reator foi deslocado da posição vertical para a horizontal para facilitar o manuseio dos implantes e confeccionou-se um suporte cilíndrico de aço inoxidável maciço para diminuir o volume vazio do reator e agilizar a pressurização.

**Ensaio com CO<sub>2</sub>:**

Tabela 1: Eficiência do tratamento com CO<sub>2</sub>-SC (60, 75 e 100 bar/30°C/ tempo para pressurização e despressurização) na inativação de esporos de *A. niger* inoculados na superfície de implantes metálicos.

Pressão (bar)	Tempo (min)		Contagem antes do tratamento (UFC <sup>1</sup> /mL)	Contagem após o tratamento (UFC/mL)	
	Press.	Despress.		Após o teste	Após uma semana
100	15	5	2,13·10 <sup>5</sup>	ND	ND
75	6	2	2,68·10 <sup>5</sup>	ND <sup>2</sup>	ND
60	0,5	0,3	7,50·10 <sup>3</sup>	2,25·10 <sup>2</sup>	-

1 - Unidades Formadoras de Colônia; 2 - Não detectável

Tabela 2 – Eficiência do tratamento com CO<sub>2</sub>-SC (60 bar/30°C) com diferentes tempos de tratamento na inativação de esporos de *A. niger* inoculados na superfície de implantes metálicos.

Pressão (bar)	Tempo de tratamento (minutos)	Contagem antes do tratamento (UFC/mL)	Contagem após o tratamento (UFC/mL)	
			Após o teste	Após uma semana
60	10	4,48·10 <sup>4</sup>	ND	ND
60	5	4,48·10 <sup>4</sup>	ND	ND
60	1	2,30·10 <sup>4</sup>	ND <sup>1</sup>	ND
60	0	2,27·10 <sup>5</sup>	1,91·10 <sup>4</sup>	-

**Ensaio com ar comprimido:**

Tabela 3 – Eficiência do tratamento com ar comprimido (60 e 100 bar/30°C/com diferentes tempos de tratamento) na inativação de esporos de *A. niger* inoculados na superfície de implantes metálicos.

Pressão (bar)	Tempo de tratamento (minutos)	Contagem antes do tratamento (UFC/mL)	Contagem após o tratamento (UFC/mL)	
			Após o teste	Após uma semana
100	30	9,08·10 <sup>4</sup>	7,42·10 <sup>3</sup>	-
60	30	9,08·10 <sup>4</sup>	9,35·10 <sup>3</sup>	-
60	5	3,52·10 <sup>4</sup>	2,47·10 <sup>4</sup>	-
60	0	3,52·10 <sup>4</sup>	2,95·10 <sup>4</sup>	-

## 4. Conclusões

- ❖ As alterações no aparato experimental utilizado nos ensaios com CO<sub>2</sub>-SC, permitiram reduzir substancialmente o tempo de tratamento em relação ao antigo sistema.
- ❖ Os resultados obtidos validam as técnicas e práticas experimentais envolvidas na realização de cada uma das etapas dos ensaios.
- ❖ O CO<sub>2</sub> mostrou-se eficaz na inativação dos microorganismos até em condições próximas as críticas (30°C, 60bar) com um minuto de tempo de tratamento.
- ❖ Os ensaios a 60 bar (0 e 5 minutos), utilizando ar, foram ineficazes na inativação dos microorganismos, o que sugere que características intrínsecas ao CO<sub>2</sub> (maior solubilidade em água em relação ao ar e formação de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> com redução do pH intracelular) estejam associadas a inativação.

## 5. Referências

- BALLESTRA, P., CUQ, J. (1998), Influence of pressurized carbon dioxide on the thermal inactivation of bacterial and fungal spores. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31 (1), 84-88.
- SHIMODA, M., KAGO, H., KOJIMA, N., MIYAKE, M., OSAJIMA, Y., HAYAKAWA, I. (2002), Accelerated death kinetics of *Aspergillus niger* spores under high-pressure carbonation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (8), 4162-4167.