

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Nathália Bahia Miranda

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO PRÓPOLIS VERDE NA COR DE SILICONES  
PROTÉTICOS FACIAIS

Belo Horizonte – MG

2018

Nathália Bahia Miranda

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO PRÓPOLIS VERDE NA COR DE SILICONES  
PROTÉTICOS FACIAIS

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
como requisito para conclusão de curso de  
graduação em Odontologia da UFMG.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amália Moreno.

Belo Horizonte – MG

2018

## RESUMO

As soluções brasileiras de extratos de própolis verde podem ser alternativas efetivas para desinfecção e controle da saúde de usuários de próteses maxilofaciais. No entanto, o efeito da própolis sobre a estética e as propriedades mecânicas dos elastômeros maxilofaciais precisa ser melhor investigado. O objetivo deste estudo in vitro foi avaliar o efeito da desinfecção com soluções de extrato de própolis verde brasileiras na alteração de cor ( $\Delta E$ ) dos valores transmitância, parâmetro de translucidez (TP), relação de contraste (CR) de dois elastômeros maxilofaciais. Foram avaliados dois tipos de elastômeros maxilofaciais, MDX4-4210 e Nusil e confeccionadas 50 espécimes redondos (3x10 mm) de cada elastômero. Os espécimes foram submetidos a 60 dias de desinfecção, 3 vezes por semana. As soluções utilizadas foram: água destilada-H<sub>2</sub>O, clorexidina a 2%-CHX2%, e extratos de própolis verde a 11% (aquoso-PAQ, Glicólico-PGL e alcoólico-PAL) por imersão durante 15 minutos. Os parâmetros de dureza foram realizados antes e após o período de desinfecção. Os dados foram analisados com análise de variância multivariada não paramétrica (NPMANOVA), e testes de comparações ( $\alpha=0,05$ ). Pode-se observar que os elastômeros desinfetados com soluções PAQ e PGL apresentaram valores  $\Delta E$  aceitáveis clinicamente. Pode-se verificar diferenças de opacidade e translucides para PAL e PGL no elastômero RTV. Conclui-se que soluções de própolis aquoso parece ser favorável para desinfecção sem comprometer as propriedades dos elastômeros. O elastômero HCR apresentou menor alteração das propriedades de cor comparado ao RTV.

Palavras-chave: Prótese maxilofacial. Desinfecção. Própolis. Clorexidina. Cor.

## ABSTRACT

Brazilian green propolis-extract solutions may be effective alternative for disinfection and health control of maxillofacial prosthesis users. However, the effect the propolis about the aesthetics and mechanical properties of maxillofacial elastomers need be better investigated. The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the effect of disinfection with Brazilian green propolis-extract solutions on transmittance color change ( $\Delta E$ ), translucency parameter (TP), contrast ratio (CR) and hardness of two maxillofacial elastomers. Two maxillofacial elastomers types, MDX4-4210 and Nusil were evaluated. Fifty disk-shaped specimens (3 × 10 mm) were fabricated from each elastomer. Specimens were subjected to disinfection three times a week for 60 days using distilled water-H<sub>2</sub>O, chlorhexidine-CHX 2%, green propolis-extracts 11% (aqueous-PAQ, glycolic-PGL and alcoholic-PAL) for immersion at 15 minutes. Shore A hardness and color parameters were performed before and after disinfection period. Data were analyzed with nonparametric multivariate analysis of variance (NPMANOVA) and the comparisons tests ( $\alpha=.05$ ). It can be observed that the elastomers disinfected with PAQ and PGL solutions showed  $\Delta E$  values and were clinically acceptable. Differences of opacity and translucides for PAL and PGL may be verified in the RTV elastomer. It can be concluded that solutions of aqueous propolis appear to be favorable for disinfection without compromising the properties of the elastomers. The HCR elastomer showed less alteration of color properties compared to RTV.

Keywords: Maxillofacial prosthesis. Disinfection. Propolis. Chlorhexidine. Color.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PAQ	= extrato de própolis aquoso
PGL	= extrato de própolis glicólico
PAL	= extrato de própolis alcoólico
CHX4	= gluconato de clorexidina a 2%
H <sub>2</sub> O	= água
TP	= parâmetro de translucidez
CR	= relação de contraste
NPMANOVA	= análise de variância multivariada não paramétrica
RTV	= silicone facial polimerizado a temperatura ambiente
HCR	= elastômero de silicone facial de alta consistência
Ltda.	= limitada
$\Delta E$	= alteração de cor
3D	= espaço de cor tridimensional
%	= porcentagem
°C	= Graus Celsius
mm	= milímetros
min	= minutos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>07</b>
<b>2 OBJETIVOS E HIPÓTESES.....</b>	<b>10</b>
2.1 Objetivo e hipóteses gerais.....	10
2.2 Objetivos e hipóteses específicas .....	10
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
<b>5 DICUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>25</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>29</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As próteses faciais têm por objetivo principal restaurar a estética, embelezando o rosto e mascarando o defeito facial. Além disso, permite contribuir na restauração da função ou em parte dela, oferecendo proteção aos tecidos remanescentes. Com isso, a reparação da perda facial acarreta a normalidade das condições psíquicas de seu portador auxiliando na terapia psicológica e sua reintegração na sociedade (Beumer *et al.*). Os materiais utilizados para confecção das próteses faciais exigem importantes requisitos, principalmente no que tange à estética e durabilidade do material para que possam atingir adequadamente os objetivos almejados com a reabilitação protética (Guiotti *et al.*, 2016). A coloração da prótese facial atingida a partir do incolor deve mimetizar o tecido remanescente principalmente nas bordas das peças e manter sua durabilidade pelo período de 6 meses a 1 ano (Filié Haddad *et al.*, 2011). Nesse contexto, as propriedades ópticas dos elastômeros maxilofaciais são importantes fatores a serem observados, pois indicam a quantidade e a qualidade de luz refletida, transmitida e absorvida, e conseqüentemente impactam na naturalidade da pigmentação (Moon *et al.*, 2014).

A propriedade de translucidez é considerada um estado parcial de opacidade, entre a completa opacidade e a total translucidez (Li *et al.*, 2009). Neste parâmetro óptico, tem sido demonstrado que alterações superficiais em um dado material afetam a transmissão de luz e alguns fenômenos são essenciais para a percepção de cores como a transmitância, parâmetro de translucidez (TP) e taxa de contraste (CR) (Miyagawa *et al.*, 1981; Nogueira *et al.*, 2013). A percepção visual da cor por aparelhos de medição permite a identificação dessas alterações sem a subjetividade do olho humano por meio do sistema CIELAB expresso em dados numéricos onde  $L^*$  é o eixo de luminosidade,  $a^*$  é eixo vermelho-verde, e  $b^*$  é o eixo amarelo-azul (Brewer *et al.*, 2004). Além disso, estudos relevantes mostraram variedade de valores limiares de perceptibilidade e aceitabilidade para silicone maxilofacial, e ainda incluindo tons claros e escuros (Nguyen *et al.*, 2013), sendo valores de alteração de cor ( $\Delta E$ ) inferiores a 1.0 e 1.1/1.6 para clinicamente imperceptível, e valores de  $\Delta E$  superiores a 3.3 e 3.0/4.4 para clinicamente inaceitável.

Atualmente os elastômeros de silicones polimerizados à temperatura ambiente (*Room Temperature Vulcanization-RTV*), ou pelo calor (*High Temperature Vulcanization-HTV*) são apontados como os materiais de escolha na confecção de próteses maxilofaciais. O elastômero de silicone Silastic MDX4-4210 é comumente utilizado por clínicos e pesquisas por ser translúcido, de fácil manipulação e coloração, e constituído por duas partes (catalisador e base). Os elastômeros de silicone de alta consistência (*Consistency Silicone Elastomer-HCR*) com menor translucidez, e constituído por duas gomas, parte A e B (catalisador e base) são de uso para próteses faciais, mas apresentam escassez de estudos a seu respeito. No entanto estes materiais, podem apresentar problemas associados com a sua utilização, tais como a absorção de água, alteração da dureza, deterioração superficial, com consequente alteração de cor a longo prazo (dos Santos *et al.*, 2012). Além disso, a possibilidade de colonização bacteriana consiste em outra limitação apresentada pelos silicones. Portanto, a desinfecção periódica das próteses pelo paciente é essencial no sentido de prevenir infecções dos tecidos de suporte.

Alguns métodos que promovem a desinfecção de materiais protéticos têm sido relatados na literatura, como o uso da solução de gluconato de clorexidina, mesmo diante de possíveis alterações químico-físicas ao material decorrentes do uso da solução. Análises sobre o uso de fitoterápicos alternativamente como agente de desinfecção tem apresentado eficácia antimicrobiana, mas também com consequentes alterações na estabilidade de cor dos materiais protéticos. Estudo realizado por Farnesi *et al.* (2009) encontrou atividade antibacteriana do extrato de própolis verde contra *Staphilococcus aureus*. O extrato de própolis apresenta vantagens de uso como a eficácia antimicrobiana e a baixa toxicidade, já que não é do nosso conhecimento relatos de casos de efeitos colaterais e poucos casos de alergia, além do baixo custo. O própolis é um material resinoso produzido pelas abelhas de resinas vegetais, exsudato, cera, pólen, pedaços de folhas e auto secreção. Ainda é utilizado para selar e proteger a colmeia contra o calor, frio, vento, água, insetos e microrganismos. Existem diferentes variedades de própolis no mundo, de acordo com a espécie vegetal visitada pelas abelhas e as variações climáticas da região, na qual é produzida. A principal espécie vegetal nativa do Brasil visitada pelas abelhas é o alecrim-do-campo, *Baccharis dracunculifolia*.



Conhecendo a necessidade estética das próteses faciais, é extremamente importante que as características de seus materiais de confecção sejam preservadas, o que consta de uma tarefa árdua, tendo em vista a necessidade de desinfecção rotineira das próteses e sua exposição constante ao meio. Estudos prévios têm relatado que a estabilidade de cor e a dureza/textura estão diretamente envolvidos na satisfação e durabilidade da prótese facial (dos Santos *et al.*, 2012). A tríade cor, translucidez e brilho tão igualmente devem ser preservados em um material de uso em prótese facial diante do uso de produtos de higienização e periodicamente desinfecção (Kiat-amnuay *et al.*, 2009).

Embora existam atualmente no mercado, alguns produtos já bem estabelecidos de higienização para próteses intra-orais e lentes de contato oculares, não se tem o mesmo para desinfecção de próteses bucomaxilofaciais, esses estudos ainda são escassos. A grande maioria dos estudos são direcionados a limitação da microbiota aderida aos materiais utilizados em próteses dentárias. Ainda assim, os efeitos de soluções de extrato de própolis verde brasileiro nas propriedades de cor de elastômeros de silicone não foram claramente estudados na odontologia.

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

### 2.1 Objetivo e hipóteses Gerais

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de desinfecção com soluções de própolis verde brasileiro nos parâmetros de cor: alteração de cor da transmitância, TP e CR de dois elastômeros maxilofaciais, RTV e HCR. A hipótese nula é que as soluções utilizadas na desinfecção periódica proposta não alteram as propriedades de cor dos elastômeros maxilofaciais.

### 2.2 Objetivos e hipóteses Específicas

- Avaliar *in vitro* a alteração de cor ( $\Delta E$ ) de dois tipos de elastômeros de silicone facial (RTV e HCR), após tratamento por imersão durante 60 dias, 3 vezes por semana, com soluções de própolis.

- Avaliar *in vitro* os parâmetros de translucidez (TP) de dois tipos de elastômeros de silicone facial (RTV e HCR), após tratamento por imersão durante 60 dias, 3 vezes por semana, com soluções de própolis.

Avaliar *in vitro* a opacidade (CR) de dois tipos de elastômeros de silicone facial (RTV e HCR), após tratamento por imersão durante 60 dias, 3 vezes por semana, com soluções de própolis.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliadas duas marcas de elastômeros maxilofaciais, HTV (Silastic MDX 4-4210; Dow Corning Corporation, Midland, MI, EUA) e o HCR (Silastic Q7-4735; Dow Corning Corporation) e três diferentes soluções Brasileiras de extratos de própolis verdes e clorexidina 2% (Tabela 1). Cinquenta espécimes em forma de disco (10 mm de diâmetro, 3 mm de espessura) de dois tipos de elastômeros maxilofaciais foram confeccionados utilizando matriz metálica.

<b>Material</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Composição</b>
MDX4-4210 (Room Temperature Vulcanization-RTV)	Dow Corning Corp	Poly (dimethylsiloxane)
MED-4014 (High Consistency Silicone Elastomer-HCR)	NuSil Technology LLC	Poly (dimethylsiloxane)
Extrato de própolis aquoso a 11%	Bee Propolis Brasil	Água deionizada e própolis verde Brasileiro
Extrato de própolis glicólico a 11%	Bee Propolis Brasil	Propilenoglicol e própolis verde Brasileiro
Extrato de própolis alcoólico a 11%	Bee Propolis Brasil	Álcool de cereal natural e própolis verde Brasileiro
Clorexidina a 2%	Maquira	Digluconato de clorexidina a 2%, metilparabeno, água purificada

Tabela 1- Fabricante e composição dos materiais utilizados no estudo.

### **3.1. Confeção dos discos de elastômero de silicone facial**

A confecção dos espécimes foi realizada com auxílio de uma mufla odontológica (VIPI STG; VIPI Ind. Com. Ltda.), a qual foi preenchida com gesso pedra (Tipo III; Durone; Dentsply Ind e Com Ltda.), e uma lâmina de vidro de superfície lisa retangular (80 mm x 35 mm x 3 mm) incluída no gesso com a superfície superior paralela as bordas da mufla. Após a cristalização do gesso, a matriz metálica foi posicionada sobre a lâmina de vidro e uma outra lâmina de vidro semelhante foi posicionada sobre esta matriz. A superfície do gesso da base da mufla foi isolada e na sequência a contra-mufla posicionada, e o interior completado com gesso pedra (Dentsply Ind e Com Ltda.). O elastômero RTV foi misturado manualmente numa proporção de 10: 1 (base: catalisador) com uma espátula de aço inoxidável, e inserido no interior das superfícies internas da matriz, em temperatura ambiente de 23 ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), e umidade relativa de 50 ( $\pm 10\%$ ). Após isso, a mufla permaneceu em repouso, à temperatura e umidade ambiente, durante 72 horas, para completa polimerização do material. O elastômero HCR foi homogeneizado mecanicamente por 10 repetições sequenciais, e uma película de poliuretano (Polyurethane Sheet AI-513; Factor II Inc.), foi posicionada sobre as lâminas de vidro. Após isso, o silicone foi inserido no interior das superfícies internas da matriz, e a mufla foi levada a uma estufa (Olidex CZ) à temperatura de aprox. 116 ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ), durante 10 min. Após isso, a mufla permaneceu em repouso, à temperatura e umidade ambiente, durante 3 horas, para completa polimerização do material.

### **3.2. Tratamento com as soluções propostas no estudo**

Os discos de silicone RTV e HCR, foram desinfetados três vezes por semana durante 60 dias, utilizando as seguintes soluções: água destilada- $\text{H}_2\text{O}$ , clorexidina-CHX 2%, extrato de própolis verde Brasileiro a 11% (Aquoso-PAQ, Glicólico-PGL e Alcoólico-PAL) por imersão durante 15 min. Após cada procedimento de desinfecção, todos os espécimes foram armazenados em uma caixa preta à prova de luz (sem incidência de luz natural ou artificial), com condições controladas de temperatura ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), e umidade relativa ( $50 \pm 10\%$ ), para evitar a ocorrência de possíveis mudanças de cor.

### **3.3. Avaliação das propriedades de cor**

Os parâmetros ópticos de todos os espécimes foram medidos usando um espectrofotômetro (CM-3700D; Konica Minolta) na faixa de comprimento de onda de 360-740 nm, Lâmpada D65 e ângulo de 2 graus. Para isso, utilizou-se um meio de acoplamento, ou seja, solução de glicerina como líquido entre os espécimes, e fundos em preto e branco para mensuração da refletância espectral. Os parâmetros de translucidez, como a transmitância, foi medida contra fundo preto e sem meio de acoplamento. Foi realizada uma leitura por espécime, em 2 períodos de tempo, antes e depois de 60 dias de imersão nas soluções propostas. As diferenças de cor ( $\Delta E$ ) foram calculadas usando CIELAB (DeltaE\*ab) para transmitância foram calculadas usando o sistema CIELAB, conforme estabelecido pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE). Este sistema calcula a variação de cor entre 2 pontos em um espaço de cores tridimensional (3D). As coordenadas de cor, L \* (luminosidade), a \* (eixo vermelho-verde), b \* (eixo amarelo-azul), C \* (croma) e h (ângulo de matiz). O TP e CR foram calculados a partir de registros de valores da refletância espectral, de acordo com estudos prévios.

Em seguida, os espécimes foram desinfetados três vezes por semana durante 60 dias, que corresponde a 24 dias corridos. Após cada procedimento de desinfecção, todos os espécimes foram armazenados em uma caixa preta à prova de luz, com condições controladas de temperatura. Ao término do período de desinfecção, foram realizadas novas leituras das propriedades de cor.

Os valores médios de  $\Delta E$  entre 1,1 e 1,6 foram considerados "cl clinicamente imperceptíveis", os valores de  $\Delta E$  entre 3,0 e 4,4 foram considerados "cl clinicamente aceitáveis" e os valores de  $\Delta E$  acima de 4,4 foram considerados "cl clinicamente inaceitáveis".

### **3.4. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando o software R (R Core Team, 2015). Todos os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variância de Levene ( $\alpha = 0,05$ ) concluindo-se que as variâncias iguais não puderam ser assumidas. Os valores de alteração de cor ( $\Delta E$ ) para transmitância; TP e CR após 60 dias de imersão nas soluções propostas foram submetidos a análise de variância multivariada não paramétrica (NPMANOVA). A NPMANOVA é um teste não paramétrico desenvolvido para abordar algumas das limitações

dos testes multivariados de análise de variância (MANOVA), como conjuntos de dados não distribuídos e variáveis não-independentes. Este teste fornece uma relação F para avaliar se as diferenças são estatisticamente significativas (Anderson et al., 2001). O pacote npsy (Burchett e Ellis, 2017) fornece as funções R "nonpartest" e "ssnonpartest", ambas usadas para calcular estatísticas de teste não paramétrico. O primeiro calcula-se no teste global (Wilks' Lambda) e o segundo para um procedimento de comparações múltiplas. Após rejeição da hipótese global, realizou-se um algoritmo de todos os subconjuntos sobre os níveis dos fatores, para avaliar qual deles contribuiu para um resultado significativo (Marcus, Peritz e Gabriel, 1976; Sonnemann, 2008).

As coordenadas de cor, L \* (luminosidade) e C \* (croma), dos valores de transmissão após 60 dias de imersão nas soluções foram distribuídas e apresentadas na forma de figura. As curvas de refletância espectral (valores médios para cada comprimento de onda) e seu erro padrão correspondente foram mostrados em forma de figura. A refletância espectral foi submetida a NPMANOVA, que é útil considerando análises realizadas em espectros onde o comprimento de onda vizinho geralmente está altamente correlacionado entre si. A análise foi realizada para cada elastômero considerando os intervalos espectrais formados para 39 bandas (variáveis). Para a refletância espectral, a significância estatística de NPMANOVA foi calculada pela permutação dos membros do grupo e realizada com a função "adonis" do pacote vegano (Oksanen et al., 2009) devido a restrições da pacote npsv quando o número de variáveis é muito grande.

#### **4. RESULTADOS**

Todos os espécimes mostraram mudança de cor de transmissão ( $\Delta E$ ) e valores de TP e CR após 60 dias de imersão em soluções (Tabela 2). A Tabela 3 mostra o teste global e o procedimento de comparações múltiplas para os valores de mudança de cor de transmissão ( $\Delta E$ ), TP e CR. A diferença de dados significa que os valores foram estatisticamente significativos ( $P < 0,001$ ) entre as soluções para ambos os elastômeros, com exceção dos valores médios de TP para o elastômero HCR ( $P \geq 0,05$ ) (Tabelas 2, 3). A maior mudança de cor ( $\Delta E$ ) foi observada em PAL 11% (19,47 para RTV; 6,80 para elastômeros HCR),

seguido por PGL 11% (12,80 para RTV; 3,34 para elastômeros HCR), com diferenças estatisticamente significantes de outras soluções ( $P < .001$ ) (Tabelas 2, 3). Em geral, os valores de  $\Delta E$  de transmissão referentes a PAQ 11% e CHX 2% para ambos os elastômeros; e PGL 11% para o elastômero HCR (Fig. 1, Tabela 2) pode ser considerado imperceptível e aceitável clinicamente de acordo com estudos anteriores.

Entre as soluções brasileiras de extrato de própolis verde, os valores de TP foram menores para o elastômero de RTV imerso em PAQ 11% (50,62), com diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ) (Tabelas 2, 3). No entanto, os valores de TP para RTV foram maiores que H<sub>2</sub>O (52,83) e CHX 2% (52,23) com uma diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ) (Tabelas 2, 3). Não houve diferença estatisticamente significativa nos parâmetros de translucidez do elastômero HCR entre as soluções brasileiras de extrato verde de própolis e H<sub>2</sub>O (Tabela 3). Em relação à opacidade PAL 11% (0,14 para RTV; 0,16 para HCR) e PGL 11% (0,19 para RTV / HCR) afetaram os valores de RC em comparação com H<sub>2</sub>O e CHX 2% (Tabelas 2, 3).

Valores de transmitância em coordenadas polares ( $C^*$  e  $L^*$ ) após 60 dias de imersão em soluções para todos os espécimes foram mostrados na Tabela 4. Os valores das coordenadas  $L^*$  e  $C^*$  dos elastômeros foram afetados por soluções e tipo de elastômero ( $P < 0,001$ ) (Tabela 5). Considerando o elastômero RTV, as soluções brasileiras de extrato verde de própolis apresentaram os menores valores de coordenadas  $L^*$  e os maiores valores de coordenadas  $C^*$ , com diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ) em comparação com H<sub>2</sub>O e CHX 4% (Fig. 2; Tabelas 4, 5). Considerando o elastômero HCR, PAL 11% e PGL 11% apresentaram os menores valores de coordenadas  $L^*$  e os maiores valores de coordenadas  $C^*$ , com diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ) em comparação com H<sub>2</sub>O (Figura 2; Tabelas 4, 5). Os valores da coordenada  $L$  de transmissão (83,60) e  $C^*$  (14,78) do PAQ 11% foram similares ( $P > 0,05$ ) a H<sub>2</sub>O (84,20 a  $L^*$ ; 14,60 a  $C^*$ ) para o elastômero HCR (Fig. 2; Tabelas 4, 5).

As curvas de reflectância espectral (valores médios para cada comprimento de onda) e seu erro padrão de todas as amostras após 60 dias de imersão em soluções foram mostradas na Figura 3. Diferenças foram encontradas, o que significa que as curvas de reflectância espectral são diferentes

( $P < 0,001$ ) (Tabela 6) Observou-se que a reflectância dos elastômeros é dependente do comprimento de onda (Fig. 3). Para ambos os elastômeros em blackgrounds negros, a refletância de H<sub>2</sub>O, CHX 2% e PAQ 11% foi alta nos comprimentos de onda curtos e diminuiu em toda a faixa de comprimento de onda (Fig. 3). Por outro lado, em áreas de fundo branco, a refletância era baixa nos comprimentos de onda curtos e aumentava em toda a faixa de comprimentos de onda (Fig. 3). Considerando o elastômero HCR, H<sub>2</sub>O, CHX 2% e PAQ 11% mostraram curvas de refletância espectral similares (Fig. 3).

As tabelas 4 e 5 mostram a média e os desvios padrão; e teste ANOVA para dureza Shore A para elastômeros maxilofaciais no período de teste. As variáveis de solução e período não afetaram a dureza dos elastômeros ( $P \geq 0,05$ ). Em geral, para elastômeros de RTV, os valores médios de dureza Shore A foram de 30,1 a 30,4 até a linha de base e 30,1 a 30,8 após 60 dias de imersão em soluções. Os elastômeros de HCR mostraram valores médios de dureza Shore A variando de 15,3 a 15,6 até a linha de base e 15,4 a 15,7 após 60 dias de imersão em soluções.

Figura 1. Imagem dos espécimes após 60 dias de imersão nas soluções.

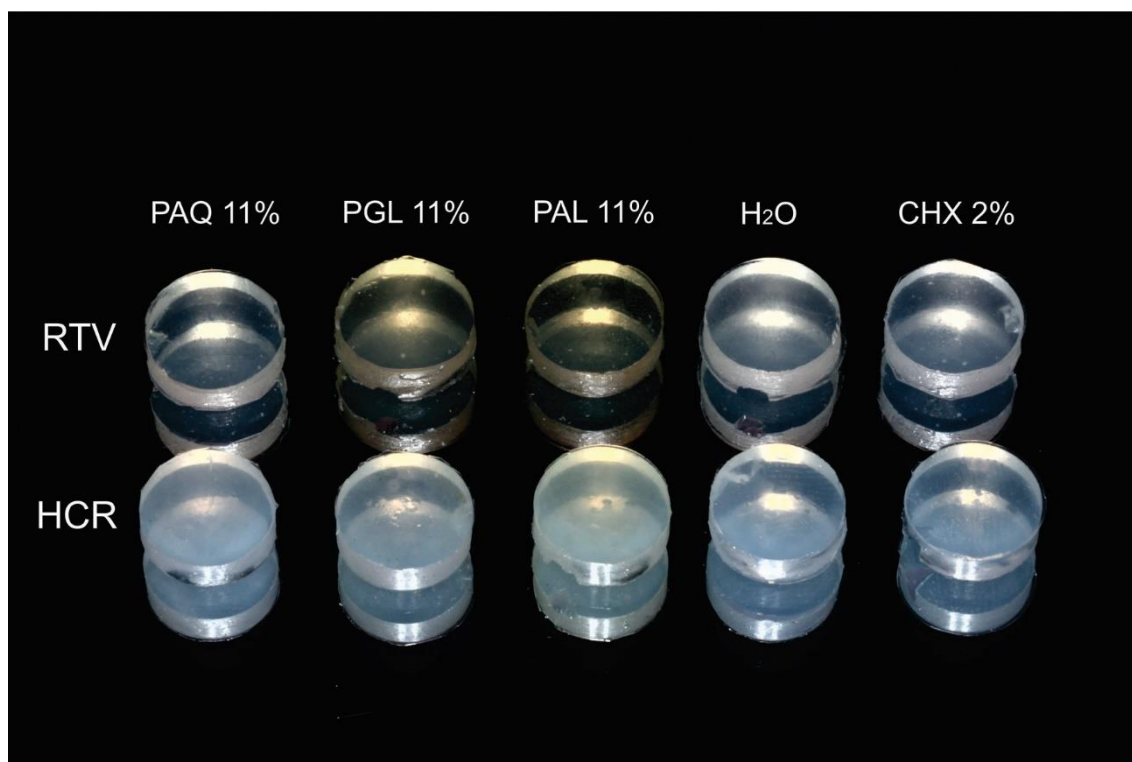




Tabela 2- Valores médios e desvio padrão de alteração de cor de transmitância ( $\Delta E$ ), TP e CR dos espécimes após 60 dias de imersão nas soluções do estudo.

Elastomer	RTV			HCR		
	$\Delta E$	TP	CR	$\Delta E$	TP	CR
PAQ 11%	2.90 $\pm$ 0.49c	50.62 $\pm$ 1.87b	0.11 $\pm$ 0.01c	1.59 $\pm$ 0.59c	46.01 $\pm$ 2.1a	0.18 $\pm$ 0.02a,b
PGL 11%	12.80 $\pm$ 0.82b	48.57 $\pm$ 0.75c	0.14 $\pm$ 0.01b	3.34 $\pm$ 0.81b	45.95 $\pm$ 3.01a	0.19 $\pm$ 0.03a
PAL 11%	19.47 $\pm$ 0.89a	48.48 $\pm$ 0.84c	0.16 $\pm$ 0.01a	6.80 $\pm$ 1.53a	47.10 $\pm$ 2.86a	0.19 $\pm$ 0.03a
H <sub>2</sub> O	1.40 $\pm$ 0.65d	52.83 $\pm$ 1.01a	0.10 $\pm$ 0.01c	1.47 $\pm$ 0.84c	47.45 $\pm$ 1.46a	0.17 $\pm$ 0.01b,c
CHX 2%	1.83 $\pm$ 0.67d	52.23 $\pm$ 1.11a	0.11 $\pm$ 0.01c	1.76 $\pm$ 0.63c	47.88 $\pm$ 1.46a	0.15 $\pm$ 0.01c

Tabela 3. NPMANOVA dos valores de alteração de cor de transmitância ( $\Delta E$ ), TP e CR dos espécimes, após 60 dias de imersão nas soluções de acordo com o tipo de elastômero.

Elastômeros	$\Delta E$				TP				CR			
	Test Statistic	df1	df2	P	Test Statistic	df1	df2	P-value	Test Statistic	df1	df2	P
<b>RTV</b>												
ANOVA type test P-value	95.576	4.000	45	< 0.001	27.555	4.000	45	< 0.001	51.422	4.000	45	< 0.001
McKeon approx. for the Lawley Hotelling Test	95.576	4.000	45	< 0.001	27.555	4.000	45	< 0.001	51.422	4.000	45	< 0.001
Muller approx. for the Bartlett-Nanda-Pillai Test	93.665	4.082	45	< 0.001	27.004	4.082	45	< 0.001	50.393	4.082	45	< 0.001
Wilks' Lambda	95.576	4.000	45	< 0.001	27.555	4.000	45	< 0.001	51.422	4.000	45	< 0.001
<b>HCR</b>												
ANOVA type test p-value	33.121	4.000	45	< 0.001	2.572	4.000	45	0.050	8.776	4.000	45	< 0.001
McKeon approx. for the Lawley Hotelling Test	33.121	4.000	45	< 0.001	2.572	4.000	45	0.050	8.776	4.000	45	< 0.001
Muller approx. for the Bartlett-Nanda-Pillai Test	33.458	4.082	45	< 0.001	2.521	4.082	45	0.053	8.600	4.082	45	< 0.001
Wilks' Lambda	33.121	4.000	45	< 0.001	2.572	4.000	45	0.050	8.776	4.000	45	< 0.001

Figura 2. Distribuição de cor dos valores médios de transmitância em coordenadas ( $C^*$  and  $L^*$ ) dos espécimes após 60 dias de imersão nas soluções de acordo com o tipo de elastômero.

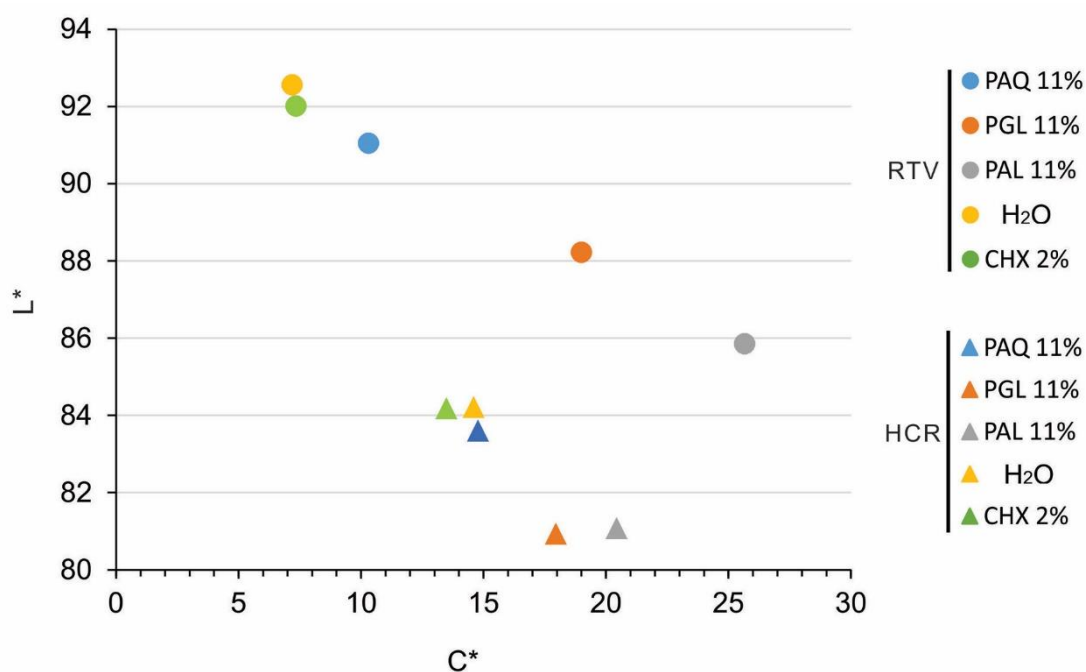


Figura 3. Valores médios (linhas horizontais) e erro padrão (linhas verticais) de refletância espectral dos espécimes, após 60 dias de imersão nas soluções propostas. A, elastômero RTV mensurado em fundo pretos. B elastômero HCR mensurado em fundo preto. C, elastômero RTV mensurado em fundo branco. D, elastômero HCR mensurado em fundo branco.

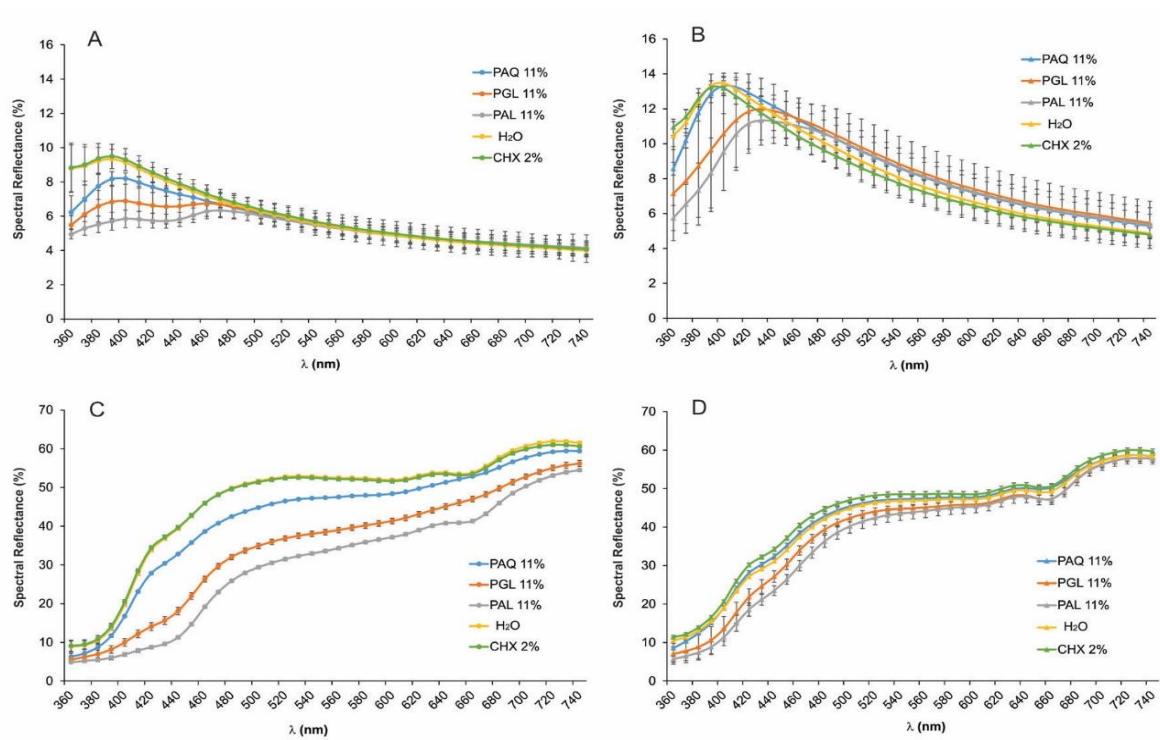


Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores de transmitância em coordenadas ( $C^*$  e  $L^*$ ) depois de 60 dias de imersão em solução para todos espécimes.

Elastomer	RTV		HCR	
	$L^*$	$C^*$	$L^*$	$C^*$
PAQ 11%	91.04 ± 0.40 <sup>b</sup>	10.32 ± 0.27 <sup>c</sup>	83.60 ± 1.36 <sup>a</sup>	14.78 ± 0.67 <sup>c</sup>
PGL 11%	88.22 ± 1.09 <sup>c</sup>	19.01 ± 0.99 <sup>b</sup>	80.92 ± 1.60 <sup>b</sup>	17.96 ± 2.54 <sup>b</sup>
PAL 11%	85.85 ± 0.66 <sup>d</sup>	25.67 ± 0.64 <sup>a</sup>	81.07 ± 2.93 <sup>a,b</sup>	20.44 ± 0.93 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	92.55 ± 0.56 <sup>a</sup>	07.20 ± 0.30 <sup>d</sup>	84.20 ± 0.59 <sup>a</sup>	14.60 ± 0.85 <sup>c</sup>
CHX 2%	92.01 ± 0.69 <sup>a</sup>	07.36 ± 0.40 <sup>d</sup>	84.18 ± 1.13 <sup>a</sup>	13.48 ± 0.20 <sup>d</sup>

Tabela 5. NPMANOVA dos valores de refletância espectral dos espécimes após 60 dias de imersões nas soluções com as mensurações de cor em fundos preto e branco, de acordo com o tipo de elastômero.

Elastômeros	Black background				White background			
	<i>df</i>	Sum of Squares	F	<i>P</i>	<i>Df</i>	Sum of Squares	F	<i>P</i>
<b>RTV</b>								
Immersion solutions	4	0.056818	46.119	< 0.001	4	0.34553	302.54	< 0.001
Residual	45	0.013860		< 0.001	45	0.01285		< 0.001
<b>HCR</b>								
Immersion solutions	4	0.062462	6.0539	< 0.001	4	0.032138	13.254	< 0.001
Residual	45	0.116074		< 0.001	45	0.027279		< 0.001

## 5 DISCUSSÃO

Os usuários de prótese facial devem manter a saúde do tecido que se comunica com a prótese. É de extrema importância a realização de procedimentos periódicos de desinfecção dos dispositivos protéticos, a fim de evitar a colonização por microrganismos oportunistas Beumer *et al.* (1979) e Pinheiro *et al.* (2018), e ocorrências de dermatite bacteriana e endoftalmite. No entanto, ressalta-se atenção para possíveis alterações na estética da prótese que interfiram na mimetização da aparência natural do indivíduo reabilitado Paravina *et al.* (2009). Este estudo apresentou valores de mudança de cor e de coordenadas de cor; parâmetros de cor de reflectância e comportamento de reflectância espectral de acordo com a distribuição do comprimento de onda de dois elastômeros maxilofaciais submetidos a período de imersão em diferentes soluções. A hipótese nula de que 60 dias de imersão em soluções brasileiras de extrato de própolis verde 11%, solução controle de água destilada e clorexidina 2% não afetariam os parâmetros ópticos de dois elastômeros maxilofaciais foi rejeitada. Este estudo apresentou mudanças na cor da transmissão e coordenadas de cores; e alterações do TP e RC, bem como comportamento de reflectância espectral diferente por imersão em soluções para ambos os elastômeros maxilofaciais analisados.

Observou-se que os valores de mudança de cor da transmitância são maiores que o limite de aceitabilidade em amostras imersas em PAL 11% de ambos elastômeros, e PGL 11% de elastômero RTV. (Fig. 1, Tabela 2-3). No entanto, pode-se considerar que o PAQ 11% apresentou limiar clinicamente imperceptível e aceitável para ambos os elastômeros (fig. 1, tabela 2). É conhecido que a própolis bruta contém substâncias solúveis em óleo ou em água, e também solúveis nestes dois solventes Kubiliene *et al.* (2015). A maioria dos componentes da própolis é solúvel em óleo, por isso, o método de extração de própolis mais utilizado, emprega o álcool etílico hidratado como solvente Kubiliene *et al.* (2015) e Sforcin *et al.* (2016). Neste estudo a pigmentação e alteração nos parâmetros de cor dos elastômeros em PAL 11% e PGL 11% (Figs. 1-2; Tables 2-5) pode estar relacionado a polaridade do extrato e dos maxillofaciais elastômeros. Pois o etanol como solvente permite a extração seletiva de alguns componentes do extrato diretamente relacionados a atividades biológicas Huang *et al.* (2014), entretanto o extrato alcoólico pode apresentar contraindicações aos indivíduos Kubiliene *et al.* (2015). Entre os componentes residuais das soluções de extrato de própolis avaliadas as ceras e clorofila apresentam corantes que potencialmente podem ter ocasionado pigmentação extrínseca na superfície do elastômero alterando o padrão cromático, translucência e opacidade. É conhecido que a própolis é uma substância de coloração e consistência variada, composta basicamente de resinas e bálsamos (55%), cera (30%), óleos voláteis (10%) e pólen (5%), que formam uma substância complexa, heterogênea, com variação de elementos químicos, componentes e suas concentrações Huang *et al.* (2014). Dependendo da região botânica visitada pela abelha Santos *et al.* (2005) e Sforcin *et al.* (2016), por exemplo, existe a própolis esverdeada como a que foi avaliada neste estudo, oriunda da espécie vegetal alecrim *Baccharis dracunculifolia* visitada pelas abelhas. Estudos semelhantes de elastômeros imersos em soluções de extrato de própolis não foram encontrados na literatura para comparação dos resultados. Entretanto, estudo realizado por Heidrich *et al.* (2018) e Heldrich *et al.* (2018) demonstrou que a cor de um polímero acrílico de uso em próteses totais foi alterada quando exposto ao própolis glicólico durante um ano.

Os resultados mostraram que os valores de  $\Delta E$  transmitidos referentes ao PAQ 11% e PGL 11% ao elastômero HCR (Fig. 1, Tabela 2) podem ser

considerados imperceptíveis e aceitáveis clinicamente de acordo com estudos anteriores. Foi notado também durante o desafio dos procedimentos de imersão quanto ao uso PAL 11% devido a viscosidade desta solução comparado a outras soluções de extrato de própolis. Durante a extração do própolis o aumento de temperatura reduz a viscosidade de uma solução e aumenta a sua difusividade através da camada gel e da própria membrana Santos *et al.* (2005) e Kubiliene *et al.* (2015). O efeito da temperatura no processamento de um extrato de própolis aquoso leva ao aumento no fluxo de permeado, e redução da viscosidade da solução. Portanto soluções PAQ 11% apresentam-se menos viscosas comparadas a PAL 11% and PGL 11%. Pode-se supor que a aderência de substâncias pelo PAL 11% aos elastômeros, seja devido a relação de energia de superfície Anusavice *et al.* (2012) entre ambos (Fig. 1). Este fato pode ser um desafio para procedimentos de desinfecção, pois pode afetar as propriedades estéticas do elastômero Heldrich *et al.* (2018).

Os valores da coordenada  $L^*$  e  $C^*$  da transmitância do PAQ 11% foram similares aos do elastômero HCR (Fig. 2; Tabelas 4, 5). Além disso, os parâmetros de translucidez do elastômero HCR foram similares entre as soluções de extrato de própolis verde e H<sub>2</sub>O (Tabelas 2-3). No entanto, entre as soluções brasileiras de extrato de própolis verde, os valores de TP mostraram diferença para os elastômeros de RTV (Tabelas 2-3). Diferentes resultados para as mesmas soluções entre os elastômeros analisados, pode estar relacionado a contração de polimerização contínua, que se inicia durante a polimerização e continua mesmo após a polimerização clínica Dos Santos *et al.* (2012). Entende-se que durante a polimerização de um RTV elastômero, ocorre a formação de um subproduto volátil, o formaldeído. A evaporação subsequente deste produto pode ser provavelmente responsável pela contração, como ocorre em RTV elastômeros após a polimerização contínua ou residual Han Y *et al.* (2013) e Nguyen *et al.* (2013). Acredita-se que possivelmente a polimerização adicional do RTV elastômero pode influenciar a absorção e solubilidade de resíduos das soluções PAL 11% e PGL 11% alterando o meio óptico de sua matriz polimérica. Em relação à opacidade, PAL 11% e PGL 11% para ambos os elastômeros afetaram os valores de RC em comparação com H<sub>2</sub>O e CHX 2% (Tabelas 2, 3). É importante ressaltar que o espalhamento da luz visível através do elastômero pode comprometer as características ópticas<sup>6,9</sup> nos contornos da prótese. As

diferenças nas regiões cristalina e amorfa entre os elastômeros pode também estar relacionada as suas diferenças de opacidades<sup>9</sup> (Fig. 1).

Entende-se como refletância, a capacidade de absorver e refletir espectros de luz de cada objeto, sendo esse parâmetro como um indicador de opacidade e translucidez<sup>8,13,27,28</sup>. Considerando o elastômero HCR em backgrounds pretos, H<sub>2</sub>O, CHX 2% e PAQ 11% mostraram curvas de refletância espectral semelhantes. No entanto, houve diferença de curvas de refletância espectral entre as soluções brasileiras de extrato de própolis verde e H<sub>2</sub>O (Fig. 3, Tabela 6). É importante salientar que a leitura de cor em anteparos branco e preto diferencia a observação do comportamento de refletância dos elastômeros, simulando as regiões protéticas em contato com a luminosidade e áreas que apresentam maior ou menor contato com a luz<sup>27</sup>. Em geral, em backgrounds brancos para ambos os elastômeros, observou-se que a refletância mostrou menor para comprimentos de onda curtos e aumenta à medida que o comprimento de onda aumenta (Fig. 3, Tabela 6). Incluindo ambos os elastômeros imersos em PAQ 11%, verificam-se os maiores valores de refletância espectral (Fig. 3), resultando em maior valor de transmissão  $L^*$  e menos saturação com menor valor de transmitância  $C^*$ , comparativamente como outras soluções de extrato de própolis (Fig. 2, Tabela 5). A reflexão específica dos espécimes após o período de imersão nas soluções mostrou-se diferente, mas também o seu brilho e a opacidade para ambos os elastômeros (Fig. 3, Tabelas). 2,4).

Neste contexto, o PAQ 11% e o PGL 11% avaliaram este número de estudos para serem submetidos ao tratamento periódico de desinformação. No entanto, o presente estudo teve algumas limitações. O período de desinfecção experimental pode ser diferente do período naturalmente escolhido pela prótese maxilofacial do usuário. Não houve análise de cores dos espécimes pigmentados<sup>15,16</sup>. Além disso, é importante investigar a resistência à tração e ao rasgo; e propriedades elastoméricas de alongamento para evitar prejuízos nas contornos do contorno e da prótese. Análises de diferentes concentrações e do processo de extrato de própolis da própolis são interessantes para o entendimento de pigmentos potencialmente coloridos.

## 6 CONCLUSÕES

- (1) Os elastômeros HCR tratados com PAQ 11% e PGL 11% apresentaram valores de alteração cor clinicamente aceitáveis e imperceptíveis.
- (2) Os elastômeros RTV tratados com PAL 11% e PGL 11% apresentaram valores de alteração cor clinicamente inaceitáveis e perceptíveis. Além disso, houve maiores alteração nos parâmetros de translucência e opacidade em relação ao controle.
- (3) Ambos os elastômeros tratados com PAQ 11% e CHX 2% apresentaram propriedades de cor semelhante ao controle.



## REFERÊNCIAS

1. Elhelow KM, Al-Thobaiti YE, Gomawi AA. The prosthetic rehabilitation of a patient with a lateral postsurgical defect using a 2-piece magnet-retained facial prosthesis: A clinical report. *J Prosthet Dent* 2017 pii: S0022-3913(17)30416-X.
2. Beumer J III, Ma T, Marunick M, et al: Restoration of facial defects: etiology, disability, and rehabilitation. In Beumer J III, Curtis TA, Marunick MT (eds): *Maxillofacial Rehabilitation: Prosthodontic and Surgical Considerations*. 1979
3. Han Y, Powers JM, Kiat-Amnuay S. Effect of opacifiers and UV absorbers on pigmented maxillofacial silicone elastomer, part 1: color stability after artificial aging. *J Prosthet Dent* 2013; 109:397-401.
4. Nguyen CT, Chambers MS, Powers JM, Kiat-Amnuay S. Effect of opacifiers and UV absorbers on pigmented maxillofacial silicone elastomer, part 2: mechanical properties after artificial aging. *J Prosthet Dent* 2013; 109:402-10.
5. dos Santos DM, Goiato MC, Moreno A, Pesqueira AA, Dekon SFC, Guiotti AM. Effect of addition of pigments and opacifier on the hardness, absorption, solubility and surface degradation of facial silicone after artificial ageing. *Polym Degrad Stab* 2012; 97:1249-53.
6. Lewis DH, Castleberry DJ. An assessment of recent advances in external maxillofacial materials. *J Prosthet Dent* 1980; 43:426-32.

7. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Phillips' science of dental materials. 12th ed. St. Louis: Elsevier; 2012. p. 38.
8. Nogueira AD, Della Bona A. The effect of a coupling medium on color and translucency of CAD-CAM ceramics. *J Dent* 2013; 41:e18-23.
9. Johnston WM1, Ma T, Kienle BH. Translucency parameter of colorants for maxillofacial prostheses. *Int J Prosthodont* 1995; 8:79-86.
10. Hu X, Johnston WM, Seghi RR. Measuring the color of maxillofacial prosthetic material. *J Dent Res* 2010; 89(12):1522-7.
11. Gozalo-Diaz DJ, Lindsey DT, Johnston WM, Wee AG. Measurement of color for craniofacial structures using a 45/0-degree optical configuration. *J Prosthet Dent* 2007; 97:45-53.
12. Brewer JD, Wee A, Seghi R. Advances in color matching. *Dent Clin North Am* 2004;48:341-58.
13. Li Q, Yu H, Wang YN. Spectrophotometric evaluation of the optical influence of core build-up composites on all-ceramic materials. *Dent Mater* 2009;25:158-65.
14. Paravina RD, Majkic G, Del Mar Perez M, Kiat-Amnuay S. Color difference thresholds of maxillofacial skin replications. *J Prosthodont* 2009; 18:618-25.
15. Giotti AM, Goiato MC, Dos Santos DM, Vechiato-Filho AJ, Cunha BG, Paulini MB, et al. Comparison of conventional and plant-extract disinfectant solutions on the hardness and color stability of a maxillofacial elastomer after artificial aging. *J Prosthet Dent* 2016; 115:501-8.
16. Filié Haddad M, Coelho Goiato M, Micheline Dos Santos D, Moreno A, Filipe D'almeida N, Alves Pesqueira A. Color stability of maxillofacial silicone with

nanoparticle pigment and opacifier submitted to disinfection and artificial aging. *J Biomed Opt* 2011; 16:095004.

17. Pinheiro JB, Vomero MP, do Nascimento C, Watanabe E, Paranhos HFO, Coto NP, Dias RB, Oliveira VC, Silva-Lovato CH. Genomic identification of microbial species adhering to maxillofacial prostheses and susceptibility to different hygiene protocols. *Biofouling* 2018; 34:15-25.

18. Heidrich D, Fortes CBB, Mallmann AT, Vargas CM, Arndt PB, Scroferneker ML. Rosemary, Castor Oils, and Propolis Extract: Activity Against *Candida Albicans* and Alterations on Properties of Dental Acrylic Resins. *J Prosthodont* 2018

19. Farnesi AP, Aquino-Ferreira R, De Jong D, Bastos JK, Soares AE. Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. *Genet Mol Res* 2009; 8:635-40.

20. Santos VR, Pimenta FJ, Aguiar MC, do Carmo MA, Naves MD, Mesquita RA. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phytother Res* 2005; 19:652-4.

21. Kubiliene L, Laugaliene V, Pavilionis A, Maruska A, Majiene D, Barcauskaite K, Kubilius R, Kasparaviciene G, Savickas A. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complement Altern Med* 2015; 15:156.

22. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* 2014; 19:19610-32.

23. Sforcin JM. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytotherapy Research* 2016; 30:894-905.

24. de Oliveira FM, Salazar-Gamarra R, Ohman D, Nannmark U, Pecorari V, Dib LL. Quality of life assessment of patients utilizing orbital implant-supported prostheses. *Clin Implant Dent Relat Res* 2018.
25. Moon A, Powers JM, Kiat-Amnuay S. Color stability of denture teeth and acrylic base resin subjected daily to various consumer cleansers. *J Esthet Restor Dent* 2014; 26:247-55.
26. Commission Internationale de l'Eclairage. CIE Technical Report: Colorimetry. CIE Pub No. 15.3. Vienna, Austria: CIE Central Bureau; 2004.
27. Johnston WM, Hesse NS, Davis BK, Seghi RR. Analysis of edge-losses in reflectance measurements of pigmented maxillofacial elastomer. *J Dent Res* 1996; 75:752-60.
28. Della Bona A, Pecho OE, Ghinea R, Cardona JC, Pérez MM. Colour parameters and shade correspondence of CAD-CAM ceramic systems. *J Dent* 2015; 43:726-34.
29. ASTM International. ASTM D2240-05:2010 Standard test method for rubber property - durometer hardness. West Conshohocken: ASTM International; 2010. Available at: <http://www.astm.org/Standards/D2240.htm>. Last accessed February 23, 2018.
30. R Core Team. R. A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria. 2015 Available at: <http://www.R-project.org/>. Last accessed February 23, 2018.
31. Burchett W, Ellis A nrmv: Nonparametric Comparison of Multivariate Samples. R package version 2.4.0. 2017 Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=nrmv>. Last accessed February 23, 2018.

32. Marcus R, Peritz E, Gabriel KR “On Closed Test Procedures with Special Reference to Ordered Analysis of Variance.” 1976; *Biometrika* 63:655-660.
33. Sonnemann E. General Solutions to Multiple Testing Problems. *Biometrical Journal* 2008; 50:641-656.
34. Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H. Community Ecology Package. R package version 2.4-6. 2009 Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>. Last accessed February 23, 2018.

## APÊNDICE

### Materiais e equipamentos utilizados no estudo

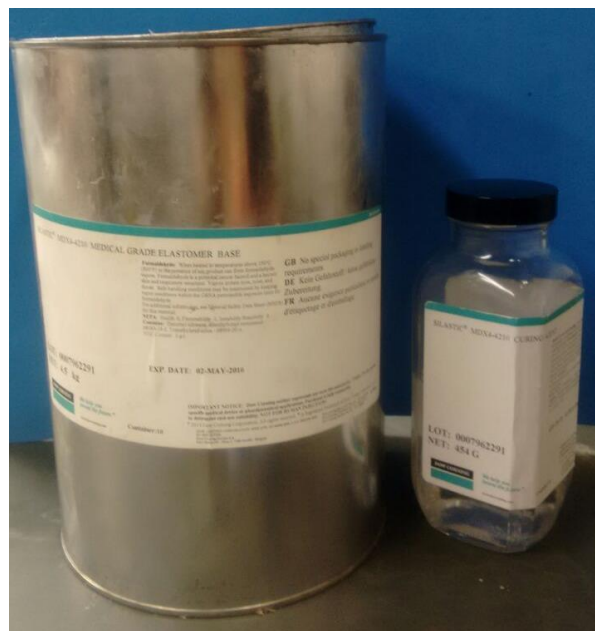


Figura 4 – Elastômero de Silicone Facial-RTV (MDX 4-4210; Factor II, EUA)

FONTE: Arquivo Pessoal



Figura 5 – Elastômero de Silicone Facial-HCR (MED-4014; Nusil)

FONTE: Arquivo Pessoal



Figura 6 – Soluções de extrato de própolis verde Brasileiro (Green Propolis; Bee Própolis)

FONTE: Arquivo Pessoal



Figura 7 – Procedimento de desinfecção dos espécimes durante 60 dias por imersão nas soluções propostas no estudo.

FONTE: Arquivo Pessoal



Figura 8 – Espectrofotômetro de luz ultravioleta visível (CM-3700D; Konica Minolta) utilizado para medição dos parâmetros de cor dos espécimes.

FONTE: Arquivo Pessoal



Figura 9 – Acoplante líquido utilizado entre o fundo de leitura do anteparo e o espécime.

FONTE: Arquivo Pessoal