

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Geraldo Sávio Almeida Holanda

**INFLUÊNCIA DE PIGMENTOS NAS PROPRIEDADES DE UM SILICONE PARA
PRÓTESE FACIAL SUBMETIDO AO ENVELHECIMENTO**

Campina Grande – PB
2016

Geraldo Sávio Almeida Holanda

**INFLUÊNCIA DE PIGMENTOS NAS PROPRIEDADES DE UM SILICONE PARA
PRÓTESE FACIAL SUBMETIDO AO ENVELHECIMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação de Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Laura Hecker de Carvalho
Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande – PB
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- H722i Holanda, Geraldo Sávio Almeida.
Influência de pigmentos nas propriedades de um silicone para prótese facial submetido ao envelhecimento / Geraldo Sávio Almeida Holanda. – Campina Grande, 2016.
194 f. : il. color.
- Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro Ciências e Tecnologia, 2016.
"Orientação: Prof^a. Dr^a. Laura Hecker de Carvalho, Prof. Dr. Marcos Vinícius Lia Fook".
Referências.
1. Silicone - Propriedades - Degradação. 2. Elastômeros de Silicone. 3. Prótese Bucomaxilofacial. 4. Pigmentação. 5. Envelhecimento Acelerado. I. Carvalho, Laura Hecker de. II. Lia Fook, Marcos Vinícius. III. Título.

CDU 620.17(043)

VITAE DO CANDIDATO

- Graduação em Odontologia pela UFPB (1992).
- Especialização em Prótese Dentária pela USP-Bauru/SP (1994).
- Especialização em Periodontia pela UFRN (1996).
- Especialização em Implantodontia pelo SINDODONTO (2010).
- Mestre em Odontologia pela UNP (2010).
- Professor do Curso Técnico em Prótese Dentária da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal da Paraíba-CCS/ETS/UFPB (2010-Atual).
- Membro do Serviço de Reabilitação Bucomaxilofacial do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (2011-Atual).
- Membro do Conselho Científico da revista PROSTHESIS IN SCIENCE - Publicação Trimestral da: EDITORA PLENA LTDA. Prothes. Lab. Sci. Qualis - Capes B4-Odontologia - ISSN 2237-0439 - CDD - 617-69
www.editoraplena.com.br (2012-Atual).

GERALDO SÁVIO ALMEIDA HOLANDA

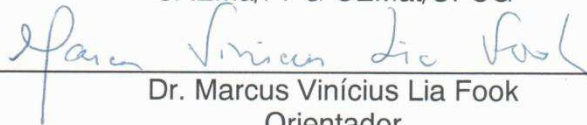
INFLUÊNCIA DE PIGMENTOS NAS PROPRIEDADES DE UM SILICONE PARA
PRÓTESE FACIAL SUBMETIDO AO ENVELHECIMENTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

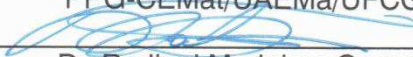
Aprovado em: 15/02/2016



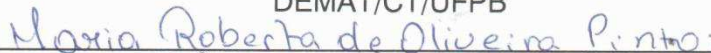
Dr.^a Laura Hecker de Carvalho
Orientadora
UAEMA/PPG-CEMat/UFCG



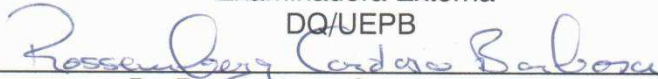
Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



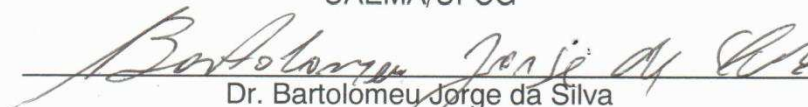
Dr. Rodinei Medeiros Gomes
Examinador Externo
DEMAT/CT/UFPB



Dr.^a Maria Roberta de Oliveira Pinto
Examinadora Externa
DQ/UEPB



Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa
Examinador Externo
UAEMA/UFCG



Dr. Bartolomeu Jorge da Silva
Examinador Externo
UAEMA/UFCG

A Deus,
Inesgotável fonte de inspiração e
sabedoria.

Aos meus pais, Diógenes Rodrigues de
Holanda e Maria Almeida Holanda (*in
memorian*), a vocês, que sempre me
ofereceram apoio incondicional. Foram
vocês que me ensinaram o que é o amor
verdadeiro, que protege nos momentos
difíceis, conforta nos insucessos e
comemora nas vitórias.

A minha família, por todo amor e carinho e
por entenderem minha ausência e
continuarem me apoiando, mesmo à
distância, sempre com a esperança que o
tempo proporcione melhores momentos
no futuro.

Aos pacientes, fonte de tanta busca e de
tanto aprendizado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a todos que tornaram possível esta vitória, em particular:

À minha orientadora Dr^a. Laura Hecker de Carvalho pela orientação, pela sua competência, disponibilidade, confiança, atenção e ajuda incondicionais na realização deste trabalho. Ao coorientador, Dr. Marcus Vinicius Lia Fook (CERTBIO) pelos encaminhamentos e colaborações técnicas e teóricas, e também pelo apoio dispensado.

A Professora. Dr^a. Maria Roberta Oliveira Pinto do CERTBIO, pelo imenso auxílio na realização da parte experimental (Ensaios de citotoxicidade e biodegradação). Uma pessoa sempre disposta a nos ensinar. Obrigada pelos ensinamentos proporcionados. Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da UFCG, pelos conhecimentos e ensinamentos passados.

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) por me proporcionar esta oportunidade.

A Escola Técnica de Saúde da UFPB- Curso Técnico em Prótese Dentária, por tornar possível minha evolução pessoal e profissional.

A Professora Cacilda Chaves (ETS/CCS-UFPB), pela ajuda, dedicação, trocas de experiência, apoio e incentivos.

Ao Dr. Rômulo Charles, minha gratidão pelo apoio e ensaios realizados.

Ao Laboratório de Caracterização de Materiais (LCM) da UFCG e ao CERTBIO pelo carinho e confiança em meu trabalho.

Ao Dr. Camilo Flamarion de Oliveira Franco, pela amizade e auxílio na aquisição das amostras de bixina.

CHR- Hansen Indústria e Comércio Ltda – Valinhos/SP, pela doação das amostras dos pigmentos d da *Bixa orellana* L.

A todos os funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais pela paciência e dedicação.

Ao CERTBIO, pela realização das análises de TGA, FTIR, MO e MEV, pelo apoio e orientação no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O Silastic® MDX4-4210 é um dos materiais mais utilizados no mundo na confecção de próteses faciais devido às suas propriedades, contudo, ele apresenta algumas limitações, notadamente a que reduz o tempo de vida útil destas. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de pigmentos nas propriedades de um silicone para prótese facial submetido ao envelhecimento acelerado. Foram confeccionados 288 corpos de provas e divididos em três grupos: o Grupo Controle (GC) constituído por amostras do silicone Silastic® MDX4-4210 sem acréscimos de pigmento e os grupos experimentais G1 e G2. O Grupo 1 (G1), formado por amostras do silicone Silastic® MDX4-4210, pigmento com pó de maquiagem e, o Grupo 2 (G2), constituído por amostras de silicone com a incorporação da solução do pigmento de Urucum-Bixina (Bixa orellana L). Cada grupo foi constituído de 24 corpos de prova, sendo 09 unidades destinadas às caracterizações e 15 unidades aos ensaios mecânicos. Setenta e dois corpos de prova foram selecionados para serem avaliados antes do envelhecimento acelerado. Os 216 corpos de prova restantes, foram submetidos ao envelhecimento acelerado por exposição a ciclos de Ultravioleta, Temperatura e Umidade (UV/T/U) nos tempos de 120, 240 e 1000 horas. As amostras foram caracterizadas por meio de análise por Microscopia Ótica, Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, Termogravimetria e os ensaios de Citotoxicidade, Sorção e Biodegradação Enzimática. Foram realizados os ensaios mecânicos (dureza Shore A, resistência ao rasgamento e à tração, módulo de elasticidade e alongamento a ruptura). Os dados obtidos foram analisados e obtidas as medidas estatísticas: média; mediana; desvio padrão. Os dados mostraram que não foram observadas mudanças significativas na cor ou textura em diferentes períodos de envelhecimento acelerado. Em geral, o material tornou-se mais resistente, mais duro, mais rígido e menos dúctil, conforme foi envelhecido, mas manteve uma deformação percentual superior a 100-120%. Apesar das alterações causadas pelo envelhecimento em suas propriedades mecânicas, o material envelhecido permaneceu suficientemente flexível e adequado para a aplicação proposta. Não houve diferença significativa entre as propriedades dos materiais pigmentados com maquiagem ou bixina.

Palavras-chave: Degradação. Elastômeros de silicone. Prótese bucomaxilofacial. Pigmentação. Envelhecimento acelerado.

ABSTRACT

Silastic® MDX4-4210 is one of materials most widely used in the world for facial prosthesis due to its properties, however, it has some limitations, that reduce its lifespan. The aim of this study is to evaluate the influence of pigments in the properties of a silicone for facial prosthesis subjected to accelerated aging. 288 samples were manufactured and divided in three groups: the control group (CG) consisting of Silastic® MDX4-4210 silicon samples without pigment and experimental groups G1 and G2. Group 1 (G1), consisted of Silastic® MDX4-4210 silicone samples, with makeup pigment powder and Group 2 (G2) consisting of silicone samples with the addition of a solution of Bixin (Bixa orellana L). Each group consisted of 24 specimens: 09 units for the characterizations and 15 units for mechanical tests. Seventy-two specimens were selected for further evaluation prior to accelerated aging. The 216 remaining specimens were subjected to accelerated aging by exposure to UV, temperature and humidity cycles (UV/T/U) for 120, 240 and 1000 hours. The samples were characterized by optical microscopy, scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, thermogravimetry, Cytotoxicity assays, Sorption and Enzyme Biodegradation. Mechanical tests were also performed (Shore A hardness, tear resistance and tensile strength, elastic modulus and elongation to break). Data were analyzed and average, mean, median and standard deviation values were obtained. The data showed that no significant changes were observed in the color or texture in different periods of accelerated aging. In general, the material became tougher, stiffer, more rigid and less ductile, with aging but maintained a percentage deformation exceeding 100-120%. Despite the changes caused by aging changes the mechanical properties of the aged material remained suitable for the proposed application. There were no significant differences in the properties of the materials pigmented with either makeup or bixin.

Keywords: Degradation. Silicone elastomers. Maxillofacial prosthesis. Pigmentation. Accelerated aging.

PUBLICAÇÕES

Congressos:

HOLANDA, G.S.A.; LIMA, C.C.M.; FERNANDES, M.R.C.C.; NETO, D.R.H.; CARVALHO, L.H. Polymerization of facial prosthesis in resin acrylic after extrinsic pigment. In: International Congress Maxillofacial Rehabilitation and the International Society for Maxillofacial Rehabilitation. **Anais**. Santa Ana Pueblo, NM-USA. October, 2013.

LIMA, C.C.M.; HOLANDA, G.S.A.; ALFENAS, E.; BÓS, J.A.G.; LIMA, L. Vitiligo-like characterization of nasal prosthesis for elder patient. **In:** International Congress Maxillofacial Rehabilitation and the International Society for Maxillofacial Rehabilitation. **Anais**. Santa Ana Pueblo, NM-USA. October, 2001)3.

HOLANDA, G.S.A.; LIMA, C.C.M.; BÓS, J.A.G. Reabilitação anaplástica da face para idosos portadores de mutilações faciais: etapas clínicas e laboratoriais **In:** 21º COPEO- Congresso Pernambucano de Odontologia-ABO/PE. Tema Livre. Olinda-PE. Abril, 2012.

HOLANDA, G.S.A. Modelagem de prótese nasal para pacientes mutilados pela técnica da moldagem. **In:** VI Congresso Paraibano de Odontologia-ABO/PB. Painel. João Pessoa-PB. Agosto, 2011.

HOLANDA NETO, D.R.; PAIVA NETO, L.A.; CAMÊLO, M.S.; LIMA, C.C.M.; NAVARRO, R.C.; HOLANDA, G.S.A. Reabilitação facial de idosos oncológicos: atenção multidisciplinar do serviço de odontologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley. **In:** II Encontro Paraibano de Iniciação Científica em Odontologia e XX Mostra de Iniciação Científica em Odontologia. Prêmio de Menção Honrosa pela importância científica do painel apresentado pelo orientando Diógenes Rodrigues de Holanda Neto. João Pessoa-PB. Maio, 2012.

HOLANDA NETO, D.R.; LIMA, C.C.M.; HOLANDA, G.S.A.; NAVARRO, R.C.; FERNANDES, M.R.C.C.; CARVALHO, I.H.S. Reabilitação bucomaxilofacial: comunicação oral e integração social do idoso. **In:** XXI Mostra de Iniciação Científica em Odontologia. APESB-UFPB. João Pessoa-PB. Novembro, 2012.

HOLANDA, G.S.A. Saúde bucal do idoso: reabilitação e reintegração social. **In:** I Simpósio multidisciplinar de laserterapia, oncologia pediátrica e envelhecimento humano. Hospital Universitário Alcides Carneiro- Universidade Federal de Campina Grande-PRAC-PROPEX- ParqTcPB. Palestra. Campina Grande-PB. Setembro, 2012.

HOLANDA, G.S.A.; RAIMUNDO, J.B.; Desenvolvimento de uma escala cromática em resina acrílica caracterizada com pigmentos de maquiagem para as etnias branca, parda e negra. In: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para Ensino Médio-PIBIC-EM/CNPq/UFPB. Projeto de Pesquisa. João Pessoa-PB. Janeiro, 2012.

LIMA, L.C.M., LIMA, C.C.M., HOLANDA, G.S.A.; GOMES, D.Q.C. Perfil epidemiológico das deformidades bucomaxilofaciais de origem oncológica na cidade de João Pessoa/Pb. In: XVI Reunião da Sociedade Nordeste-Norte de Pesquisa Odontológica (SNNPQO). Apresentação Oral. Natal/RN – 12 a 14 de Novembro de 2015.

Periódicos:

LIMA, C.C.M.; HOLANDA, G.S.A.; NAVARRO, R.C. Reabilitação protética da face: a quem recorrer. Rev. Ass. Méd. Paraíba. n. 09 – Ano II; p. 33-35; Maio, 2005. ISSN 2358-2340.

HOLANDA, G.S.A.; CARVALHO, L.H.; FOOK, M.V.L.; LIMA, C.C.M.; PINTO, M.R.O. Influence of pigments on the physical properties of a silicone for facial prosthesis subjected to accelerated aging. **Artigo submetido ao Materials Research - Ibero-american Journal of Materials em janeiro de 2016.**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do Polidimetilsiloxano (PDMS)	23
Figura 2 – Sistema de cura por reação de condensação do silicone	24
Figura 3 – Sistema de cura por reação de adição do silicone	26
Figura 4 – Sistema de cura do peróxido de poli (dimetilsiloxano)	27
Figura 5 – <i>Bixa orellana L.</i>	34
Figura 6 – Estrutura química da trans-bixina	35
Figura 7 – Estrutura química da norbixina	36
Figura 8 – Estrutura da bixina (a) e norbixina (b)	36
Figura 9 – Esquema de fotodegradação de uma ligação dupla	54
Figura 10 – Comparação dos espectros de onda: a) Lâmpada UV-A não Filtrada, b) UV-A filtrada com vidro e, c) luz solar filtrada com vidro ...	54
Figura 11 – Comparação dos espectros de onda: a) Lâmpada UV-B não Filtrada, b) UV-B filtrada com vidro e, c) luz solar filtrada com vidro. ...	55
Figura 12 – Mecanismo da degradação térmica do silicone (Hamdani <i>et al</i> (2009)	56
Figura 13 – Silicone (a), Pigmento de maquiagem (b) e solução de bixina (c) utilizados na obtenção das amostras da pesquisa.....	71
Figura 14 – Fluxograma dos estudos realizados: GC(Grupo Controle – Silicone em estado original; G1(Silicone pigmentado com maquiagem) e G2(-Silicone pigmentado com Bixina).....	73
Figura 15 – A- Padrões em Cera 7; B- Matriz em gesso tipo IV	75
Figura 16 – Espatulador mecânico.....	76
Figura 17 – Inserção do silicone na matriz	76
Figura 18 – Câmara de envelhecimento acelerado para não-metálicos C-UV. (Comexim – NBR 9512)	78
Figura 19 – Disposição dos corpos de prova (prateleiras) dentro da câmara de envelhecimento acelerado.....	78
Figura 20 – Equipamento HITACHI TM 1000 para avaliação-MEV	81
Figura 21 – Representação esquemática da placa de 96 poços, sendo 3 tratamentos e 5 concentrações distribuídos em 4 replicatas.....	84
Figura 22 – Incubadora de CO ₂ – Com desinfecção UV – 212 Litros – 220 Volts ..	84
Figura 23 – Leitor de Placas Victor™ X3 Multilabel Plate Reader – PerkinElmer..	85
Figura 24 – Solução compatível bioquimicamente com o suor humano	86
Figura 25 – A-Seleção dos corpos de prova; B-Imersão na solução de suor artificial.....	87
Figura 26 – Corpos de prova imersos em PBS(A) e PBS+=Lisozima(B)	89
Figura 27 – Amostras dos grupos para dureza Shore A.....	90
Figura 28 – Durômetro Shore A (WULTEST MP-20).....	91
Figura 29 – A- Corpo de prova com especificações para medir a resistência ao rasgamento; B-Corpo de prova obtido para o ensaio de resistência ao rasgamento.	92
Figura 30 – Máquina Universal de Ensaio- EMIC-DL 10 000.....	92
Figura 31 – A- Especificações de acordo com a ASTM D-638; B- Amostras para ensaio de tração	93
Figura 32 – Micrografia da amostra do silicone grau médico (A) e EDS das substâncias presentes no silicone (B)	96
Figura 33 – (A) Micrografia da amostra do pó de maquiagem; (B) EDS das substâncias presentes no pó de maquiagem.....	97

Figura 34 – (A) Micrografia da bixina; (B) EDS das substâncias presentes na bixina.....	97
Figura 35 – Espectro no infravermelho da amostra dos insumos maquiagem e solução de bixina.....	98
Figura 36 – FTIR do silicone grau médico em função do tempo de envelhecimento acelerado por exposição a ciclos UV-B/T/umidade...	100
Figura 37 – Curvas termogravimétrica (TGA) da amostra de Silicone.....	101
Figura 38 – Curvas termogravimétrica (TGA) de amostra de maquiagem.....	101
Figura 39 – Curva termogravimétrica (TGA) da amostra de Bixina.....	102
Figura 40 – Microscopia ótica da superfície interna das amostras de silicone natural(A), pigmentado com maquiagem (B) e com solução de bixina(C) não envelhecidos com aumentos de 40X	103
Figura 41 - Imagens (Microscopia Ótica) das superfícies dos corpos de prova.....	104
Figura 42 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC-Antes do envelhecimento acelerado(1.000x, 3.000x e 6.000x)	106
Figura 43 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1-Antes do envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x)	106
Figura 44 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2-Antes do envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x)	106
Figura 45 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x)	107
Figura 46 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	107
Figura 47 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC com 1.000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	107
Figura 48 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x)	108
Figura 49 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	108
Figura 50 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 1.0000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	108
Figura 51 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	109
Figura 52 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	109
Figura 53 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 1.000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).....	109

Figura 54 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado.....	111
Figura 55 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone pigmentado com maquiagem, em função do tempo de envelhecimento acelerado.....	111
Figura 56 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone pigmentado com bixina, em função do tempo de envelhecimento acelerado.	112
Figura 57 – Termograma da amostra do silicone não pigmentado antes do envelhecimento acelerado.....	113
Figura 58 – TGA da amostra de silicone pigmentado com maquiagem.....	115
Figura 59 – TGA da amostra do silicone pigmentado com bixina.....	115
Figura 60 – Curva Termogravimétrica do silicone envelhecido por 1.000 h.....	116
Figura 61 – Curva termogravimétrica do silicone pigmentado com maquiagem envelhecido por 1.000 h	116
Figura 62 – Curva termogravimétrica do silicone pigmentado com bixina envelhecido por 1.000h.	121
Figura 63 – Histograma da viabilidade celular do ensaio de citotoxicidade dos corpos de prova do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado, distribuídos de acordo com os diferentes grupos.....	121
Figura 64 – Massa em função do tempo de imersão em suor sintético para as amostras de silicone e silicone pigmentado.....	124
Figura 65 – Variação percentual média das massas das amostras em função do tempo de imersão em suor sintético.	124
Figura 66 – Biodegradação das amostras dos diferentes grupos estudados, com e sem envelhecimento acelerado em função do tempo de biodegradação em PBS ou PBS + Lisozima.....	130
Figura 67 – Biodegradação das amostras em estado original e envelhecido em função do tempo de biodegradação em diferentes meios: PBS ou PBS + Lizosima.	131
Figura 68 – Dureza Shore A em função do tempo de envelhecimento acelerado ..	133
Figura 69 – Resistência ao Rasgamento em função do tempo de envelhecimento acelerado.....	134
Figura 70 – Módulo elástico em função do tempo de envelhecimento acelerado ...	135
Figura 71 – Distribuição das médias da Tensão Máxima à Tração dos corpos de prova do grupo controle e dos grupos experimentais em função do tempo de envelhecimento acelerado.	137
Figura 72 – Alongamento a Ruptura em função do tempo de envelhecimento acelerado.	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores da distância entre os centros dos átomos e da energia de ligação do C-C e Si-O.....	24
Tabela 2 – Nome comercial, número do lote, composição, processo de polimerização e fabricante dos materiais avaliados	73
Tabela 3 – Efeito do envelhecimento nos eventos térmicos da matriz e compostos	117
Tabela 4 – Viabilidade celular do ensaio de citotoxicidade em função do tempo de envelhecimento.....	121
Tabela 5 – Média de peso das amostras nas primeiras 8 h de imersão em suor sintético	123
Tabela 6 – Média do peso das amostras por dia de imersão em suor sintético.....	123
Tabela 7 – Dureza Shore A em função do tempo de envelhecimento acelerado. ..	133
Tabela 8 – Resistência ao Rasgamento função do tempo de envelhecimento acelerado.....	134
Tabela 9 – Módulo Elástico em função do tempo de envelhecimento acelerado....	136
Tabela 10 – Distribuição das médias da Tensão Máxima à Tração dos corpos de prova do grupo controle e dos grupos experimentais em função do tempo de envelhecimento acelerado.....	137
Tabela 11 – Alongamento a Ruptura em função do tempo de envelhecimento acelerado.	138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	- Porcentagem
<	- Menor
>	- Maior
±	- Mais ou menos
®	- Marca registrada
ABIQ	- Associação Brasileira da Indústria Química
ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	- Análise de variância
ASTM	- American Society for Testing and Materials
CH₄	- Metano
Cm	- Centímetro
CO₂	- Dióxido de Carbono
CP	- Corpo de prova
DSC	- Análise de Calorimetria Diferencial
DTA	- Análise Térmica Diferencial
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<i>et al</i>	- e colaboradores
FTIR	- Infravermelho por Transformada de Fourier
g/min	- Gramas por minuto
H₂	- Hidrogênio
HTV	- High Temperature Vulcanizing (Polimerizado pelo calor)
ISO	- International Organization for Standardization
Kg	- Kilograma
Kg/cm	- Quilograma (s) por centímetro
Kg/cm²	- Quilograma (s) por centímetro quadrado
Kgf/cm	- Quilograma(s)-força por centímetro
MEV	- Microscópio Eletrônico de Varredura
Mg	- Miligrama
mm³	- Milímetro Cúbico
Mpa	- Mega Pascal
MTT	- Brometo de (4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5 difeniltetrazólio
N	- Newton

N/mm	- Newton por milímetro
NR	- Borracha Natural
°C	- Grau Centígrados
P	- Nível de significância
PBS	- Phosphate Buffer Saline
PDMS	- Polidimetil siloxano
Psi	- Libra força por polegada quadrada
RTV	- Room Temperature Vulcanizing (Polimerizado à temperatura ambiente)
TG	- Termogravimetria
TGA	- Análise Termogravimétrica
UAEMA	- Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais
UFCG	- Universidade Federal de Campina Grande
UV	- Radiação ultravioleta
UVB	- Radiação ultravioleta B
Mm	- Micrômetro

OBS: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 BIOMATERIAIS.....	22
2.2 POLÍMEROS DE SILICONE	22
2.3 COLORAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE BUCOMAXILOFACIAL	28
2.3.1 Pigmentos de maquiagem para prótese facial	29
2.3.2 Pigmento de Bixina (<i>Bixa orellana</i> L)	34
2.4 DEGRADAÇÃO DOS POLÍMEROS.....	38
2.5 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL.....	43
2.5.1 Ensaio de Citotoxicidade	44
2.5.2 Ensaio de Envelhecimento Acelerado	53
2.5.3 Ensaio de Sorção	56
2.5.4 Ensaio de Biodegradação Enzimática	60
2.6 MÉTODOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL.....	66
2.7 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL.....	68
3 MATERIAIS E MÉTODOS	71
3.1 MATERIAIS.....	71
3.2 METODOLOGIA	72
3.2.1 Estrutura experimental	73
3.2.2 Obtenção dos corpos de prova	75
3.2.3 Formação dos grupos experimentais	77
3.2.4 Caracterização das amostras	77
3.2.4.1 <i>Envelhecimento acelerado Ultra Violeta/ Temperatura/Umidade</i>	77
3.2.4.2 <i>Ensaio de caracterização para avaliação do silicone para prótese facial</i> ..	79
3.2.4.2.1 Microscopia Ótica (MO).....	79
3.2.4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS).....	80
3.2.4.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	81
3.2.4.2.4 Termogravimetria (TGA).....	82
3.2.4.3 <i>Ensaio biológicos para avaliação do silicone para prótese facial</i>	83
3.2.4.3.1 Ensaio de Citotoxicidade	83
3.2.4.3.2 Ensaio de Sorção	86
3.2.4.3.3 Ensaio de Biodegradação Enzimática	88
3.2.4.3.4 Ensaio Mecânicos para avaliação do silicone para prótese facial	88
3.2.4.3.4.1 Ensaio de Dureza Shore A	90
3.2.4.3.4.2 Ensaio de resistência ao rasgamento	91
3.2.4.3.4.2.1 Ensaio de resistência à tração.....	92
3.2.4.3.4.3 Análise dos dados	94
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INSUMOS	95
4.1.1 Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV/Espectroscopia por energia dispersiva de raios X – EDS	96
4.1.2 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)	97

4.1.2.1 FTIR do Silicone – Envelhecimento acelerado	99
4.1.3 Análise Termogravimétrica (TGA).....	100
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS – EFEITOS DA DEGRADAÇÃO.....	103
4.2.1 Microscopia Ótica	103
4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura	105
4.2.3 FTIR dos compostos.....	110
4.2.4 TGA dos compostos	113
4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	119
4.3.1 Citotoxicidade	119
4.3.2 Ensaio de sorção	122
4.3.3 Ensaio de Biodegradação Enzimática	127
4.4 ENSAIOS MECÂNICOS.....	132
4.4.1 Dureza Shore A	132
4.4.2 Resistência ao rasgamento	133
4.4.3 Resistência à tração.....	135
5 CONCLUSÕES.....	140
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	142
REFERÊNCIAS..	143
APÊNDICE A – FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	163
APÊNDICE B – COLETA DE DADOS PARA OS ENSAIOS DE SORÇÃO	164
APÊNDICE C – ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS.....	165
APÊNDICE D – I RESULTADOS DOS ENSAIOS MECÂNICOS ANTES DO ENVELHECIMENTO ACELERADO	166
APÊNDICE E – II RESULTADOS DOS ENSAIOS MECÂNICOS APÓS ENVELHECIMENTO ACELERADO	170
APÊNDICE F – IMAGENS DO MEV ANTES E APÓS ENVELHECIMENTO ACELERADO	185
ANEXO A – SUBMISSÃO DO ARTIGO A MATERIALS RESEARCH	189
ANEXO B – ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DO FABRICANTE – SILASTIC MDX4-4210 -DOW CORNING CORPORATION- USA	190

1 INTRODUÇÃO

O silicone medicinal (Grau Médico) é um dos materiais mais utilizados no mundo para confecção de próteses faciais – nasais, auriculares e próteses oculopalpebrais devido às suas propriedades físicas, por ser quimicamente inerte para a pele humana, por apresentarem uma elevada hidrofobicidade (repelirem água e sangue) e, principalmente, por serem bastante flexíveis. São resistentes aos micro-organismos, fáceis de higienização e seguros em comparação com outros materiais empregados na confecção de próteses maxilofaciais (Guiotti *et al*, 2010; Sharif *et al* 2010). Essas características são indispensáveis para que a prótese se aproxime do ideal tanto em relação ao conforto quanto à estética do paciente. Contudo, as próteses faciais confeccionadas com este material apresentam algumas limitações, como a descoloração, a degradação física, a dificuldade de reparo, resultando em um curto período de vida útil (Aziz *et al*, 2003; Lai *et al*, 2002; Mahajan; Gupta, 2012).

O silicone medicinal, utilizado para a confecção das próteses faciais, apresenta, como principal limitação, a sua rápida degradação em decorrência da exposição aos raios ultravioleta, a poluição do ar e às mudanças de temperatura e umidade. Outros fatores como a presença de porosidades na superfície do material, uso de adesivos e produtos de limpeza contribuem para a rápida degradação do material (Kiat-Amnuay *et al*, 2006). O suor, o sebo, enzimas e micro-organismos liberados pelo corpo humano poderão degradar e prejudicar a longevidade das próteses faciais.

A degradação do silicone é um dos principais temas de pesquisas clínicas e laboratoriais relacionadas às próteses faciais. Qualquer mudança na estrutura química do silicone causada por agentes físicos, químicos e biológicos, tais como mudança na cor e nas propriedades térmicas e mecânicas do material são, entre muitas outras, as principais características indicativas de que o material sofreu algum tipo de degradação (Kiat-Amnuay, 2008).

As intempéries – radiação solar, umidade, precipitação e vento – afetam os materiais poliméricos de diferentes formas e a avaliação do sinergismo desses fatores se torna crítica. Diversos autores têm se referido aos efeitos da radiação solar como principal agente de degradação dos materiais expostos (Sampers, 2002; Pospisil *et al*, 2006).

A degradação de um polímero pode ocorrer devido à penetração de pequenos comprimentos de onda da luz solar. A radiação ultravioleta (UV) afeta principalmente materiais expostos à luz solar. Parte da radiação UV é perigosa aos polímeros, mais especificamente, a radiação situada na faixa UV-B (Asmussen, 2001). Os materiais expostos a essa radiação podem apresentar degradação considerável ao longo do tempo devido à sensibilidade a esses comprimentos de onda que podem causar a quebra das cadeias poliméricas.

Diferentes estudos ressaltam que a degradação do silicone elastomérico decorre das características de sua cadeia polimérica. A presença da hidroxila e da sílica favorecem outras interações entre esses dois componentes que podem afetar a resistência estrutural e comprometer as ligações entre os elementos do silicone (Aziz *et al*, 2003; Wolf *et al*, 2001; Belamy *et al*, 2003; Deng *et al*, 2004; Gulmine *et al*, 2003).

A degradação de um material polimérico é um processo irreversível ocasionado por vários fatores responsáveis pela perda de suas propriedades, podendo ocorrer, durante a síntese, o seu processamento ou ainda devido à exposição do material à luz solar, à temperatura e durante o seu armazenamento. As reações responsáveis por alterações nos pesos moleculares, como reação de cisão de cadeia e de reticulação, resultam também em mudanças nas propriedades físicas e químicas do polímero. A incorporação de aditivos antioxidantes pode melhorar as características físico-químicas do material, através de diferentes processos, sendo tema de importantes estudos (Geuskens, 1991; Suits e Hsuan, 2003).

Quando a prótese está em uso pelo portador de uma deformidade na face, diferentes fatores podem levar a alterações estruturais do silicone medicinal que incluem, além do clima, meio ambiente (exposição aos raios ultravioleta, à poluição do ar e às alterações de temperatura e umidade) os hábitos pessoais do indivíduo, o manuseio constante e substâncias utilizadas na limpeza e desinfecção das próteses (Haddad, 2010).

Sweeney *et al* (1972), publicaram os primeiros estudos para medir o envelhecimento de materiais em um ambiente artificial. Os objetivos eram desenvolver uma série de avaliações para medir as propriedades necessárias para um material ideal indicado para próteses faciais, de modo que as propriedades mais críticas pudessem ser melhoradas.

Os principais estudos realizados para melhorar a resistência à degradação e às propriedades mecânicas empregaram aditivos do tipo opacificadores minerais, cujo objetivo era promover uma pigmentação do silicone semelhante às características da pele da face humana.

Pinheiro *et al.* (2011), realizaram um estudo para avaliar alteração de cor do silicone Ortho Pauher e o silicone MDX4-4210, frente ao envelhecimento por termociclagem, luz ultravioleta e ausência de luz, simulando um período de 12 meses. Utilizaram como pigmentação intrínseca e extrínseca o pó de maquiagem. Os autores observaram que os materiais com pigmentação intrínseca, nos três grupos de envelhecimento apresentaram melhor resistência à degradação.

A realização do presente estudo está fundamentada no fato de que as próteses confeccionadas com silicone medicinal (Grau Médico) apresentam elevado custo e baixa durabilidade em decorrência da sua rápida degradação, motivo que exige sua substituição em um período aproximadamente de um ano a um ano e meio (Lemon *et al.*, 1995; Hooper *et al.*, 2005; Polyzois *et al.*, 2011). As razões pelas quais as próteses são substituídas decorrem do fato de o silicone e seus agentes de coloração sofrerem alterações, provocando mudanças perceptíveis na cor e resultando em importantes limitações nas propriedades físicas e mecânicas do material (Eleni *et al.*, 2011). No entanto, a vida útil das próteses faciais depende das propriedades do material utilizado e de como a prótese está sendo usada pelo paciente (Stathi *et al.*, 2010).

Estudos relacionados à incorporação de pigmentos ao silicone visando a confecção de próteses faciais com excelentes qualidades, são escassos. Pesquisas laboratoriais empregando um pigmento que não seja citotóxico e não comprometa suas principais propriedades físicas e mecânicas, poderão resultar em um material que apresente uma satisfatória resistência ao rasgamento, à tração e à degradação superficial.

O elevado custo na confecção destas próteses onera os gastos públicos. A reabilitação com próteses maxilofaciais, empregando um material que apresente maior durabilidade, permite que o paciente seja reinserido em um contexto de convívio social do qual antes, devido ao defeito facial aparente, encontrava-se excluído. Desta forma, espera-se que esta pesquisa possa contribuir para a longevidade das próteses, assim como para a melhoria da qualidade de vida de

pacientes mutilados. Espera-se, ainda, que os resultados advindos dos ensaios laboratoriais possam embasar pesquisas futuras na área.

Diante da relevância do tema, a presente pesquisa tem como objetivo estudar a influência de pigmentos nas propriedades de um silicone para prótese facial em estado original, e incorporado com pigmentos de maquiagem ou bixina, submetido ao envelhecimento acelerado por exposição UV/T/U (Ultravioleta/Temperatura/Umidade) através de ensaios de caracterização, biológicos, físicos e químicos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMATERIAIS

Um biomaterial pode ser definido como qualquer material natural ou sintético, usado como dispositivo com o objetivo de interagir com sistemas biológicos de forma segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável (Park e Lakes, 2007; Wong e Bronzino, 2007). São substâncias de origem natural ou sintética, tolerados de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos e não causar reações adversas ao organismo (Moraes, 2002).

Biomaterial é um material desenvolvido com o propósito de interagir com a interface de sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função no corpo humano, produzido ou modificado artificialmente. Quando um biomaterial é utilizado com uma função específica no corpo humano e desencadeia, no seu hospedeiro, uma resposta apropriada, ele pode ser classificado como biocompatível (Barbosa; Fook, 2014).

A perda de um órgão ou de uma parte do corpo, promove além da perda da função, transtornos sociais e psicológicos. A prótese maxilofacial tem sido uma solução adequada para pacientes que apresentam deformações na região da face e maxilares, em decorrência de traumas, doenças ou deformidades congênitas (Kiat-amnuay, 2005).

Os progressos obtidos na odontologia aliados a técnicas que originam uma melhor qualidade de vida, relacionam-se paralelamente ao avanço de materiais que permitiram também sua aplicação através de dispositivos, sobretudo naqueles que são temporária ou permanentemente implantados no corpo humano, denominados biomateriais. Dentro da ciência de materiais, a área de biomateriais tem evidenciado um notável desenvolvimento. Os biomateriais poliméricos vêm sendo utilizados para a substituição de tecidos epidérmicos, dérmicos e/ou subdérmicos, para a regeneração de ossos, cartilagens e nervos, dentre outras.

A área de biomateriais envolve o conhecimento e a colaboração de diversas especialidades, desde o comportamento mecânico até as funções biológicas a nível molecular nos tecidos, passando pela engenharia de materiais, onde são

desenvolvidos sistemas com propriedades adequadas a determinadas aplicações no organismo. Por apresentar várias especificidades, os biomateriais são considerados, uma classe especial de materiais.

No campo da Medicina e Odontologia os silicones medicinais, são empregados na correção de anomalias, na fabricação de válvulas cardíacas, lentes de contato, próteses internas e externas, moldes odontológicos, próteses faciais, dentre outros. É um material seguro que, nas condições indicadas de uso, não provoca efeitos colaterais. Na área dos biomateriais, são utilizados como agentes de liberação de drogas, em implantes para reconstrução após cirurgias bucomaxilofaciais, entre outras aplicações (Callister JR., 2002; Lai et al, 2005; Albright, 2014).

Uma ampla variedade de materiais que apresentam diferentes características e propriedades, têm sido usados na reconstrução de partes perdidas da face. Eles apresentam propriedades físicas diferentes que vão desde o duro e inflexível, mas durável, a macios e flexíveis, porém menos duráveis. Estes incluem os polímeros rígidos, flexíveis e elastômeros (Faraedon, 2012).

Um dos materiais mais utilizados para a confecção de próteses faciais são os poli-dimetilsiloxano (PDMS), denominados silicones elastoméricos. Estes podem ser polimerizados pelo calor (HTV-High Temperature Vulcanizing) e à temperatura ambiente (RTV- Room Temperature Vulcanizing) (Aziz *et al*, 2003). O HTV é mais durável e resistente do que o RTV, mais exige uma técnica de trabalho muito mais sofisticada (Goiato *et al*, 2009).

2.2 POLÍMEROS DE SILICONE

O polidimetilsiloxano (PDMS) é uma importante classe de polímeros orgânicos sintéticos, baseado em cadeias moleculares de silício interligadas a átomos de oxigênio, tendo grupos pendentes de metila ligados ao átomo de silício. É, portanto, uma combinação de componentes orgânicos e inorgânicos (Rahimi, 2004), conforme ilustra a Figura 1.

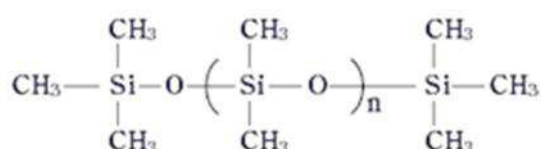


Figura 1 – Estrutura do Polidimetilsiloxano (PDMS) (Rahimi, 2004).

A característica principal dos polímeros de silicone é a cadeia polimérica de átomos de silício e oxigênio em que os átomos de silício transportam dois radicais orgânicos, preferencialmente radicais metilo. As propriedades especiais da borracha de silicone estão relacionadas com a presença de pequenas quantidades de radicais vinil, fenil ou fluoroalquil (SIGRID; BAYER, 1993).

A ligação Si–O (polisiloxanos) é mais estável do que a C–O. A presença de grupos laterais orgânicos nos silicones influencia fortemente as propriedades destes materiais. A alta estabilidade térmica do “esqueleto” inorgânico do siloxano, resultante da sua elevada energia de ligação, pode ser reduzida devido à natureza orgânica destas cadeias laterais. O peso molecular, bem como outras propriedades, como a viscosidade, são modificados também, pela presença de grupamentos di ou trimetil ligados aos siloxanos. Da mesma forma, a presença de grupos laterais orgânicos influencia as propriedades superficiais, de tal maneira que os silicones apresentam uma baixa tensão superficial, atingindo, por exemplo, no poli (dimetilsiloxano), um valor de 20 mN/m, que é um valor característico de uma superfície orgânica (Canevarolo Jr., 2004). A Tabela 01 mostra a distância entre os centros dos átomos e a energia de ligação do C-C e Si-O.

Tabela 1 – Valores da distância entre os centros dos átomos e da energia de ligação do C-C e Si-O.

Átomos ligados	Distância entre os centros dos átomos (pm)	Energia de ligação (kJ/mol)
C-C	154	348
Si-O	163	462

Fonte: Canevarolo Jr., 2004.

Legenda: pm=picômetro (unidade de medida equivalente a 10^{-12} m).

O termo silicone é normalmente utilizado tanto para descrever os polímeros como os produtos industriais formulados a partir deles. Ele foi sintetizado pelo cientista alemão Wöhler em 1900, começando a ser explorado industrialmente a partir da 2ª Grande Guerra Mundial (Abiquim, 2014).

O silicone Polidimetilsiloxano (PDMS), foi aplicado pela primeira vez para próteses extraorais por Barnhart na década de 1960 (Khindria *et al*, 2009; Begum *et al*, 2011; Zardawi, 2012). É considerado o material mais indicado para os dispositivos protéticos extra-orais (Beumer *et al* 2011), em virtude das suas propriedades físicas que o tornam adequados para uso por apresentar excelente

adaptabilidade e acomodação do material durante o movimento dos tecidos moles do paciente quando em contato com a prótese. Além do conforto e adaptação este material apresenta propriedades translúcidas que melhoram os resultados estéticos da prótese.

Ensaio laboratoriais constataram que o Silastic MDX 4-4210, é considerado o material adequado para a confecção de próteses faciais, devido as suas propriedades físicas (Abdelnabi *et al.*, 1984; Wolfaardt *et al.*, 1985; Carvalho, 1990; Dootz *et al.*, 1994) onde mostraram, através de ensaios, que o silicone MDX-44210, em estado original, apresenta valores de dureza Shore A entre 24 e 32; resistência à tração entre 2.44 e 6.46 MPa e alongamento de ruptura entre 460 e 650%.

Pesquisas realizadas com os silicones constataram que suas características inertes não contaminam o solo, a água ou o ar. Quando incinerados, não provocam reações químicas que possam gerar gases e poluir a atmosfera. Não produzem reações alérgicas nos seres humanos, o que permite uma manipulação segura sem o risco de provocar danos à saúde humana. Muitos tipos de silicone são recicláveis e outros são de simples disposição, sem agressão ao meio ambiente (Lai *et al.*, 2005; Albright, 2014).

O método de cura dos silicones utilizados para a fabricação de próteses faciais pode ser por vulcanização em temperatura ambiente (RTV) – Esse tipo de silicone normalmente é formulado de modo a conter partículas de terra de diatomáceas, sílica ou outros minerais como material de enchimento e são compostas por duas partes principais: um catalisador (octato estanhoso) e um agente de reticulação à base de um orto-alquil silicato (em geral tetra-etil orto-silicato – TEOS. Eles são polímeros viscosos e inertes de cores estáveis. O silicone MDX4 – 4210 é translúcido, para que possa ser misturado com pigmentos adequados para reproduzir a cor da base da pele do paciente, com uma maior estabilidade. O material é biologicamente inerte e facilmente processado. Além disso, ele pode reter as propriedades físicas e mecânicas quando processados em diferentes temperaturas. A principal desvantagem desses material é apresentar pouca resistência ao rasgamento (Cardim, 2007).

A reticulação ou cura do polímero PDMS pode ocorrer por condensação ou por adição. Na reação de cura por condensação (Figura 2), a cadeia é terminada com os grupos de hidroxila que apresenta massa molecular adequada para alcançar o grau de viscosidade, e o seu agente de reticulação é um oligômero (polímero de

baixa massa molar) – polihidrometilsiloxane – PHMS. A reação é acompanhada por liberação de hidrogénio e é acelerada ou por uma amina ou estanho octato. O processo ocorre à temperatura ambiente, e é chamada de RTV (De Paoli, 2008). Conforme apresentado na Figura 2.

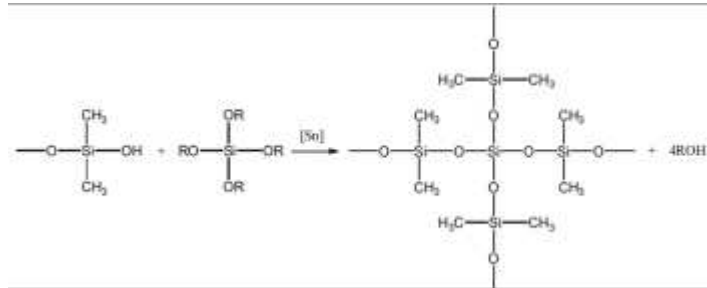


Figura 2 – Sistema de cura do silicone por reação de condensação RTV (Zardawi, 2012).

Os silicones podem ser constituídos de um composto ou de dois compostos. Na primeira, o catalisador e os agentes de reticulação são incorporados no interior do material de base durante a fabricação, ao passo que com o sistema de dois compostos, tanto o catalisador como a base são adicionados a partir de componentes separados e misturados imediatamente antes da utilização.

Outro tipo de reticulação do Polidimetilsiloxano é a reação de adição. Este tipo de reação também pode ocorrer em temperatura ambiente. A platina ou paládio pode ser utilizado como o catalisador (Figura 3).

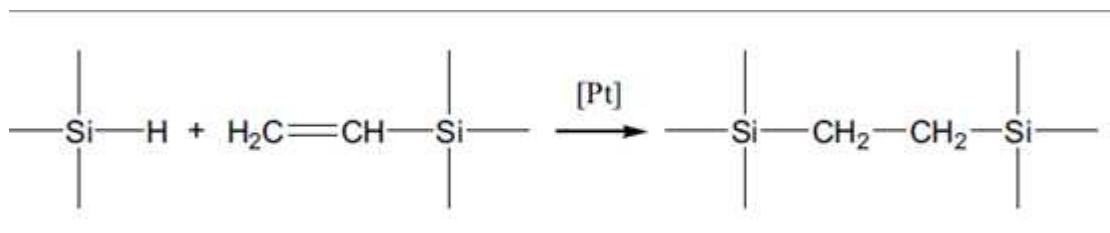


Figura 3 – Sistema de cura por reação de adição do silicone RTV Fonte: (Zardawi, 2012).

Outro método de cura é utilizado a altas temperaturas (HTV) dos polímeros de silicone. Isto segue um mecanismo de cura por radical livre e requer certa quantidade de calor para a iniciação. A reação de cura por radical livre catalisada por peróxidos orgânicos é mostrada na Figura 4.

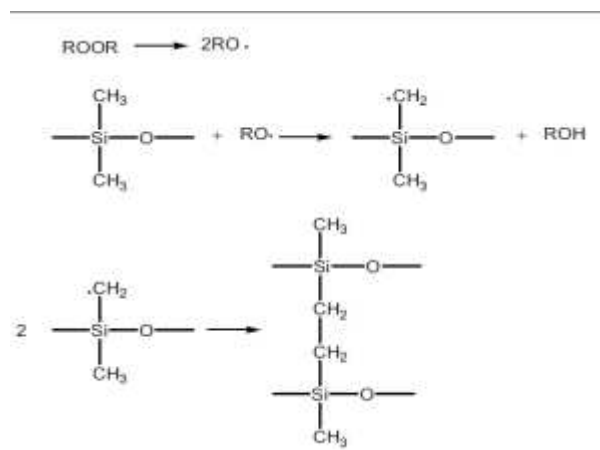


Figura 4 – Sistema de cura do peróxido de poli (dimetilsiloxano) (Zardawi, 2012).

Finalmente, há o sistema de cura por irradiação, onde radicais livres são formados por irradiação de raios gama ou feixe de elétrons de alta energia e a reticulação é induzida (Cowie, 1991).

O comprimento da cadeia do polímero de silicone no interior do material determina a viscosidade dele, assim como a adição de agentes de enchimento ou outros compostos. Outros aditivos podem ser incorporados no composto, tal como corantes, anti-oxidantes e agentes de reticulação a fim de transformar o material líquido numa borracha durante o processamento (Albright, 2014).

As ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas longas, criam uma forte interligação entre os componentes, que não podem ser facilmente separados o que resultam em um silicone com resistência ao calor e à degradação durante a exposição à luz ultravioleta (Asmussen, 2001).

O comportamento mecânico de polímeros de silicone poderá estar correlacionado à distribuição do peso molecular – mistura de cadeias longas e curtas desse polímero, criando uma rede mais alargada bimodal, que resultará em uma combinação das propriedades mecânicas de alta resistência à tração, resistência à ruptura e elasticidade. Outro fator poderá estar associado ao grau de reticulação, onde as cadeias elastoméricas são essenciais para melhorar a resistência ao rasgamento e à tração. Quanto maior for a reticulação do material elastomérico, mais duro, menos deformável ele será, ao passo que a baixa densidade de ligação cruzadas resultará em menor resistência ao rasgamento e à tração (Callister Jr., 2002).

As propriedades físicas e mecânicas do elastômero de silicone dependem do grau de ligação cruzada, do tipo e concentração de cargas na rede elastomérica.

O grau de reticulação depende da natureza e da concentração do iniciador térmico, das cargas, do tipo de aditivos bem como, da temperatura de cura e tempo de polimerização. Um aditivo colorante para ter uma combinação ideal com um silicone elastomérico deve, não só permitir uma estética satisfatória clinicamente, mas também manter as propriedades físicas por um período de tempo aceitável (Gunay *et al*, 2008; Gonzalez, 1978; Mancuso *et al*, 2009).

Segundo a Dow Corning Product Information Product Information (2013), o SILASTIC MDX4-4210, utilizado no presente estudo, é um elastômero de Grau Médico que foi criado para uso médico em dispositivos para serem encapsulados em moldes. A sua cura pode ser em temperatura ambiente ou acelerada pelo calor. É composto de um polímero dimetilsiloxano, sílica reforçada e de um catalisador feito à base de platina. O seu agente de cura, compõe-se de um polímero dimetilsiloxano e de um inibidor *crosslinker*.

Kantola *et al* (2013), Investigaram a estabilidade da cor do silicone MDX 4-4210 e do Thixo A-300-1 colorido com pigmentos térmicos em 3 grupos: um de controle pigmentado de forma convencional, um grupo pigmentado com 0,2% em peso de pigmento e outro grupo com 0,6% em peso. Metade das amostras foi coberta com uma folha de alumínio. Todos os espécimes foram expostos à radiação UV em 6 ciclos horas durante 46 dias. Entre as exposições UV, metade das amostras foram armazenadas no escuro, à temperatura ambiente, e a outra metade foi armazenada numa incubadora, numa humidade de 97% e uma temperatura de 37°C. As mudanças de cor foram avaliadas com um espectrofotómetro e registado de acordo com o CIELAB L * a * b * modelo de cor. A exposição aos raios UV resultou em mudanças de cor visualmente perceptíveis e estatisticamente significativas. Os autores concluíram que as amostras contendo pigmentos térmicos foram muito sensíveis à radiação UV, e o pigmento térmico não é adequado para ser utilizado em próteses maxilofaciais.

2.3 COLORAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE BUCOMAXILOFACIAL

Os silicones medicinais indicados para próteses faciais apresentam-se translúcidos sendo necessário a incorporação de pigmentos para a obtenção de uma cor na massa que se assemelhe a pele humana. Dessa forma um dos critérios para que uma prótese facial seja esteticamente aceitável é que deve imitar e reproduzir a

forma, o volume, a posição, a textura, translucidez e cor da parte perdida, devendo se tornar quase imperceptível àqueles que desconhecem o problema (Mortellaro *et al*, 2006).

Segundo Lewis e Castleberry (1980), os materiais empregados na confecção de prótese bucomaxilofacial ideais devem aceitar e reter coloração, sem causar mudanças na aparência geral das próteses, nem alterar as propriedades mecânicas.

Vários métodos de coloração e de tingimento têm sido desenvolvidos para estes materiais. Métodos intrínsecos e extrínsecos de coloração têm sido amplamente utilizados durante a confecção de próteses bucomaxilofaciais. Para colorir a prótese vários pigmentos podem ser utilizados. A coloração das próteses faciais para simular os tecidos moles, poderá ser realizada através da adição de pigmentos à base de óleo ou de terras secas, incorporados ao polímero de silicone numa fase inicial da manipulação, antes de se adicionar o acelerador para a reticulação do material, denominada de coloração intrínseca. A caracterização individual da prótese do paciente é realizada com a adição de cores específicas em um processo de pintura externa do silicone, denominada de coloração extrínseca. É adicionada uma fina camada de pigmento sobre a superfície externa da prótese, buscando a similaridade na combinação de cores da pintura extrínseca com a própria cor da pele do paciente (Beatty *et al*, 1995).

Os pigmentos podem ser classificados em categorias em relação à sua cor, à sua origem e aos seus principais constituintes (Kiat-Amnuay *et al*, 2005). Os pigmentos orgânicos são aqueles que são formados a partir de compostos de carbono-hidrogênio, e são geralmente derivados de origem animal, vegetal ou de origem sintética. O termo "inorgânico" pode ser aplicado a pigmentos de terra natural, de terra natural calcinada ou de origem sintética, contendo átomos de metal, são essencialmente de origem mineral. De modo geral, os pigmentos orgânicos deterioram e têm uma vida útil mais curta quando expostos a fatores ambientais do que os inorgânicos (Mayer, 1991).

2.3.1 Pigmentos de maquiagem para prótese facial

A coloração do silicone é uma das etapas de extrema relevância na confecção de próteses faciais, o estabelecimento da cor vem sendo uma das maiores dificuldades encontradas pelos protesistas. A prótese, quando em função,

sofre a ação de agentes externos que podem causar a descoloração ou o desbotamento de pigmentos e rachaduras que, além de comprometer a dissimulação do defeito facial promove, também, uma alteração das propriedades do material (Huag *et al*, 1999; Kiat-Amnuay *et al*, 2002; Goiato *et al*, 2004). Para Santos (2009), obter uma aparência aceitável entre a prótese e a pele do paciente sempre foi um desafio ao profissional, sendo um fator altamente importante para o sucesso do tratamento protético.

A incorporação no silicone medicinal de pigmentos como aditivo é realizado com vistas a garantir uma estética satisfatória, um maior reforço ao material, além de minimizar a sua degradação, sendo comprovado, em ensaios laboratoriais, uma melhoria das propriedades físicas e mecânicas (Han *et al*, 2008; Wang *et al*, 2014).

Guiotti e Goiato (2003), avaliaram o efeito do tempo de exposição ao meio ambiente e da adição de pigmentos, sobre a estabilidade dimensional e a manutenção de detalhes de dois silicones para uso facial (Brascoved e Silastic 732 RTV). Os espécimes foram distribuídos em três grupos para cada silicone utilizado: controle (incolor), pigmentação com maquiagem ou com óxido de ferro. Para a análise da alteração dimensional, foi empregado um microscópio comparador e, para a análise da reprodução de detalhes, uma lupa estereoscópica. As leituras foram realizadas imediatamente, 30 e 60 dias após a polimerização dos corpos de prova. Os dados foram analisados pelo Teste ANOVA e Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Os dois silicones apresentaram contração; o fator tempo influenciou estatisticamente a estabilidade dimensional do Silastic, após 60 dias, em todos os grupos; para o Brascoved, o fator tempo influenciou em todos os períodos e em todos os grupos. O uso de pigmentos contribuiu para a melhor estabilidade dimensional do Silastic quando comparado com o grupo incolor. Para o silicone Brascoved, o grupo pigmentado com óxido de ferro sofreu o maior grau de contração. Os detalhes foram mantidos para ambos os silicones. Os autores concluíram que o silicone Silastic 732 RTV é um bom material para prótese facial, não sendo afetado significativamente pelo tempo de exposição ao meio ambiente e que a pigmentação melhora o seu comportamento.

Mancuso *et al* (2005) realizaram uma revisão de literatura sobre estudos que avaliaram a alteração da cor dos materiais utilizados em próteses bucomaxilofaciais em função da pigmentação e do envelhecimento. Dentre os materiais estudados, o silicone Silastic MDX 4-4210 apresentou os melhores resultados e foi considerado

um material aceitável. A pigmentação intrínseca resultou em menor alteração de cor bem como no envelhecimento ao ar livre quando comparado ao envelhecimento acelerado. Segundo os autores, novas pesquisas sobre as propriedades dos materiais são necessárias em função da diversidade de materiais e pigmentos disponíveis nos diferentes países e da falta de padronização dos ensaios.

Cardim (2007) investigou o comportamento de três tipos de silicones após pigmentação com pó para maquiagem facial, usados rotineiramente na confecção de próteses faciais. Os silicones utilizados foram um de cura por calor (HTV) para finalidades médicas, um de cura acética (RTV) para fins industriais com especificações de normas alimentícias e outro também de cura acética (RTV), porém somente com indicação de uso industrial. Um grupo de espécimes foi submetido ao envelhecimento em exposição ambiental e um grupo controle foi acondicionado em ambiente totalmente escuro em temperatura ambiente. A análise foi realizada em um espectrofotômetro após 90 dias. Concluiu-se que todos os silicones expostos apresentaram alteração de cor clinicamente inaceitável, sendo que no grupo controle somente o silicone de cura acética (RTV) industrial com especificações de normas alimentícias, apresentou alterações cromáticas clinicamente aceitáveis, ao passo que os outros dois se mantiveram estáveis.

Mancuso *et al* (2009) avaliaram a estabilidade de cor dos silicones Silastic 732 RTV e Silastic MDX 4-4210. Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: 1-incolor, 2-pigmentação intrínseca com cerâmica, 3-Pigmentação com cosmético e 4-pigmentação com óxido de ferro e, na sequência, foram submetidos a um sistema acelerado de 1.000 horas de envelhecimento acelerado. Os resultados demonstraram que, independentemente do período de tempo analisado, todos os materiais sofreram algum tipo de alteração cromática. As amostras feitas com Silastic 732 RTV e MDX 4-4210, sem pigmentação, apresentaram os menores valores de alteração de cor após o envelhecimento. Dos pigmentos, o cerâmico promoveu os menores valores de alteração de cor, ao passo que o cosmético promoveu os maiores valores. Os autores concluíram que a pigmentação por meio de pigmento cerâmico seria uma boa alternativa para a caracterização de próteses faciais.

Pinheiro *et al* (2011) avaliaram a alteração de cor do silicone Ortho Pauher e obtiveram, como padrão ouro, o silicone MDX4 – 4210, frente ao envelhecimento e à pigmentação. Sessenta amostras para cada material foram obtidas, as quais

receberam pigmentação intrínseca ou pigmentação intrínseca e extrínseca. Foi utilizado o pó de maquiagem como pigmento. Três grupos foram formados com as amostras distribuídos aleatoriamente e submetidos ao envelhecimento ou por termociclagem, luz ultravioleta ou para compor o grupo controle. Como controle, espécimes foram mantidos em um recipiente hermeticamente fechado na ausência de luz. O envelhecimento simulou um período de uso de 12 meses. Os testes ANOVA e Tukey ($p < 0,05$) indicaram diferença significativa entre o grupo controle e os grupos envelhecidos por termociclagem e luz ultravioleta, sendo que estes se mostraram iguais. Em relação aos materiais, não houve diferença entre eles. Houve diferença entre as pigmentações. Na interação, o Ortho Pauher sofreu maior variação de cor causada pela luz ultravioleta, ao passo que o MDX4-4210, pela termociclagem. Comparando-se os materiais com pigmentação intrínseca, nos três grupos de envelhecimento houve diferença entre o controle e a luz ultravioleta, sendo que a maior alteração foi encontrada para o Ortho Pauher. Para os materiais com pigmentação intrínseca e extrínseca, houve diferença nos três grupos de envelhecimento, com maior variação para o MDX4-4210. Notam-se comportamentos distintos dos materiais em função da pigmentação e do envelhecimento, devendo-se considerar a associação entre material, tipo de pigmento e tipo de exposição para que se faça a indicação clínica corretamente, podendo-se considerar o Ortho Pauher na confecção de próteses maxilofaciais.

Maida *et al* (2011) realizaram um estudo laboratorial para avaliar a dureza de dois materiais à base de silicone, MDX 4-4210 e Ortho Pauher, frente à pigmentação intrínseca e extrínseca com pó de maquiagem e submetidos ao envelhecimento por termociclagem e por radiação UV. Os autores constataram que o silicone MDX 4-4210 apresentou menor variação nos testes de dureza Shore A, sugerindo ser o melhor na indicação para a confecção das próteses faciais.

Al-Dharrab *et al*, (2013) realizaram um estudo com o objetivo avaliar o efeito de diferentes soluções de armazenamento que simulam substâncias ácidas, alcalinas e condições semelhantes ao suor humano sobre as propriedades físicas do elastômero Cosmesil M511 pigmentado. Sessenta amostras foram preparadas de acordo com as instruções do fabricante e foram ensaiados antes e depois da imersão de diferentes condições de armazenamento durante seis meses a 37°C. As amostras foram submetidas aos testes de mudanças de cor (grupo I), a absorção da solução (grupo II), a rugosidade da superfície (grupo III), e microscopia eletrônica de

varredura (grupo IV). Observaram mudanças significativas nos testes de absorção de cor e de soluções, ao passo que a rugosidade da superfície revelou diferença significativa entre o grupo controle e de outros grupos de média de armazenamento de testes, e este resultado foi apoiado por análise em MEV revelou mudanças superficiais. O silicone Cosmesil é uma formulação reticulada aceitável que resiste ao armazenamento em diferentes soluções com Ph variável. A adição de pigmentos não afetou consideravelmente as propriedades físicas destes materiais. Teste de rugosidade da superfície, bem como a avaliação através do estudo microscópico com o MEV mostrou mudanças moderadas, indicando um efeito limitado sobre a superfície do material.

Nguyen *et al* (2013) realizaram um estudo para avaliar o efeito de dois opacificantes a base de titânio e um agente de proteção solar mineral (LP) da Sunforgettable UV, em amostras de silicone MDX4-4210 sobre as características físicas e propriedades mecânicas antes e após o envelhecimento artificial. Os autores observaram que após o envelhecimento acelerado, os valores de dureza Shore A foi o mais baixo para todos os grupos com incorporação do LP e do grupo controle, observaram ainda que, para este grupo, a resistência ao rasgamento e à tração e ao alongamento foi o dobro, de forma significativa ($P < 0,001$), ao passo que, para as mudanças ocorridas nos demais grupos, ocorreu uma variação a depender do pigmento. Concluíram ainda, que as propriedades mecânicas dos espécimes com o opacificante protetor de luz foram negativamente afetados depois de submetidos ao envelhecimento artificial.

Wang *et al* (2014) realizaram uma pesquisa com o objetivo de avaliar o efeito de nanopartículas de TiO_2 nas propriedades mecânicas, o anti-envelhecimento e a biocompatibilidade de um elastômero de silicone (MDX4-4210, DOW CORNING PRODUCT INFORMATION, EUA). O TiO_2 foi incorporado em concentrações de 2%, 4% e 6% antes e após o envelhecimento artificial e analisado através do MEV. Os autores observaram que as nanopartículas de TiO_2 melhoram a resistência à tração e à dureza Shore A do silicone ($P < 0,05$). No entanto, houve uma redução do alongamento à ruptura e resistência ao rasgamento da amostra contendo 6% de dióxido de titânio, porém, todos os métodos de envelhecimento não tiveram efeito sobre a resistência à tração dessa mesma amostra. Entretanto, o envelhecimento térmico diminuiu significativamente a resistência à tração do grupo de controle. Concluíram que o TiO_2 , nas diferentes concentrações, poderá ser um material

promissor que produz propriedades físicas e anti-envelhecimento favoráveis além de ser biocompatível para as células *in vitro* celulares.

Para Goiato *et al* (2009a), os silicones devem possibilitar a confecção de próteses faciais esteticamente satisfatórias que reproduzam forma, volume, textura, translucidez e cor da pele da região perdida, promovam conforto e que reproduza a movimentação muscular quando em função, além de ser quase imperceptível àqueles que a observam.

2.3.2 Pigmento de Bixina (*Bixa orellana* L)

A bixina é um pigmento vermelho-alaranjado originado da árvore *Bixa orellana* L (Bixaceae) que também é conhecida como urucum ou urucu, palavra de origem da língua Tupi-Guarani, *achiote*, terra orellana, *bixa orellana* e *annatto*, é encontrada nas florestas tropicais da América Central, Ásia e América do Sul, em especial no Brasil (Toledo *et al*, 2004).



Figura 5 – *Bixa orellana* L. (<http://www.emepa.org.br/simbrau>)

Este pigmento é empregado pelos índios sobre a pele como uma barreira contra os efeitos nocivos dos raios solares. O pigmento encontra aplicação na formulação de bronzeadores, na forma de extrato oleoso; produtos de maquiagem como batons e pós-faciais; produtos para cabelos, a exemplo da tintura e xampus, como também em sabonetes. Na indústria têxtil é empregado para tingir algodão, lã e especialmente a seda, conferindo a esta um efeito especial difuso, amarelo laranja. Também tem sido empregado como pigmento na indústria alimentícia, de

couro bem como na fabricação de tintas e vernizes, graxas para sapato e ceras para pisos (Sandi *et al*, 2003).

Embora seja um pigmento empregado com sucesso em diferentes áreas, ainda não foram realizados estudos clínicos ou laboratoriais utilizando este pigmento intrínseca ou extrinsecamente no silicone medicinal para prótese facial. Portanto, temos como hipótese o emprego da Bixina como um pigmento intrínseco no silicone Silastic MDX4-4210, para a melhoria de suas propriedades físicas e mecânicas.

A bixina foi isolada pela primeira vez das sementes de *Bixa orellana* L. em 1875, somente em 1961 a sua estrutura completa e estereoquímica foram estabelecidas através de estudos de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono treze. Pertencente à classe dos apocarotenoides naturais, sua formação ocorre pela degradação oxidativa de carotenoides C₄₀. Possui uma cadeia isoprênica de 25 carbonos, contendo um ácido carboxílico e um éster metílico nas extremidades, apresentando uma fórmula molecular C₂₅H₃₀O₄ (PM = 394,51).

De acordo com Silva *et al* (2005) a bixina pura se apresenta como cristais vermelho-purpura de ponto de fusão 196-198°C e ocorre naturalmente na forma 16-Z (cis), porém, durante o processo de extração é isomerizada conduzindo à forma 16-E (trans), denominada isobixina. A bixina é estável à luz e tem boa estabilidade frente à oxidação, mudança de pH e ataque microbiano, sendo muito estável até a temperatura de 100°C, e pouco estável a temperaturas de 100 a 125°C onde tende a formar o ácido 13-carboximetoxi-4,8-dimetiltridecahexano-oico (Marmion, 1991).

A extensa cadeia de duplas ligações presente na estrutura da bixina proporciona variações de distribuição eletrônica permitindo a adição de radicais livres aos carbonos adjacentes às insaturações, resultando também em maior reatividade dessas moléculas diante de agentes oxidantes, sobretudo derivados oxigenados, proporcionando relativa estabilidade.

A norbixina apresenta fórmula molecular C₂₄H₂₈O₄ (PM = 380) com absorvância máxima a 527, 491 e 458nm em dissulfeto de carbono e ponto de fusão de 300°C; é instável na presença de luz e em solução quanto se muda o pH. O sal de norbixina é solúvel em água e insolúvel em acetona, clorofórmio, éster, óleos e gorduras e moderadamente solúvel em álcool, e tem absorvância máxima a 454 e 482 nm para solução de 0,01% de NaOH (Alves, 2005). Ver Figuras 6 e 7 e o Quadro 1.

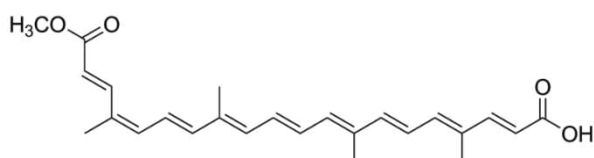


Figura 6 – Estrutura química da trans-bixina. Fonte: Scotter, (1995).

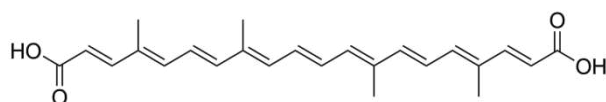


Figura 7 – Estrutura química da norbixina. Fonte: Scotter, (1995).

Quadro 1 – Propriedades e compostos relacionados da bixina

Propriedades	
Fórmula química	C ₂₅ H ₃₀ O ₄
Massa molar	394.48 g mol ⁻¹
Aparência	Cristais laranjas
Solubilidade em água	Insolúvel
Compostos relacionados	
Compostos relacionados	Norbixina (ácido dicarboxílico; metoxi no C ₂₀ trocado por -OH)

Fonte: Alves, (2005).

As extensas cadeias carbônicas insaturadas permitem a adição de radicais livres e conferem a estes carotenoides a capacidade de atuar como antioxidantes.

Algumas particularidades como polaridade, solubilidade e coloração são resultantes das diferenças estruturais entre a bixina e norbixina. Seu emprego na indústria como antioxidantes naturais, são alternativas que vêm a substituir ou amenizar o uso de aditivos sintéticos.

A remoção do grupo metil éster da bixina origina a norbixina, um ácido dicarboxílico cuja estrutura está representada na figura 8.

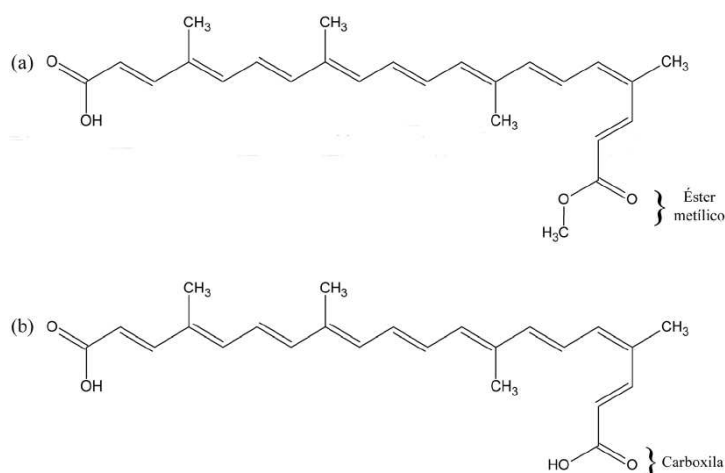


Figura 8 – Estrutura da bixina (a) e norbixina (b) (Rocha Garcia, 2010)

Haila *et al* (1996), ao pesquisar o efeito antioxidante dos derivados do urucum, a bixina e outras substâncias naturais (luteína, licopeno, β -caroteno, e γ -tocoferol) quanto a suas capacidades antioxidantes, verificaram que a bixina apresentou um grande efeito antioxidante, reduzindo a formação de hidroperóxidos em triacilglicerídeos oxidados pela luz. Outras pesquisas também avaliaram, individualmente, o extrato de urucum, β -caroteno, luteína e licopeno quanto a capacidades de inibir a formação de hidroperóxidos em uma emulsão aquosa, cuja oxidação foi estimulada pelo uso do 2,2'-azobis-amidinopropano (AAPH). Os resultados revelaram que o extrato de urucum superou as demais substâncias naturais, apresentando a maior atividade antioxidante (Kiokias & Oreopoulou, 2006).

Durante o processamento, não se pode descartar que a bixina e a norbixina sofrem isomerização devido à instabilidade das insaturações presentes na molécula. Os isômeros *cis*, tanto da bixina quanto da norbixina, estão presentes naturalmente na planta, sendo convertidos na forma *trans*, mais estável, quando submetidos a altas temperaturas. As diferenças estruturais entre os isômeros *cis* e *trans* determinam algumas características físicas dos compostos. A bixina, quando presente na forma do isômero *cis*, não apresenta extensa solubilidade em óleos vegetais em razão da polaridade provida pelos grupos situados nele lado da estrutura. A *trans*-bixina é solúvel em óleos e proporciona coloração vermelha, diferindo do isômero *cis*, de coloração alaranjada. Os carotenoides podem sofrer degradação quando expostos à luz ou submetidos a elevadas temperaturas (Satyanarayana *et al*, 2003). Além das condições de processamento e armazenamento, a aplicação desses corantes deve considerar as características da matéria-prima, seu efeito corante ou antioxidante, para que o objetivo final seja

atingido. Os corantes de urucum podem ser encontrados em formas de solução aquosa, solúvel em óleo ou ainda, na forma de emulsão ou em suspensão (Sandi *et al*, 2003).

Além da ação anti-oxidante da bixina, importantes estudos envolvendo atividade antimicrobiana de extrato de folhas e sementes de urucum, foram avaliados contra uma gama de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides*) e fungos (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium oxysporum*, *Mycrosporium gypseum*, *Neurospora crassa*, *Penicillium purpurogenum* e *Trichophyton mentagrophytes*). Nas concentrações testadas, a maioria dos extratos se mostrou inativa. Uma outra propriedade desta planta está relacionada à amenização ou neutralização da ação hemorrágica do veneno de *Botrops atrox*, uma serpente muito comum na região nordeste da Colômbia (Barbosa-Filho, 2006).

As preocupações relacionadas ao impacto da utilização de corantes sintéticos sobre a saúde humana são incontestáveis, fazendo com que se busquem cada vez mais aqueles de origem natural pela crença de que estes sejam desprovidos de efeitos tóxicos. Isto não é totalmente verdadeiro porque mesmo um medicamento pode se tornar um veneno a depender da dose que for administrada.

Além do seu emprego como condimento, o urucum é utilizado como corante pela indústria farmacêutica e cosmética. Apesar do amplo uso pela população desse condimento a sua IDA (Ingestão Diária Aceitável) até 2004, era muito baixa (0,0065 mg/Kg peso). Foi graças ao movimento liderado pela Sociedade Brasileira de Corantes Naturais desde a década passada envolvendo pesquisadores e indústrias que contribuíram para chamar atenção para a necessidade de que fosse aumentada a IDA para a bixina. Vários trabalhos científicos realizados no Brasil e em outros países, chama à atenção para a importância da adoção dos corantes naturais.

Estudos realizados por Paumgarten *et al* (2002) indicaram que o urucum não foi embriotóxico para o rato Wistar e sugeriu um efeito adverso não observado (NOAEL) de 500 mg/kg de peso corpóreo. Os resultados observados por Bautista *et al* (2004) indicaram ausência de alterações em ratos Wistar após introdução do urucum em regime subagudo.

Hagiwara *et al* (2003) também avaliaram a promoção de tumor de fígado em ratos por extratos de urucum e verificaram que estes não possuíam hepatocarcinogenicidade (câncer no fígado) em rato, mesmo quando administradas doses elevadas como 200 mg/kg de massa corporal/dia se comparada à dose aceitável de 0,0 a 0,065 mg/kg/dia, portanto, indicando que o perigo de um efeito hepatocarcinogênico para o homem pode estar ausente ou desprezível.

2.4 DEGRADAÇÃO DOS POLÍMEROS

Na escolha de um silicone para a confecção da prótese facial, o estudo da citotoxicidade se torna essencial, para garantir a saúde do portador. Investigar outros fenômenos que podem reduzir a longevidade do silicone, como a degradação, seja durante o seu processamento, armazenamento ou durante o uso da prótese facial pelo paciente poderão melhorar suas características físico-químicas.

Diferentes métodos podem ser utilizados para avaliar a degradação do silicone frente às agressões químicas, biológicas e físicas. Dentre eles, estão os ensaios de sorção, biodegradação e envelhecimento acelerado.

A degradação polimérica pode ser definida como qualquer mudança indesejável nas propriedades de um polímero. É um processo que compromete as propriedades físicas e mecânicas do material, ocasionado por vários fatores que podem ocorrer durante o seu processamento, como também serem resultantes dos efeitos ambientais, de substâncias químicas e ou biológicas durante o uso do material. Em geral, ocorre cisão da cadeia polimérica e também a quebra da estrutura no retículo cristalino. Esses fatores poderão levar a formação de subprodutos, com destaque para os grupos carbonilas. Quando associado às cisões moleculares, poderão causar mudanças físicas no material perceptíveis, como amarelamento, fissuramento, fragilização, migração de aditivos, entre outras (Fechine, 1998; Dupret, David & Daro, 2000).

A degradação pode ser classificada em superficial e estrutural. Na superficial, ocorre uma alteração física principalmente no aspecto visual do material polimérico, com destaque na sua cor, já na degradação estrutural, ocorre alterações das propriedades mecânicas, térmicas, elétricas, comprometendo o desempenho estrutural do material polimérico (Rabello, 2000; De Paoli, 2008).

Além das mudanças nas propriedades físicas do polímero a degradação pode causar reações químicas estruturais, caracterizada pela cisão da cadeia principal do polímero, ou ainda ocorrer com cisão de ligações e formação de ligações cruzadas. Na degradação com cisão e formação de ligações cruzadas, pode ocorrer substituição ou eliminação de grupos laterais e reações entre os próprios grupos laterais. Na degradação com cisão da cadeia principal do polímero, ocorre uma redução drástica da massa molecular média das cadeias poliméricas, que acontece de forma aleatória ou de forma inversa ao processo de polimerização, denominado despolimerização, tendo como resultado a fragilização do polímero (Rabello, 2000). Segundo Kelen (1983):

[...] os tipos de agentes ou fatores causadores da degradação, podem ser classificados como: químicos, físicos e biológicos. Na degradação física, os agentes podem ser: radiação solar, radiações ionizantes, temperatura, etc. A degradação química é produzida por agentes como a água, os ácidos, as bases, os solventes e outros produtos químicos, como o oxigênio, o ozônio ou ainda poluentes atmosféricos. Os agentes de degradação biológica são micro-organismos, como fungos e bactérias que atacam os polímeros, e conseqüentemente alteram suas propriedades. Em relação aos processos responsáveis pela degradação dos polímeros, a classificação das reações de degradação é separada nos seguintes tipos principais: degradação térmica, degradação mecânica, degradação termomecânica, degradação química (incluindo oxidação), termo-oxidação, degradação mecano-química, fotodegradação, degradação radiolítica, foto-oxidação, biodegradação e foto-biodegradação. O processo de degradação de um material polimérico pode, portanto, ser causado por um ou mais agentes, tornando-se, dessa forma, mais complexo.

O silicone empregado nas próteses faciais poderá sofrer degradação e alterações em suas propriedades sob condições ambientais. Vários fatores são responsáveis pela deterioração física e química dos polímeros, quer individualmente ou combinados – luz, temperatura e umidade – são considerados uma ameaça tripla para polímeros. De forma isolada, qualquer um desses fatores pode causar danos, no entanto, combinados, eles agem sinergicamente e causam mais danos ao polímero. Esse fenômeno leva à perda de brilho, cor, fissuras e degradação. Materiais nestas condições perdem a sua resistência à tração e resistência ao rasgamento assim como um aumento da rigidez e dureza. A degradação do material, assim como a perda de corantes e pigmentos neles inseridos, também ocorrem sob a luz solar através de janelas (Callister, 2002).

A principal causa de degradação do material é a exposição à radiação UV da luz solar. A fotooxidação de polímeros ocorre devido à absorção da radiação que resulta em alterações físicas e químicas (Cowie, 1991). A energia da luz solar ativa a formação de radicais livres pela dissociação de ligações de hidrocarbonetos dentro da cadeia de polímero (De Paoli, 2008).

O efeito da luz UV afeta sobretudo a camada superficial, provocando menos reações nas camadas mais profundas. Os radicais livres de oxigênio utilizam a superfície onde existe a troca entre a luz ultravioleta e a difusão de oxigênio promovendo a reação. A presença de calor é um fator determinante da cinética desta reação. Outros fatores do intemperismo, como calor, umidade e poluição do ar podem facilitar o efeito da radiação UV da luz solar sobre as propriedades mecânicas, acelerando o processo de envelhecimento dos polímeros (Wiles *et al*, 2006; Shah *et al*, 2008)

A degradação ou alteração das propriedades de um polímero é resultante de reações químicas de diversos tipos, que podem ser intramoleculares ou intermoleculares. Pode ser um processo de despolimerização, de oxidação, de reticulação ou de cisão de ligações químicas. A degradação pode ser causada por eventos diferentes, a depender do material, da forma de processamento e do seu uso (Haug *et al*, 1999).

A presença do oxigênio durante a irradiação na maioria dos polímeros, pode funcionar como um agente desencadeante da cisão das cadeias, mesmo aqueles que reticulam em ambientes inertes. A cisão de cadeias que pode ser seguida pela formação de ligações cruzadas (reticulação), quando o processo ocorre na ausência de oxigênio, pode ocorrer uma recombinação. Na presença de oxigênio, ocorrem reações em cadeia devido à difusão superficial do oxigênio, podendo ocorrer a formação de produtos oxigenados (Kausch, 2003). A presença de grupos laterais aromáticos aumenta a resistência do polímero à radiação, pois a estrutura eletrônica deslocada do grupo lateral aromático pode absorver grande quantidade de energia antes de a ligação ser rompida (BURLANT; NEERMAN e SERMENT, 1962).

Takamata, Moore e Chalian (1989) avaliaram a estabilidade de cor de um silicone HTV e de um RTV, para uso em prótese facial, quando não pigmentado. Foram comparados os efeitos de seis meses de amostras de silicone submetidas à exposição à temperatura ambiente em um quarto escuro e seco com amostras submetidas a seis meses de exposição ambiental. Os autores observaram que os

dois grupos apresentaram perda da cor ao final do estudo. Os resultados indicaram que a luz do sol e o meio ambiente podem não ser os responsáveis pela alteração de cor e necessidade da troca da prótese.

Han *et al*, 2008) conduziram um estudo para avaliar o efeito de diferentes concentrações de óxidos de partículas nanométricas de várias composições sobre as propriedades mecânicas de um elastômero de silicone disponível comercialmente. Óxidos nanométricos (Ti, Zn, ou Ce) foram adicionados em várias concentrações (0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, ou 3,0% em peso) de um elastômero de silicone comercial (A -2186), utilizados para a fabricação de próteses extra-oral maxilofacial. O elastômero de silicone A-2186 sem óxidos nanométricos serviram como grupo de controle. As amostras (n = 5) foram polimerizadas de acordo com as recomendações do fabricante e testadas para resistência à tração, ao rasgamento e alongamento percentual em uma máquina universal de ensaios. Os espécimes de elastômero com e sem nanopartículas após processados foram avaliados usando microscopia eletrônica de varredura. Para cada propriedade dois testes ANOVA foram realizados avaliando o efeito do tipo e força de óxido, o teste PLSD de Fisher foi utilizado para as duplas comparações ($\alpha = 0,05$). A análise através do MEV, indicaram que todos os três óxidos nanométricos foram distribuídos uniformemente nos espécimes de silicone, exceto para o grupo de 3,0%, que são, em parte, aglomeradas. Os grupos de 2,0% e 2,5% de todos os óxidos nanométricos demonstraram maior significância nos testes de tração e alongamento ($P < 0,001$) do que o grupo controle. CeO_2 teve índices de resistência à tração significativamente mais baixos do que o TiO_2 e ZnO ($P < 0,05$). Os autores concluíram que a incorporação de Ti, Zn, ou Ce nano-óxidos, em concentrações de 2,0% e 2,5% do total, melhorou as propriedades mecânicas do silicone elastomérico para prótese maxilofacial A-2186.

Han *et al* (2013) realizaram um estudo para avaliar o efeito de três opacificadores na absorção de raios ultravioletas em um silicone para prótese facial pigmentado, bem como a estabilidade de cor após envelhecimento artificial. Três tipos diferentes de opacificadores (LP- Protetor de Luz, Pigmento branco de titânio seco TW, ou de silicone branco SW foram adicionados ao silicone MDX-4210 / tipo A em concentrações de 5%, 10% e 15%. Cinco grupos foram formados, sendo um grupo controle (sem pigmento) e os demais grupos com pigmentos vermelho, azul, amarelo e pigmentos misturados. Os opacificadores LP e TW foram utilizados nos

pigmentos de óleo artístico, ao passo que o pigmento silicone branco SW foi usado intrinsecamente no silicone MDX-4210. Os autores concluíram que, na avaliação da estabilidade de cor antes e após o envelhecimento, os grupos pigmentados com LP a 5% e 10%, apresentaram menor mudança de cor.

A temperatura poderá ser o fator benéfico para melhorar a resistência ao rasgamento, contudo, após a polimerização do silicone, a exposição não controlada à temperatura, associada a outros fenômenos físicos e químicos, poderão resultar na degradação do silicone e redução da sua vida útil.

A adição de pequenas quantidades de antioxidantes (<1%), é eficiente para evitar ou minimizar a degradação de diversos polímeros e este efeito é função tanto da natureza química do aditivo, quanto da sua mobilidade no polímero, ou seja, da sua capacidade de difusão. Antioxidantes podem ser classificados como primários ou secundários e podem ser utilizados isoladamente ou em conjunto. A escolha do tipo e teor de antioxidante a ser empregado depende da natureza química do polímero, do emprego de outros aditivos e das condições de processamento e uso do artefato produzido (Rabello, 2.000; De Paoli, 2008).

Materiais poliméricos são menos resistentes termicamente do que os materiais cerâmicos ou metálicos e, seguidamente sofrem degradação durante o seu processamento, estocagem e durante o seu uso. A degradação dos polímeros provoca alterações em sua estrutura e essas alterações podem ser monitoradas através de vários ensaios como sorção, biodegradação e envelhecimento acelerado, seguido de técnicas experimentais que avaliam tanto a superfície do material como a sua estrutura. Dentre as muitas técnicas de caracterização já estudadas e aplicadas em acompanhamento de degradação de polímeros as mais comuns incluem análises espectroscópicas (FTIR, MEV, MO) e análises térmicas (DSC, i-DSC, DTA, i-DTA, TGA, TMA, DMTA). Além da avaliação das propriedades mecânicas através da Dureza Shore A, Resistência ao Rasgamento e Resistência à Tração.

2.5 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL

Todo biomaterial que for selecionado para ser usado em mamíferos em pesquisas, para reabilitação, para recuperação da saúde ou até mesmo por razões estéticas deve, em primeiro lugar, ser avaliado quanto aos efeitos citotóxicos *in vitro*. Estudos laboratoriais se tornam essenciais, tendo em vista que as formulações dos

biomateriais podem sofrer alterações ou adaptações para atender a diferentes necessidades de uma população (Santos, 2008).

A implantação de testes *in vitro*, voltados para a avaliação de substâncias tóxicas em materiais de uso humano, resulta na garantia da saúde da população, respeitando os princípios da bioética, bem como aos protocolos exigidos pelos comitês de ética e pesquisa em seres humanos em âmbito nacional e internacional (Cruz, 2003).

A pele, assim como o tecido conjuntivo, poderá entrar em contato com diferentes materiais, de modo que a interação entre os dois pode ser benéfica ou nociva a depender do tipo de manifestações e do período de utilização. Sendo assim, os materiais e ou substâncias podem apresentar três tipos de riscos, reação local do tipo irritativa, reação imunológica do tipo alérgica e efeito sistêmico consecutivo a uma penetração transcutânea ou transmucosa. Para avaliar esses riscos, testes de segurança são realizados para verificar a ausência de irritação, além da sensibilização, fototoxicidade e fotoalergia, entre outras manifestações (Cruz, 2003; Beny, 2.000; Nunes, 2.000).

Os silicones indicados para a confecção de próteses faciais podem ser empregados com a incorporação de aditivos do tipo pigmentos intrínsecos e extrínsecos. Embora a citotoxicidade seja reportada pelo fabricante na informação do produto, a avaliação da citotoxicidade do silicone medicinal, tanto em estado natural como incorporado com pigmentos orgânicos ou inorgânicos deve ser o primeiro passo a ser realizado antes que sejam utilizados em seres humanos.

2.5.1 Ensaio de Citotoxicidade

A perfeita reconstituição de partes comprometidas após acidentes, doenças ou deformidades congênitas, se constitui num dos principais desafios da ciência moderna na obtenção de materiais que não apresentem nenhum potencial tóxico. Há muito tempo o homem utiliza materiais naturais ou sintéticos na tentativa de substituir órgãos ou tecidos perdidos ou deteriorados na intenção de melhorar a qualidade de vida ou aumentar a longevidade. O crescente estudo na área de biocompatibilidade dos materiais odontológicos é uma necessidade em função da capacidade de provocarem alterações da atividade biológica nos tecidos envolvidos.

Esse fato é uma tendência observada na ciência dos materiais médicos-odontológicos, e de ser gradativamente substituída pela ciência dos biomateriais.

Para Silva (2014), apesar de o corpo humano ser um sistema complexo e eficiente, algumas vezes pode necessitar de reparos em função de algum tipo de enfermidade ou acidente, sendo necessária a utilização de um biomaterial.

Um dos materiais mais indicados para a substituição ou reposição de partes ausentes ou perdidas do corpo humano são os silicones polidimetilsiloxanos (PDMS). Suas características inertes são as principais razões para serem indicados na substituição de mama, cirurgia plástica reparadora e estética, na reconstrução de tecidos (Pittet *et al*, 2005). Na área da odontologia, especificamente na prótese bucomaxilofacial, o silicone é empregado para a reconstrução da face através das próteses auriculares, nasais e óculo-palpebrais, além das próteses complexas que podem envolver o lábio.

O silicone para prótese facial deve ser um material biocompatível e durável, além de apresentar boa estabilidade de cor (Gunay *et al*, 2008; Anusavice, 2004). A coloração do silicones para prótese facial é realizada empregando-se pigmentos que podem ser classificados em orgânico ou inorgânico, e sua apresentação pode ocorrer na forma pura ou diluída em veículos à base de água ou óleo. Os pigmentos desempenham um importante papel na cor das próteses faciais, na busca da similaridade da prótese com os tecidos conexos. Diferentes autores, como Tarantili *et al* (2000); Kiat-Amnuay *et al* (2005) ressaltam que os materiais empregados na confecção das próteses devem ser compatíveis com os tecidos humanos, não podem causar irritação, inflamação ou efeitos carcinogênicos.

A prótese facial instalada sobre os tecidos em prolongados períodos de tempo pode absorver o suor e sebo. Se estas substâncias forem absorvidas podem causar alterações na estrutura do elastômero, o que poderá resultar na degradação da prótese dentro de um período inferior a dois anos (Mancuso *et al*, 2009; Anusavice, (2004). A longevidade reduzida da prótese deve ser investigada tanto quanto os efeitos citotóxicos que os materiais podem causar para a saúde do portador.

Os testes de citotoxicidade e biocompatibilidade são citados como requisitos fundamentais, pois o fenômeno de citotoxicidade depende de diferentes fatores, como o potencial de toxicidade do material, tempo de exposição, bem como a concentração de aditivos e ou pigmentos. Embora a segurança biológica dos

materiais para próteses faciais e dos pigmentos de vários fabricantes tenham sido aprovados separadamente antes de suas aplicações, ainda existem preocupações sobre os perigos e citotoxicidade que esses materiais podem causar. Além desse fato, poucos estudos têm sido relatados em relação aos efeitos dos pigmentos nas propriedades citotóxicas do silicone destinado à confecção de próteses faciais (Sethi; Kheur, 2012; Tayel; Alammari, 2014).

No teste de citotoxicidade *in vitro*, um material não pode ocasionar a morte das células nem afetar as suas funções celulares. Os efeitos citotóxicos quando provocam danos celulares intensos podem comprometer a viabilidade celular perturbando a integridade estrutural e/ou metabólica das células, bem como a sua integridade reprodutiva, o que provoca uma série de efeitos destrutivos. As técnicas de cultura celular podem detectar a ocorrência de lise das células de inibição do crescimento celular e de outros efeitos que nelas podem ser desencadeados, e que resultam dos efeitos citotóxicos do material (Daguano *et al*, 2007).

Diferentes respostas podem ser desencadeadas pelo organismo como a reação alérgica, inflamatória e mutatória. A reação alérgica é uma resposta exagerada do organismo a um determinado antígeno (alérgeno); assim, ele poderá reagir desproporcionalmente a um material presente. O sistema imunológico libera, durante sua atuação de defesa, macrófagos ou monócitos e linfócitos T e B; trata-se de uma resposta antígeno-anticorpo específico para alguns indivíduos, que resulta, histologicamente, em uma resposta inflamatória que pode ser difícil de diferenciar de uma inflamação não alérgica ou toxicidade de baixo grau (Reis, 2009; Anusavice, 2005).

Quando um processo inflamatório é instalado, a região atingida fica avermelhada devido a um aumento do fluxo de sangue e demais líquidos corporais migrados para o local, podendo potencializar os efeitos citotóxicos quando o material permanece por longos períodos no organismo. A inflamação crônica poderá desencadear mutações celulares.

Agentes mutagênicos agem quando uma célula é exposta a um deles, que podem ser de natureza física, química ou biológica. Mutações são alterações que ocorrem no material genético, podendo ser espontâneas ou induzidas. As reações mutagênicas ocorrem quando os componentes de um material alteram a sequência de pares de bases do DNA na célula. Podem ser causadas pelas interações diretas entre uma substância e o DNA ou, indiretamente, pelas alterações nos processos

celulares que mantêm a integridade do DNA. Segundo Reis (2009) e Anusavice (2005), os materiais odontológicos podem apresentar efeitos citotóxicos para o organismo, como os íons metálicos, tais como níquel, cobre e berílio, bem como os polímeros. Diferentes reações podem ocorrer no organismo, incluindo reações mutagênicas. Entretanto, os autores ressaltam que as respostas ocasionadas pelos materiais dentários de uso direto são, na maioria dos casos, de ordem local, sem comprometimento sistêmico.

Para estudar esse fenômeno, Tayel e Alammari (2014) avaliaram *in vitro* a citotoxicidade do silicone M511 pigmentado, após a imersão dos corpos de prova em soluções ácidas, alcalina e em sebo, sob condição de armazenamento por um período de seis meses a 37°C. O teste de citotoxicidade foi feito usando WST-1 assay e hMSCs em 24 e 72h de incubação. Os resultados revelaram que os grupos experimentais apresentaram um aumento significativo nas taxas de sobrevivência das células em 24 e 72 horas em todos os grupos. Quando comparados os tempos entre as 24 e 72 horas no grupo no qual os corpos de prova foram imersos em sebo, observou-se que havia uma significativa diminuição nas taxas de sobrevivência celular. Os autores concluíram que o hMSCs é recomendado para uma melhor triagem do efeito citotóxico do silicone Cosmesil, e que através desse método constataram que o silicone estudado em estado natural e pigmentado não teve efeito citotóxico em solução alcalina e ácida, ao passo que mostraram biocompatibilidade mínima no sebo.

Estudos experimentais para a avaliação da biocompatibilidade de um material tornam-se imprescindíveis e devem ser realizados através de testes *in vitro*, cujo objetivo seja o de estimular a reação biológica de células ou tecidos quando em contato com determinados materiais em ambiente laboratorial, de modo a serem evitadas surpresas quando do seu emprego na clínica.

Para Souza *et al* (2006), os métodos *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como poder limitar o número de variáveis experimentais, obter dados significativos mais facilmente, além de o período de teste ser mais curto em muitos casos. O problema da extrapolação dos dados obtidos *in vitro* para a aplicação clínica dos biomateriais pode ser superado na escolha de adequados materiais de referência. Além deste enfoque, resultados de pesquisas realizadas *in vitro* com diferentes métodos demonstraram que os testes com culturas celulares podem ser utilizados com sucesso, pois são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e

financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade de biomateriais na área da saúde (Rajan; Ghamdi, 2014).

As normas de segurança para a utilização dos materiais biomédicos é regulamentada pelo documento ISO 10993. Este documento está dividido em 20 partes. As normas da ISO 10993-5 (2009) definem a avaliação quantitativa e qualitativa da citotoxicidade através de três categorias de testes *in vitro*: teste de extrato, teste de contato direto e teste de contato indireto. Os testes de extrato e de contato direto possibilitam a avaliação qualitativa e quantitativa da citotoxicidade dos materiais ou da viabilidade das células quando em contato com os materiais. O teste de contato indireto permite apenas a avaliação qualitativa da citotoxicidade. Substâncias-teste, em ensaios *in vitro*, classificam os resultados nas seguintes categorias: Não-Citotóxica (NT; Levemente Citotóxica (LT; Moderadamente Citotóxica (MT; Severamente Citotóxica (ST) (ISO 10993-5, 2009).

Os estudos de citotoxicidade se baseiam nos parâmetros relacionados às funções celulares basais. A avaliação refere-se a citotoxicidade basal que afeta as estruturas e funções comuns a todas às células do organismo, como membrana celular, mitocôndria, ribossomos, cromossomos e lisossomos (Barile, 1994).

Os parâmetros normalmente especificam a linhagem celular, o meio de cultura e as técnicas para a avaliação da citotoxicidade. De acordo com a ISO 10993-5 (2009), a utilização de células de linhagens permanentes para a realização de ensaios de citotoxicidade, visa a padronizar os ensaios, o que permite a sua reprodutibilidade. As linhagens celulares usadas para cultura em estudos *in vitro* são adquiridas de linhagem estabelecidas e fornecidas por bancos celulares; a Norma recomenda algumas linhagens celulares permanentes da “American Type Culture Collection” (ATCC): L-929, Balb/c 3T3, MRC-5, WI-38, Vero, BHK-21 e V-79. .

Todos os protocolos padrões preveem a utilização e especificam materiais a serem utilizados como controles positivo e negativo. O ensaio de MTT se caracteriza como um ensaio colorimétrico padrão para mensurar a proliferação celular. É aplicado para avaliar o potencial da citotoxicidade de um agente medicamentoso ou de outros materiais tóxicos. Os resultados são obtidos do contato direto de células cultivadas sobre a superfície das películas, ou as células cultivadas e expostas ao meio de extração dos biomateriais testados. A viabilidade celular é expressa por meio de uma porcentagem de células vivas do material testado versus a porcentagem de células do controle positivo de citotoxicidade (Castro *et al*, 2004;

Giroto *et al*, 2003; Cárdenas *et al*, 2008). O controle positivo é uma substância que apresenta efeito citotóxico de maneira reprodutível e controle negativo é o material ou substância que não produza efeito citotóxico.

Os testes de citotoxicidade *in vitro* apresentam um custo relativamente baixo e determinam, de maneira preliminar, os possíveis efeitos citotóxicos de um determinado material e ou de seus componentes isolados sobre as células. Se caracterizam por serem padronizados em cultura de células, são facilmente reproduzidos, apresentam resultados rápidos e bastante sensíveis, além de possibilitarem o controle da maior parte das variáveis, determinando a necessidade de dar continuidade na avaliação nos demais níveis de pesquisa, podendo reduzir a necessidade de testes em animais, além da diminuição da dor e sofrimento que os testes *in vivo* causam (Costa; Huck, 2006; Valadares 2006; Vieira 2009; OECD 2010). Outra vantagem é que o método não utiliza elementos radioativos, com leitura rápida (Góes *et al*, 2006).

Para Coecke *et al* (2006), a maior limitação dos testes *in vitro* consiste na metabolização dos compostos originais que ocorre nos organismos vivos. A transposição desta limitação torna os testes *in vitro* mais confiáveis para a determinação do perfil toxicológico na busca de novos compostos.

Segundo Zucco *et al* (2004), o conhecimento da ação metabólica no início dos testes toxicológicos é primordial para a determinação do perfil farmacológico e toxicológico de novos compostos químicos estranhos ao organismo humano.

Diferentes métodos *in vitro* podem ser utilizados para a avaliação da citotoxicidade, como o teste do corante vermelho neutro, o teste de redução do brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) ou o teste de liberação de enzimas citoplasmáticas como a lactato desidrogenase (LDH). Alguns dos mais importantes testes que apresentam informação sobre diferentes funções celulares são o teste do MTT e o teste do vermelho neutro, que é considerado um dos mais aplicados (Kroll *et al*, 2009; Vicente, 2012).

Barbosa e Fook (2014) afirmam que, devido à existência de metodologias variadas, é importante a realização de ensaios de citotoxicidade, por diferentes métodos; ressaltam, também, que são necessárias comparações entre eles. Os autores realizaram uma pesquisa com o objetivo de comparar testes de citotoxicidade pelo método de contato direto e indireto em elastômeros de próteses mamárias de silicone visando a melhorar o embasamento teórico na escolha do

teste para a obtenção de uma maior confiabilidade nos resultados. A preparação das amostras e a realização de testes de citotoxicidade foram baseados nas normas que regem a avaliação biológica de dispositivos médicos: ISO 10993. A análise microscópica mostrou diferenças entre topografia interna e externa das membranas. Os resultados revelaram que o teste de viabilidade celular de macrófagos pelo método de MTT mostraram que as membranas são biocompatíveis e, por conseguinte, está dentro das normas empregadas.

Além de a utilização do ensaio de MTT ser um teste rápido, de fácil aplicação e sensível, por meio da leitura da absorbância realizada pelo espectrofotômetro, por meio dele é possível, quantitativamente, a viabilidade celular. Para confirmar a eficácia do teste, Kim *et al* (2007) empregaram o método do corante brometo de 3-(4,5 dimetil-tiazol-2il)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT) para verificação da viabilidade de células de ligamento periodontal, após a reimplantação de dentes em ratos fêmeas. O MTT vem sendo utilizado para testes de citotoxicidade em cultura de células, avaliando o metabolismo mitocondrial delas. Para esses autores este é um teste rápido, de alta eficácia, fácil manipulação e fornece imediatamente a quantidade e identificação de células viáveis.

Para Marques (2002), o ensaio MTT possibilita verificar a quantidade de células que se fixaram na superfície do material, esse método permite fazer uma análise quantitativa, para tanto, avaliou a viabilidade celular de polímeros biodegradáveis à base de amido com o objetivo de examinar a citotoxicidade. O ensaio de MTT foi realizado com os extratos dos materiais a fim de avaliar o efeito de curto prazo da degradação dos produtos. A morfologia das células L929 de rato de linha celular de fibroblastos foi analisada após contato direto com polímeros e compósitos para diferentes períodos de tempo e o número de células aderidas à superfície dos polímeros foi determinado por quantificação do citosólica lactato desidrogenase (LDH). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram que a propagação das células foram muito mais sobre o polímero SCA e as medições LDH apresentaram-se em maior número de células nesta superfície.

Granato *et al* (2009), avaliaram a citotoxicidade de membranas de glutaraldeído e glutaraldeído + quitosana em cultura de células, através do ensaio de MTT. As membranas foram adicionadas e incubadas com linhagem celular L929 e avaliadas através da densidade óptica nos períodos de 24 e 48 horas. Os resultados obtidos demonstraram que as amostras com 0,5% e 1,0% de glutaraldeído, não

proporcionaram citotoxicidade para as células se comparadas ao látex, havendo apenas uma redução não significativa da população com relação ao grupo só de células. Na amostra de 0,5% de glutaraldeído + quitosana encontrou-se resultados pouco diferentes da amostra de 0,5% de glutaraldeído. Na amostra de 1% de glutaraldeído + quitosana foram encontrados os valores mais baixos em termos de propagação celular, nos períodos de 24 e 48 horas. Esses resultados indicaram que a amostra de 0,5% de glutaraldeído + quitosana poderia ser utilizada como biomaterial.

Oliveira (2009) realizou uma pesquisa para avaliar a citotoxicidade dos extratos dos Equivalentes de Pele Humana (EPH) Veloderm® e Biopiel® no cultivo de fibroblastos da linhagem celular NIH-3T3, através do teste colorimétrico de MTT e classificação dos extratos puros dos EPH através de escala de citotoxicidade, de acordo com as normas da ISO 10993, por 24, 48, e 72 horas para a determinação do grau de citotoxicidade das substâncias-teste quando comparadas ao controle de positivo (CP) e negativo de citotoxicidade (CN), através do teste de MTT. Os resultados sugeriram alta biocompatibilidade de ambos os extratos de EPHs testados; entretanto, o teste colorimétrico de MTT representa uma avaliação inicial, sendo importante seu papel na racionalização da experimentação *in vivo* e clínica dos biomateriais. O autor ressaltou que a hipótese precisa ser confirmada com testes complementares segundo normas da ISO 10993.

Oliveira (2011) investigou a citotoxicidade e a genotoxicidade de quatro cimentos endodônticos: AH Plus (Dentsply De Trey, Alemanha; Endo Rez (Ultradent, USA; RoekoSeal (Coltene Whaledent, Alemanha) e o Cimento experimental à base de óleo-resina de Copaiba (Brasil). A avaliação foi realizada em três diferentes tempos após manipulação: 0h, 12h e 24h. Os espécimes foram preparados, deixados por 12 e 24h em estufa (37 °C a 100% umidade a 5% de CO₂) e colocados em contato com meio de cultura (82,4mm² superfície/ml) por 24 h. Células V79 foram expostas a diferentes diluições dos cimentos por 24 h e a viabilidade celular foi mensurada pelo teste de MTT em espectrofotômetro. Para o teste de genotoxicidade, os extratos que apresentaram concentrações de citototoxicidade média foram selecionados para o teste cometa após 24 h de exposição. A viabilidade celular e o dano ao DNA foram comparados aos grupos controles e analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($p < 0,05$). No teste de citotoxicidade, todos os cimentos apresentaram diferença significativa em relação ao

controle, com exceção do RoekoSeal. A viabilidade celular de acordo com o cimento utilizado pode ser classificada da maior toxicidade para a menor seguindo: EndoREZ >AH Plus > Copaíba > RoekoSeal. O dano ao DNA verificado no teste cometa pode ser classificado do maior para o menor em: EndoREZ >RoekoSeal > AH Plus > Copaíba. Os resultados revelaram que o cimento EndoREZ é citotóxico e genotóxico nos tempos e diluições estudadas.

Além dos efeitos diretos da citotoxicidade do PDMS sobre as células, outros estudos podem fazer uma interligação entre a hidrofobicidade, a adesão bacteriana nos efeitos da citotoxicidade dos silicones, como observado nos estudos de Ferreira *et al* (2013) que, revisando a literatura sobre próteses de voz confeccionada com polidimetilsiloxano (PDMS), constataram que esses dispositivos não eram removidos diariamente para a limpeza e permaneciam implantados no paciente durante um longo período de tempo (Chone *et al*, 2005). Apesar das excelentes propriedades, o PDMS favorecia, dada a sua característica hidrofóbica, a adsorção de proteínas seguida de adesão microbiana e a formação de biofilme. Os autores sugeriram uma modificação da superfície do silicone comercial, Sylgard™ 184. Trataram as superfícies das membranas com a enxertia de 2-hidroxietilo do ácido metacrílico em plasma de baixa pressão. Foram avaliadas as características hidrofílicas; a energia de superfície; a citotoxicidade e a atividade antibacteriana do material. Os resultados revelaram que a modificação da superfície do PDMS não afetou a biocompatibilidade do material, diminuiu seu caráter hidrofóbico, promoveu a adesão e o crescimento bacteriano na sua superfície do material.

A elevada hidrofobicidade de PDMS foi apontado como a principal causa de adsorção de quantidades significativas de proteínas a partir do ambiente biológico circundante, seguido por formação de aderências e biofilmes microbianos (Chen, 2004; Pawar, 2008)).

Rajan e Ghamdi (2014), propondo melhorar as propriedade mecânicas e a biocompatibilidade de um material polimérico, realizaram uma pesquisa com uma preparação de mistura de TPU e PDMS (80:20) incorporado com quantidades de um copolímero de etileno e acrilato de metilo (EMA), que foram avaliados nas variações de 0 a 10% do peso. As amostras preparadas foram caracterizadas morfologicamente pelo MEV, e as propriedades mecânicas de resistência à tração, módulo de elasticidade e alongamento também foram avaliadas. Eles concluíram que 2% em peso de EMA tornaram o material mais eficaz. Os ensaios de

biocompatibilidade *in vitro* foram realizados de acordo com ISO 10993-5, usando L929 de fibroblastos de rato linha de células de tecido conjuntivo subcutâneo. Os resultados revelaram que o material não produziu efeito citotóxico e que poderia ser desenvolvido para várias aplicações biomédicas.

Bal *et al* (2009) utilizaram o L-929 em células, utilizando o ensaio MTT, em períodos de 24, 48 e 72 horas para avaliar a citotoxicidade de três tipos de silicone utilizados em prótese maxilofacial submetidos ao envelhecimento acelerado. O efeito citotóxico das amostras de silicone analisadas neste estudo pode diferir de outros relatados na literatura, devido à variedade de métodos *in vitro* e culturas celulares utilizados. Discrepâncias, portanto, podem estar relacionadas às condições experimentais.

Santos (2008) avaliou a genotoxicidade e a antígenotoxicidade do urucum e da bixina sobre a toxicidade induzida pelo antitumoral cisplatina em culturas de células PC12. A citotoxicidade foi determinada pelo método do MTT, a frequência de danos cromossômicos pelo Teste do Micronúcleo e a extensão de danos primários ao DNA pelo Ensaio do Cometa. O urucum e a bixina foram avaliados preliminarmente quanto a sua genotoxicidade. O urucum nas concentrações 0,2, 0,5 e 1,0 mg/mL e a bixina nas concentrações 0,05, 0,08 e 0,10 mg/mL não foram citotóxicos e nem genotóxicos às células PC12. Embora o efeito protetor do urucum e da bixina não tenha sido evidente nos resultados obtidos pelo Ensaio do Cometa, eles se mostraram eficazes na inibição dos danos cromossômicos (Teste do Micronúcleo), apresentando proteção às células PC12 entre 66,4 e 76,7% e entre 50,8% e 74,6%, respectivamente. Dessa forma, os resultados indicam que o urucum e a bixina podem ser considerados agentes capazes de prevenir danos mutagênicos induzidos pela cisplatina *in vitro* e também poderiam ajudar na modulação do estresse oxidativo encontrado na quimioterapia com este fármaco, os autores ressaltaram ainda que mais estudos devem ser realizados para melhor entender os mecanismos envolvidos na atividade protetora desses agentes.

Tecnologias mais avançadas e testes mais complexos podem ser aplicados na determinação da viabilidade celular definindo a biocompatibilidade de um material. Diferentes métodos, como por exemplo, a marcação celular com cromo radioativo, a identificação do halo de inibição por contato direto material/célula, também podem ser empregados (Pascon *et al*, 2001; Cavalcanti *et al.*, 2005; Camargo *et al.*, 2009).

Independentemente da técnica escolhida, os estudos *in vitro* são essenciais na área da saúde, posto que é possível, através deles, observar efeitos de diferentes materiais sobre células para prevenir ou garantir o uso em organismos, dessa forma é possível a utilização dos materiais na vivência clínica com uma maior margem de segurança.

2.5.1 Ensaio de Envelhecimento Acelerado

Para o desenvolvimento de pesquisas laboratoriais, é necessário entender o comportamento do material polimérico em condição de aplicação para poder determinar seu desempenho ao longo de sua vida útil. Visando a esta necessidade, foram criados diferentes métodos de envelhecimento que padronizam, medem e informam, muitas vezes de forma acelerada, uma maneira que possa ter representatividade e repetibilidade das condições de aplicação dos materiais. Esses ensaios podem ser feitos em estações de exposição (envelhecimento ambiental) ou em laboratório (envelhecimento acelerado). A partir desses métodos de envelhecimento, pode-se determinar, em um tempo reduzido, a vida útil de um material qualquer para determinada exposição, informando se o material escolhido é adequado para tal aplicação.

O envelhecimento acelerado consiste em realizar a degradação do material de forma acelerada artificial possibilitando obter respostas de degradação térmica e fotoquímica ao material em tempo reduzido. A fonte de luz, artificialmente produzida, pode simular diferentes tipos de incidência solar, sendo esta direta ou indireta ou ainda filtrada por outros materiais, normalmente simulando a presença de um vidro entre a amostra e a luz solar. Juntamente ao ataque fotoquímico, a temperatura ambiente também pode ser maior para que se permita acelerar a cinética de degradação do material em questão.

A incidência de luz solar tem grande participação no aumento da cinética de degradação de polímeros conforme é mostrado no esquema expressado na Figura 9. O fóton fornece energia ao átomo levando-o a um estado de excitação eletrônica que, ao liberá-lo, pode dar início à quebra de ligações de menor energia (átomos alílicos, ligações secundárias, terciárias etc).

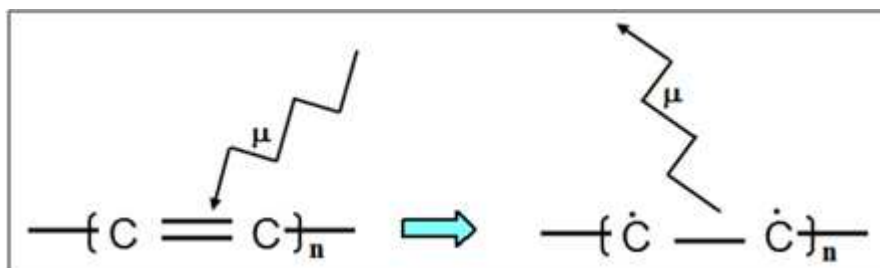


Figura 9 – Esquema-Fotodegradação de uma ligação dupla (Klein, 2009).

O sol emite um amplo espectro de luz onde, especificamente, a gama de menores comprimentos de onda são os maiores responsáveis pela degradação dos materiais poliméricos. As radiações UV-A (comprimento de onda de 400 a 315 nm) e UV-B (315 a 280 nm) são especialmente agressivas por possuírem tais comprimentos de onda. Os raios UV-C (abaixo de 280 nm) possuem um comprimento que normalmente não iniciam o processo de degradação para materiais poliméricos.

O ensaio de envelhecimento artificial acelerado pode simular diferentes tipos de exposições do material a luz natural ou artificial. A depender do tipo de aplicação, escolhe-se o mais apropriado para que a simulação tenha representatividade. Conforme a Figura 10, pode-se observar que a irradiação, a qual o material é submetido, pode variar conforme o ensaio escolhido. As indústrias automobilísticas e eletroeletrônicas geraram uma grande demanda para que fossem criados procedimentos para estudo de incidência de luz natural filtrada por vidros, o que comumente acontece em seus produtos durante seu tempo de vida.

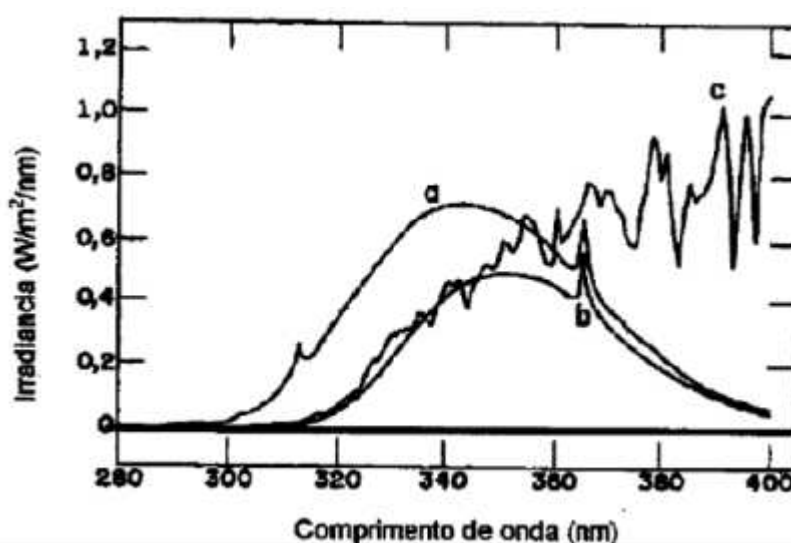


Figura 10 – Comparação dos espectros de onda: a) Lâmpada UV-A não Filtrada, b) UV-A filtrada com vidro e, c) luz solar filtrada com vidro (Saron, 2001).

Como se pode observar na Figura 11, as ondas que correspondem à faixa do UV-B são expressivamente mais agressivas ao polimérico quando esta é filtrada por vidro do que quando tem incidência direta no material.

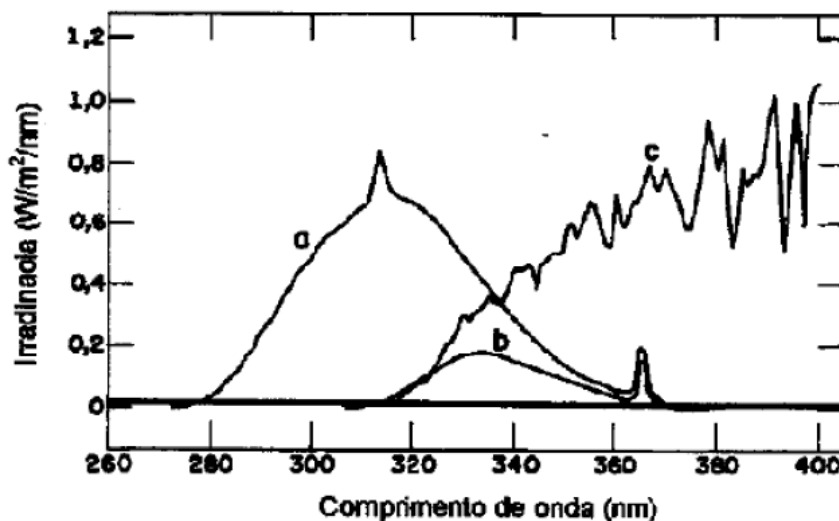


Figura 11 – Comparação dos espectros de onda: a) Lâmpada UV-B não Filtrada, b) UV-B filtrada com vidro e, c) luz solar filtrada com vidro (Saron, 2001).

Quando ocorre o envelhecimento, formam-se sítios ativos, devido à perda do radical metila ligado à cadeia principal (Hamdani *et al*, 2009). O radical metileno (CH₂) retorna à cadeia principal, recuperando a hidrofobicidade, conforme está representado na Figura 12.

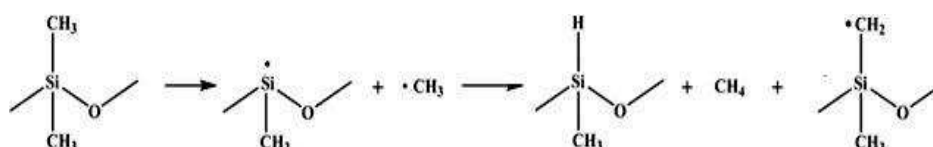


Figura 12 – Mecanismo da degradação térmica do silicone Fonte: Hamdani *et al*, (2009).

Para a realização do ensaio de envelhecimento acelerado, existem equipamentos apropriados que utilizam lâmpadas especiais capazes de liberar luz basicamente no comprimento de onda desejado, simulando diferentes condições conforme apresentado nas figuras anteriores. Esses ensaios são normalmente normatizados, atendo-se a pontos importantes como controle de potência das lâmpadas e temperatura ambiente no qual o material será exposto. Existem diversos estudos que procuram mensurar o tempo em que o material é exposto ao ensaio de envelhecimento acelerado com o tempo de envelhecimento natural, mas pode-se notar que esta informação é bastante variável, pois depende diretamente dos

diferentes tipos de aplicações, processamento e exigência requerida para a peça em questão (Saron, 2001).

2.5.3 Ensaio de Sorção

A degradação física que resulta na descoloração de um polímero, se inclui dentre os fatores que estão associados à limitação do uso das próteses indicadas para reabilitar pacientes com deformidades faciais. A exposição ambiental, a radiação ultravioleta (UV), a poluição do ar, e mudanças na umidade, são os principais fatores responsáveis pela degradação. A prótese facial poderá absorver suor e gorduras eliminados pela pele humana quando ela está em íntimo contato com os tecidos de sustentação, resultando dessa interação diferentes fenômenos, dentre eles a sorção. A sorção pode causar alterações na estrutura do silicone, resultando na sua deterioração, reduzindo o seu tempo de vida útil, sendo necessário a sua substituição. O suor eliminado pela glândulas sudoríparas que é uma solução levemente ácida e o pH da pele, em torno de 5,5, são citados como os principais elementos de degradação química do silicone para prótese facial (Al-Dharrab, 2013).

Mudanças na estrutura química dos polímeros podem ser causadas por agentes físicos, biológicos e/ou por agentes químicos. Dentre as modificações químicas causadas pela degradação, destacam-se as alterações no aspecto visual (coloração) e nas propriedades térmicas e mecânicas do material. A difusão de líquido na matriz orgânica pode provocar expansão hidroscópica, com aumento no seu volume e peso fato este que leva à perda de massa e redução das propriedades mecânicas do silicone. Gases e/ou líquidos podem ser incorporados em um material de um estado diferente ou ainda se aderirem à superfície de outra molécula. A sorção pode ocorrer pelo processo de absorção, que se caracteriza pela difusão das moléculas do meio em questão para dentro de um material, ou adsorção que é a adesão física ou ligação de íons e moléculas na superfície de outra molécula. Neste contexto, o material poderá ainda sofrer perda de moléculas caracterizando o processo inverso da sorção que é a dessorção. Para que o silicone possa ser considerado ideal, é necessário que apresente baixas taxas de sorção. O ensaio de sorção em água tem como objetivo avaliar o ganho de água e perda de componentes solúveis como plastificantes para o meio (Braden e Wright, 1983).

O silicone medicinal empregado na confecção de prótese facial está susceptível a sofrer diferentes agressões, ora pelas intempéries, ora pelas substâncias presentes no suor, bem como de micro-organismos, como bactérias e fungos presentes nos tecidos que estão em contato com a prótese (Goiato *et al*, 2009; Kiat-Amnuay, 2008).

A sorção de líquidos pelo silicone é um processo em que a substância pode provocar a degradação hidrolítica e reduzir as suas propriedades mecânicas. Diversos estudos relatam mudanças nas propriedades físicas que ocorrem em silicones medicinais empregados para prótese faciais sob a influência das mudanças de temperatura e umidade, incorporação de pigmentos, e sob a ação da desinfecção química, que poderá promover a sorção de diferentes substâncias (Goiato *et al*, 2009c; Guiotti & Goiato, 2003; Kiat-Amnuay *et al*, 2005; Mancuso *et al*, 2009b).

Castro em 2008, avaliou a resistência mecânica ao rasgamento de amostras de silicone MDX4-4210, após imersão em solução bioquimicamente compatível com o suor humano e exposição à névoa salina (Salt Spray Testing), saturada a 5% de cloreto de sódio, em períodos de exposição de 12, 36 e 72 horas. Foram considerados os resultados dos testes de 21 CPs, e os resultados revelaram, nos dois processos, que os valores relativos à resistência ao rasgo foram maiores que os do grupo controle. Foi considerado o processo de deterioração do silicone, onde os cristais das soluções alojam-se em poros superficiais, interpondo-se aos seus movimentos intrínsecos, promovendo perda das propriedades originais.

A prótese facial pode absorver saliva, suor e líquidos durante o uso pelo paciente ou ainda incorporar água durante o processo de lavagem. A sorção de líquidos pode afetar as propriedades físicas, incluindo a alteração da cor (Aziz, *et al.*, 2003)

No fenômeno de sorção de líquidos pelo silicone em ambiente aquoso, pode ser observado que os processos de difusão de líquido na matriz orgânica pode provocar expansão hidroscópica, com aumento no seu volume e peso levando à perda de massa e redução das propriedades mecânicas do material. Para Fang *et al* (2006), a absorção pode causar mudanças na estruturação de materiais, resultando na deterioração da prótese. O estudo das propriedades mecânicas relacionadas à sorção no silicone para confecção das próteses faciais são importantes, pois os ensaios são essenciais na determinação da durabilidade e qualidade das reabilitações.

Kawano *et al*, em 1994, observaram altos valores de sorção de água (1,27-35,65 mg/cm²), nos reembasadores à base de polímero, após um ano de imersão em água destilada. El Hadary & Drummond, em 2000, encontraram valores de sorção de água de 0,23% e 1,50% para reembasadores resilientes e processados em laboratório após seis semanas de armazenagem em água destilada.

Begum *et al* (2011) avaliaram as propriedades de resistência ao rasgamento e à tração, percentual de alongamento e dureza de três diferentes silicones para prótese facial, após submetidos aos ensaios de sorção de água. A pesagem foi realizada nos intervalos de 6, 12, 24, 36, 48 e 72 horas. Os resultados revelaram que a resistência ao rasgamento e à tração, à dureza e percentual de alongamento foram quase os mesmos para todos os materiais, e que os silicones disponíveis comercialmente, são materiais que possuem propriedades ideais para o uso em próteses faciais, mas dentro das limitações do estudo, os autores sugeriram que outros estudos fossem realizados em períodos de avaliação maiores.

Em 2013, outro importante estudo avaliou a sorção em água e a resistência ao rasgamento de dois silicones elastoméricos, o Cosmesil M511 e o silicone biomédico MP Sai Enterprises. Sessenta corpos de prova foram divididos igualmente em dois grupos-I e II. Grupo I e II foram ainda subdivididos em A, B, e C com 10 espécimes cada. Subgrupo A representado como o grupo controle sem corante, e os espécimes do subgrupo B e C, foram incorporados com pigmentos intrínsecos do próprio fabricante, o grupo B foi submetido aos ensaios de resistência ao rasgamento, o grupo C foi submetido ao ensaio de sorção e em seguida ao ensaio de resistência ao rasgamento. O grupo controle, Cosmesil M511, mostrou maior força no teste de rasgamento com média de $11,42 \pm 0,73$ em comparação com o grupo do silicone biomédico que foi de $6,64 \pm 0,70$. Os valores de resistência ao rasgamento aumentaram para os silicones após pigmentação intrínseca. Os autores concluíram que, embora o silicone Cosmesil M511 tenha apresentado maior sorção em água em comparação com os espécimes do silicone biomédico, eles apresentaram melhores valores de resistência ao rasgamento (Rai *et al*, 2013).

Al-Dharrab *et. al.*, 2013) realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito de três diferentes soluções com características ácidas, alcalinas e de sebo sobre as propriedades físicas de um silicone incorporado com pigmento intrínseco para prótese bucomaxilofacial (Cosmesil M511). As análises aconteceram antes e após a imersão das amostras nas diferentes soluções. As amostras foram imersas durante

seis meses à temperatura de 37°C. Avaliaram alterações de cor nos espécimes do grupo I, a absorção da solução no grupo II, a rugosidade da superfície no grupo III e a microscopia eletrônica de varredura no grupo IV. Não foram observadas mudanças significativas nos grupos I e II, ao passo que, no grupo III, houve mudanças significativas. As diferenças significativas entre o grupo controle e outros grupos experimentais foram confirmadas através da microscopia eletrônica de varredura. Os autores constataram que o Cosmesil é um material cuja formulação apresenta reticulação que resiste ao armazenamento em soluções diferentes com variável pH. Observaram, ainda, que a adição de pigmento não alteraram as propriedades físicas desses materiais. Os testes de rugosidade da superfície, bem como a microscopia eletrônica de varredura mostrou mudanças moderadas, indicando um efeito limitado das substâncias estudadas sobre a superfície do material.

Em um estudo comparativo entre os silicones Cosmesil M511, A 2186, Nusil e Biomed, Aziz *et al*, 2003 avaliaram as propriedades físicas deles após a imersão dos espécimes em água destilada durante 12 meses a 37°C. Constataram que o Cosmesil M511 teve maior absorção de água, ao passo que o A-2186 e o Nusil apresentaram insignificante sorção de água. O Cosmesil M511 apresentou menos absorção de água em comparação com o silicone Biomed. Os autores ressaltaram que o Cosmesil M511 é um tipo de silicone de adição, fato que pode ter influenciado nas respostas positivas dos ensaios ao contrário do Biomed, que é um silicone de cura por condensação.

Os silicones grau médico podem apresentar diferentes comportamentos quando submetidos a ambientes aquosos, a depender da estrutura de sua cadeia polimérica e do processo de cura deles. Os silicones do tipo adição apresentam cura sem formar qualquer subproduto, ao passo que os silicones tipo condensação formam subprodutos que são liberados da estrutura polimérica resultando em uma estrutura polimérica mais porosa do que nos silicone de cura por adição (Hulterstrom e Berglund, 2008). Outra justificativa para uma maior sorção de água pelo silicone de cura por condensação pode ser devido à presença de agentes hidrofílicos na superfície, bem como de agentes de enchimento de sílica presentes na matriz do polímero. A presença de grupos OH na superfície dos agentes de enchimento de sílica ajuda a absorver a água na matriz do polímero (Waters, et. al., 1996).

Segundo um estudo realizado por Ariani *et al* (2012), a degradação da superfície de próteses faciais estava relacionada às áreas das próteses em contato

com umidade dos tecidos da face. Para os autores a presença de poros dentro do silicone maxilofacial pode servir como locais de colonização de micro-organismos, principalmente em regiões em que a superfície da prótese está em contato com fluídos corporais. Concluíram que o aprisionamento de poros pode reduzir a estabilidade da cor da prótese.

2.5.4 Ensaio de Biodegradação Enzimática

Enzimas são substâncias orgânicas específicas, compostas por aminoácidos, que atuam como catalisadores no metabolismo dos seres vivos. Sua natureza normalmente é proteica, com atividade intra ou extracelular. A capacidade catalítica das enzimas torna fundamental a sua aplicação em pesquisas *in vivo* e *in vitro* nas diferentes áreas (Wikipedia, 2015)

Para Rosa e Filho (2003), ensaios de biodegradação empregando enzimas puras e isoladas, de forma direta, evitando o uso de microrganismos, servem como instrumento para a comparação rápida da degradação de polímeros de estruturas similares. Os efeitos da degradação são observados quando ocorre a perda das propriedades físicas do material. Este processo é geralmente caracterizado pela cisão das cadeias poliméricas, podendo ocorrer uma quebra da estrutura no retículo cristalino.

Chandra e Rustgi (1998) ressaltam que o mecanismo de degradação através da via enzimática se caracteriza pela hidrólise de ligações peptídicas e outras que catalisam a hidrólise de ligações éster seguida pela oxidação biológica das cadeias poliméricas (catalisada pelas oxigenases), com a quebra delas, são geradas cadeias menores, de modo que ocorre a bioassimilação destas pelos microrganismos. Segundo Franchetti e Marconato (2006) a degradação segue uma sequência na qual o polímero é primeiro convertido em monômeros, seguido da mineralização dos monômeros. A degradação enzimática dos polímeros é determinada pela relação entre propriedades e estruturas.

Devido as suas características, grande parte dos polímeros devem ser, primeiro, despolimerizados em monômeros pequenos antes de serem absorvidos e biodegradados no interior das células microbianas, por serem grandes para passar através das membranas celulares (Swift, 1997).

Através da aplicação de ensaios de degradação por via enzimática, é possível avaliar o potencial catalisador que a enzima exerce no substrato promovendo a quebra da integridade física da estrutura do polímero.

A ação enzimática no substrato poderá levar à perda de massa, tornando-o poroso, facilitando o ataque por microrganismos e incorporação de oxigênio, aumentando a degradação do polímero por vias biológicas e oxidativas (Huang *et al*, 1990).

Embora determinados materiais como alguns polímeros sejam pobremente, ou não sejam hidrolisados/degradados por enzimas microbianas, como, por exemplo, o poliuretano, cloreto de polivinila e a poliamida, eles são sujeitos à biodeterioração microbiana (Shimao, 2001; Howard, 2002; Szostak-Kotowa, 2004; Shah *et al*, 2008). A vulnerabilidade microbiana destes polímeros é atribuída à biossíntese de enzimas como as lipases, esterases, ureases e proteases (Flemming, 1998; Lugauskas *et al*, 2003). As enzimas envolvidas na biodegradação requerem a presença de cofatores como os cátions presentes na matriz do material e coenzimas sintetizadas por microrganismos, resultando na quebra das ligações da cadeia principal (Pelmont, 2005).

A biodegradação é considerada um tipo de degradação que envolve atividade biológica e se caracteriza como um processo irreversível, que provoca uma significativa mudança na estrutura do material pela fragmentação e alteração na massa molar, com comprometimento da sua integridade estrutural e consequente perda de suas propriedades físicas e mecânicas (Krzan *et al*, 2006; De Paoli, 2008).

Os polímeros apresentam características, como as de absorver líquidos, inchar, e lixiviar produtos indesejáveis (Ramakrishna, 2001). Diferentes fatores influenciam a degradabilidade de materiais poliméricos, como a estrutura do material, a presença da população microbiana capaz de degradá-los e as condições ambientais apropriadas ao crescimento microbiano (Krzan *et al*, 2006). A ação de micro-organismos no material polimérico depende, além das propriedades químicas e físicas dos materiais, das especificidades dos micro-organismos sob as condições ambientais (Gu, 2003).

A biodegradação de um polímero pode ser caracterizada por qualquer reação química destrutiva e progressiva de um material, resultante da assimilação de microrganismos e da ação de enzimas, podendo ocasionar a ruptura de ligações da cadeia, redução da massa molar média do polímero, ou ainda, pela formação de

elementos de baixa massa molar, se caracterizando principalmente por defeitos superficiais, incluindo o aspecto visual. A degradação pode ocorrer por um dos mecanismos anteriores ou da sua combinação, resultando na perda de sua resistência mecânica (Aminabhavi; Balundgi, 1990; Agnelli, 2000; Wake, 1998).

Segundo Bertolini (2007), o processo de biodegradação se caracteriza pela quebra de ligações poliméricas em decorrência de uma atividade biológica que ocorre de forma natural por ação enzimática. Pode ocorrer de forma aeróbica através da liberação de CO₂ e de forma anaeróbica, com a liberação de CH₄, ou seja, pela ação microbiológica sobre determinado material, resultando na liberação de biogases, quando o polímero está em um ambiente biologicamente favorável.

A biodegradação de um material ocorre quando ele é usado como nutriente por um determinado conjunto de micro-organismos como bactérias, fungos e algas (Rosa e Pantano Filho, 2003; Hadad *et al*, 2005; Oréfice *et al*, 2006; De Paoli, 2008). A decomposição do polímero gera compostos mais simples que são redistribuídos em ciclos de nitrogênio, enxofre, metano e principalmente em dióxido de carbono e água, além de outros compostos inorgânicos ou biomassas, sendo a ação enzimática de microrganismos o mecanismo predominante de decomposição. Para que as enzimas produzidas por determinados micro-organismos sejam capazes de romper algumas das ligações químicas da cadeia principal do polímero, além do material ter a característica biodegradável, são necessárias as condições favoráveis de temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio, para a atuação dos micro-organismos (Bastioli, 2005; Marin *et al*, 2013). Quando expostos ao organismo humano, os polímeros podem degradar por uma associação de mecanismos físico-químicos e/ou biológicos, repercutindo de forma negativa na sua longevidade (Oréfice *et al*, 2006; De Paoli, 2008).

Dentre os principais fatores que afetam a taxa de degradação de polímeros sintéticos em meio biológico, estão a estrutura do polímero, sua hidrofiliidade, a presença de grupos funcionais, a massa molar e a distribuição de massa molar; o seu estado físico e morfológico, particularmente se é cristalino ou amorfo; além das condições ambientais como temperatura, pH, umidade, oxigênio; outros aspectos relacionados à biodegradação do polímero são a razão superfície/volume, o tamanho e a pureza do polímero (Elst, 1996).

Quando a biodegradação ocorre na presença do oxigênio é denominada de aeróbica, podendo ocorrer também na ausência do oxigênio, quando é chamada de

anaeróbica. Um polímero só pode ser considerado biodegradável quando, sob a ação de algum tipo de micro-organismo, sofre o processo de degradação, ou seja, ocorre a quebra de suas cadeias poliméricas e elas passam a ser processadas e digeridas pelos micro-organismos. Para que essa degradação ocorra é preciso que os organismos possam produzir enzimas que sejam capazes de degradar as cadeias poliméricas e para isso algumas condições ambientais devem ser consideradas como a temperatura, a umidade e a presença de oxigênio.

O processo de degradação poderá ser resultante da ação de micro-organismos presentes no meio, por meios mecânicos, químicos e/ou enzimáticos e este poderá ocorrer de forma natural, promovido unicamente por temperatura, sem a adição de qualquer iniciador de reação. Inicialmente os micro-organismos poderão aderir na superfície do polímero, etapa chamada de biodeterioração, que se caracteriza pela secreção de uma espécie de muco composto por uma complexa matriz de substâncias, interferindo na resistência e durabilidade do polímero. As substâncias extracelulares produzidas quimicamente pelos micro-organismos atuam como surfactantes, levando a uma modificação entre as fases hidrofílicas e hidrofóbicas do material, facilitando a penetração de micro-organismos no material e a acumulação de outras substâncias do meio, acelerando a sua biodeterioração. Essa etapa é denominada de biofragmentação. Portanto, o meio favorece a secreção de enzimas que capazes de hidrolisar os polímeros; ocorrendo a quebra das cadeias, os micro-organismos podem assimilar o polímero através de suas membranas consumindo-o. Já na etapa da mineralização, a biomassa do polímero é transformada em gás; mais precisamente em dióxido de carbono e água (Pereira, 2010; Kurusu, 2011).

Para Middleton e Tripton (2000), os polímeros semicristalinos podem sofrer degradação de forma progressiva, que se inicia principalmente por hidrólise química das cadeias na fase amorfa. O fenômeno acontece inicialmente quando a água penetra na superfície do material, atacando preferencialmente as cadeias da fase amorfa, convertendo longas cadeias poliméricas em cadeias menores e, por sequência, em fragmentos solúveis. Inicialmente, ocorre uma redução na massa molar da fase amorfa sem a perda das propriedades físicas. À medida que a água começa a reagir com as cadeias principais, concomitantemente ocorre perda das propriedades físicas e a água começa a fragmentar o material. Somente na segunda

fase, é que ocorre o ataque enzimático dos fragmentos e, com metabolização dos fragmentos, ocorre uma rápida perda de massa polimérica.

Todo o processo acontece quando a cadeia macromolecular do polímero apresenta grupos hidrolisáveis (Oréfice *et al*, 2006). A degradação pode iniciar-se por hidrólise, mas à medida que o polímero é destruído, a área superficial e acessibilidade aumentam, podendo predominar a degradação enzimática. Com o aumento do número de grupos hidrolisáveis na cadeia principal ou cadeia lateral, a taxa de hidrólise tende a aumentar os grupos polares que aumentam a hidrofiliçidade. Outros aspectos como a baixa cristalinidade, baixa densidade e elevada área superficial/volume, tendem a acelerar as cinéticas hidrolíticas.

Para Scott (2000), o mecanismo de biodegradação, a depender da natureza do polímero e do meio, pode acontecer através da hidrólise biológica, que ocorre pela ação de enzimas proteolíticas, catalisadoras da hidrólise de ligações peptídicas ou por outras enzimas responsáveis por catalisar a hidrólise de ligações éster. O autor ressalta ainda que a oxidação biológica é outro mecanismo responsável por quebras da cadeia polimérica, em fragmentos menores capazes de serem assimilados pelos micro-organismos. A ação de oxigenases e dioxigenases estimula a formação de grupos peróxidos nas cadeias carbônicas, levando à quebra da cadeia com geração de produtos como ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas, produtos esses que podem ser bioassimilados ou não. A hidrólise biológica ocorre normalmente em polímeros que possuem grupos funcionais, carbonilas e ésteres e a oxidação biológica ocorre, usualmente, em polímeros que contenham apenas cadeias carbônicas (Chandra, Rustgi, 1998; Franchetti, Marconato, 2006)

Zuchowska, em 1999, afirmou que a biodegradação sob ação de enzimas pode ser monitorada pelas medidas de massa molar (Cromatografia de Permeação em Gel-GPC), através da presença de grupos polares (Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR), de mudanças nas propriedades mecânicas (Análise Termo-Mecano-Dinâmica – DMTA), de mudanças de estrutura de microfase (Calorimetria Exploratória Diferencial –DSC) ou de estrutura de macrofase (Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV).

Importantes pesquisas têm sido realizadas e demonstrado o grande potencial de várias espécies de micro-organismos para a degradação de diferentes polímeros. Nowak *et al* (2011) realizaram um estudo para determinar o grau de biodegradação de poli (tereftalato de etileno) modificado com filmes de poliéster

"Bionolle®" em comparação com o filme de poli(tereftalato de etileno) comercial puro, após a incubação de 84 dias na presença de fungos filamentosos *Penicillium funiculosum* produtores de enzimas hidrolíticas. Os autores analisaram a textura das amostras com MEV e sua composição através do FTIR e XPS e avaliaram que mudanças químicas importantes ocorreram, como a redução significativa na quantidade de anéis aromáticos derivados a partir de ácido tereftálico. Os autores observaram que a decomposição de filmes por fungos ocorreu não só devido à enzimas hidrolíticas, mas também aos processos oxidativos.

Vários métodos para avaliar a biodegradação têm sido descritos na literatura. A American Society for Testing and Materials (ASTM) tem apresentado diferentes metodologias, e definem o quanto de material foi degradado por micro-organismos em um determinado período de tempo. Essa taxa pode variar de acordo com características peculiares ao material como, por exemplo, sua massa molar, suas ramificações, regularidade espacial cristalinidade e o ambiente no qual está ocorrendo o processo de biodegradação do polímero.

Diferentes técnicas são empregadas para a análise da taxa de biodegradação. As principais citadas são as técnicas por exposição de amostras de polímeros em ambiente compostado, a determinação da biodegradabilidade aeróbica dos polímeros pelo Teste de Sturm; a determinação da degradação em ambiente marítimo simulado; determinação da degradação por micro-organismos, bem como a determinação das perdas percentuais de massa em ambiente controlado contendo enzimas.

A medida de variação de massa é uma técnica que pode ser aplicada em testes de biodegradação de polímeros para determinar o quanto do material sofreu degradação por perda de massa, ou quantificar a adesão microbiana na superfície da amostra por meio de ganho de biomassa (Shah *et al*, 2008).

Bottene *et al* (2012) realizaram uma pesquisa para avaliar a degradação dos polímeros Poli (3-hidroxi-butirato) (PHB) e Poli (ácido glicólico) (PGA) em saliva artificial, visando à sua aplicação na área odontológica. Foram utilizadas as amostras de PHB e PGA nos testes de degradação *in vitro* simulando condições corpóreas bucais em solução de saliva artificial (pH= 7), em banho termoestático à 37°C, em intervalos de tempo até completar 300 dias de degradação. As amostras foram caracterizadas por MEV, FTIR, TGA, DSC, perda de massa e análise de pH da saliva antes e após a degradação. Os autores observaram que, nas análises de

perda de massa do PHB, com 14 dias de degradação houve um aumento de massa de 3,4% e que, em 150 dias de degradação, houve a diminuição nos ganhos de massa de 0,9%, comprovado pelo aumento no tamanho dos poros em decorrência da hidrólise no PHB, observados por MEV. Na análise do PGA foi possível verificar a diminuição da massa de 28,3% em 7 dias e, para 45,9%, em 150 dias e a diminuição do pH da saliva artificial que estava em contato com o PGA, indicando a liberação do ácido glicólico para o meio. A análise morfológica apresentou fraturas e um aumento da irregularidade da superfície. Os parâmetros analisados, como morfologia, variação de massa e pH, entre outros fatores, são necessários para a avaliação da degradação dos polímeros bioabsorvíveis.

2.6 MÉTODOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL

O processo de envelhecimento do material é acompanhado por métodos que fornecem, informações sobre mudanças químicas ou físicas. A escolha dos métodos é fortemente dependente do modo de degradação de um polímero específico e da propriedade de interesse.

As respostas quanto à degradação podem ser feitas de forma comparativa a outro material ou ainda comparando ao seu estado natural. São variadas as respostas de um material polimérico frente a sua degradação, sendo elas físicas, químicas e ou biológicas. Os métodos instrumentais mais usuais para a detecção ou acompanhamento de processos de degradação ou produtos de degradação são: (i) métodos espectroscópicos, tais como: espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); espectrometria de Raman e ultravioleta (UV-vis); (ii) métodos térmicos; como por exemplo: análise termogravimétrica (TGA); calorimetria diferencial exploratória (DSC); (iii) determinação da variação de massa molar por viscosimetria ou cromatografia por exclusão de tamanho (SEC); (iv) análise de produtos voláteis; (v) análise de produtos solúveis; (vi) ensaios mecânicos; (vii) medida de ângulo de contato e; (viii) métodos reométricos.

Estas técnicas podem ajudar a compreender melhor a termodinâmica e a cinética das reações envolvidas no processo de envelhecimento do material polimérico. Apesar de fornecerem informações consideravelmente significativas, devem-se considerar as condições em que as amostras foram geradas e na escolha dos fatores de degradação.

As intempéries afetam os materiais poliméricos de diferentes formas: radiação solar, umidade, precipitação e vento (Craig *et al*, 1978). Os fatores químicos e biológicos também são observados em pesquisas laboratoriais como determinantes no processo de alteração tanto superficial quanto estrutural de um polímero. A avaliação do sinergismo desses fatores não é algo fácil de ser feita, no entanto, diversos autores têm se referido aos efeitos da radiação solar como principal agente de degradação dos materiais expostos (De Paoli, 2008).

A limitação do emprego do silicone como material para a confecção das próteses faciais é a sua rápida degradação e instabilidade de cor, causadas pela exposição aos raios ultra-violetas, à poluição do ar, às mudanças de temperatura e umidade, e também em função da deposição de resíduos microscópicos nas porosidades da superfície do material, uso de adesivos, manuseio contínuo das próteses pelo paciente com produtos de limpeza e desinfetantes (Kiat-Amnuay *et al*, 2005).

Segundo Silva D. e Carvalho (1994) a coloração e estabilidades da cor das próteses é característica cosmética importante para o paciente. A degradação da cor é uma razão comum para substituir uma prótese facial, frequentemente dentro de um ano após a confecção.

2.7 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL

As propriedades mecânicas dos polímeros são caracterizadas pelo modo como estes materiais respondem às solicitações mecânicas aplicadas, podendo estas ser do tipo tensão ou deformação. A natureza desta resposta depende da estrutura química, temperatura, tempo e condições de processamento do polímero (Canevarolo Jr., 2004).

As propriedades físicas que influenciam o comportamento de uma prótese facial são: dureza, resistência ao rasgamento e resistência à tração (Aziz *et al*, 2002; Bellamy *et al*, 2003; Goiato *et al*, 2009a; Hatamleh; Watts, 2010).

O silicone medicinal é o material mais utilizado em próteses faciais devido as suas características, incluindo a facilidade de processamento, biocompatibilidade e inércia química (Lai *et al*, 2002). No entanto, as suas propriedades mecânicas não preenchem completamente os requisitos ideais (Hatamleh e Watts, 2010). As

variações das propriedades mecânicas de diferentes elastômeros empregados em próteses faciais são atribuídas a diferentes formulações de fabricação, incluindo a massa molar do polímero, o tipo, quantidade, tamanho e distribuição de tamanho das cargas e ao grau de reticulação do produto (Aziz *et al*, 2003; Lai *et al*, 2002).

É importante destacar que, devido à presença de ligações duplas em sua cadeia, a fase elastomérica é a mais susceptível a iniciação do processo de degradação. Tais ligações possuem menor energia de ligação e podem ser facilmente quebradas em ambientes agressivos como calor, luz ou pressão. A quebra dessas ligações resulta, em grande parte, no aumento da presença de ligações cruzadas, reduzindo assim a sua mobilidade molecular, o que aumenta perceptivelmente a rigidez do polímero. Desta forma, as principais características avaliadas são as que podem ser afetadas por este tipo de alteração molecular (Rabello, 2.000; De Paoli, 2008).

Kukreja *et al* (2002) pesquisaram o efeito da adição de negro de fumo e óleo vegetal nas propriedades físicas e mecânicas de um elastômero de silicone. Os autores demonstraram que as propriedades físicas e mecânicas dos sistemas foram afetadas pela incorporação do negro de fumo. As resistências ao rasgamento e à tração diminuíram com o teor de carga ao passo que o módulo, dureza e alongamento na ruptura aumentaram em até 300%. Esses resultados foram associados à forte interação carga/matriz, aumentando o grau de reticulação do sistema. A adição de óleo vegetal em teores inferiores a 2% promoveu o aumento nas resistências ao rasgamento e à tração, ao passo que o alongamento e a dureza diminuíram. Esperava-se que o óleo vegetal atuasse como um plastificante, diminuindo as resistências analisadas e a dureza e aumentando o alongamento na ruptura dos sistemas, o que de fato ocorreu em teores de óleo superiores a 3%. Os resultados obtidos foram atribuídos a um efeito de acoplamento do óleo vegetal ao silicone, aumentando sua densidade de reticulação, o que ocorreria em baixos teores (<2%) de óleo. Resultados semelhantes foram reportados por Silva em 2012, aplicando-se em sistemas a base de EVA.

Aziz, Waters e Jagger (2002) avaliaram as propriedades físicas de cinco silicones comercialmente disponíveis para próteses faciais, os quais na sua composição básica continham: PDMS (polidimetilssiloxano – elastômero) e sílica. Foram feitos os testes de dureza, resistência à tração, tensão de ruptura, resistência ao rasgamento, absorção de água. Os silicones testados foram Cosmesil HC,

Cosmesil St, Factor II, Prestige e Nusil. Os resultados obtidos mostraram uma diferença significativa nas propriedades dos silicones comerciais analisados, o que foi atribuído aos diferentes componentes utilizados em suas formulações, incluindo o tipo de sistema de reticulação (adição ou condensação), a massa molar do silicone, a densidade de reticulação e diferenças no tipo e conteúdo da sílica utilizada. Os autores concluíram que nenhum dos materiais investigados apresenta propriedades ideais para aplicação em próteses faciais e que há necessidade de se desenvolver silicones com propriedades específicas para esta aplicação.

Su *et al* (2006) destacaram a importância de se conhecer as características físicas e mecânicas do material, como a resistência à tração, o alongamento de ruptura, a flexibilidade, a resistência a ruptura da prótese durante o uso e manutenção, e também a possibilidade do material em acompanhar os movimentos faciais. Os autores ressaltaram que a resistência ao rasgamento pode ser favorável a integridade marginal e a durabilidade do material. Como regra, quanto maiores os valores de resistência ao rasgamento, mais fácil será a reprodução de bordas finas. A resistência ao rasgamento é muito mais importante que a resistência à tração na previsão da durabilidade e utilidade do material de prótese facial.

Mahajan e Gupta (2012) realizaram uma revisão da literatura sobre os materiais utilizados em prótese facial, destacando as propriedades desejáveis desses materiais, definindo então quatro delas como:

- a) Propriedades físicas: o material deve ser flexível, apresentar estabilidade dimensional, leve de peso, com baixa condutividade térmica e boa resistência nas margens;
- b) Propriedades químicas e biológicas: o material deverá permanecer estável, independentemente da sua exposição ao meio ambiente, adesivos e ou solventes, não deve ser tóxico, mas sim hipo-alérgico e biocompatível, deverá resistir pelo menos seis meses, sem comprometer sua aparência estética e suas propriedades físicas;
- c) Características de fabricação: a polimerização deverá ocorrer em temperaturas baixas, a incorporação dos componentes deverá ser de fácil manipulação e deve ter um tempo de trabalho adequado, a fim de facilitar a pigmentação; e

d) Características estéticas: a prótese deverá passar despercebida em público; a textura, a coloração e formas deverão reproduzir as estruturas perdidas e a pele adjacente.

Segundo Guiotti *et al* (2010), as maiores falhas das próteses faciais são causadas pelas limitações nas propriedades dos materiais existentes, especialmente a flexibilidade e durabilidade. Os autores avaliaram a dureza Shore A do silicone Silastic MDX 4-4210, usado na fabricação de próteses faciais em função do período de estocagem, desinfecção diária e dois tipos de pigmentação. Trinta espécimes foram confeccionados e distribuídos em três grupos: sem pigmentação; pigmentados com maquiagem e pigmentados com óxido de ferro. A dureza Shore A foi mensurada imediatamente, seis meses e um anos após a obtenção dos espécimes, seguindo as normas a Sociedade Americana para Testes e Materiais. Os valores de dureza foram analisados pelo Teste de Tukey e o silicone apresentou um aumento na dureza com o tempo, sendo que se estabilizou entre seis meses e um ano. O silicone avaliado apresentou valores de dureza Shore A, dentro dos padrões relatados na literatura, independentemente do período de armazenagem, pigmentação e desinfecção química.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Os materiais utilizados nesta pesquisa foram o silicone medicinal (Grau Médico), Silastic® MDX4-4210 fabricado pela Dow Corning Product Information Corporation-USA. É um elastômero de condensação, cuja polimerização (vulcanização) ocorre em contato com a temperatura do ambiente (RTV- Room Temperature Vulcanizing), podendo também ser polimerizado em temperaturas recomendadas pelo fabricante, formando uma borracha de silicone translúcida. Os aditivos empregados foram pigmentos de maquiagem de Linha Mineral-83541-Ideal 16 (Contém 1g – Make-up-São Paulo/SP e a solução de Bixina (*Bixa orellana L*), em concentração de 9,5% – CHR- Hansen Indústria e Comércio LTDA – Valinhos/SP), conforme a Tabela 2.

O silicone MDX 4-4210 é um material amplamente utilizado pelos clínicos e pesquisadores em função de sua facilidade de manuseio, menor tendência à incorporação de bolhas durante manipulação e menor susceptibilidade a contaminação (Goiato; Pesqueira; Santos, 2009b). Os materiais utilizados estão apresentados na Figura 13.



Figura 13 – Silicone (A), Pigmento de maquiagem (B) e solução de bixina (C) utilizados na obtenção das amostras da pesquisa.

Tabela 2 – Nome comercial, número do lote, composição, processo de polimerização e fabricante dos materiais avaliados.

Nome (nº de lote)	Composição	Reticulação	Fabricante
Silastic® MDX4-4210	Polímero: dimetilsiloxano, sílica e platina; Tipo de Ativação: Condensação	RTV Cura Recomendado 40°C 5h 55°C 2h 75°C 30 min 100°C 15 min	Dow Corning Corporation- USA
Linha Mineral-83541 (Ideal-16)	Talco descontaminado, Caulin, Estearato de zinco, Dióxido de titânio, Óleo Mineral, Óleo de silicone, Lanolina, Glicerina, Pigmentos e Essências		Contém 1g – Make-up-São Paulo/SP
Pigmentos de Urucum Lote -34684 Fab. 18/09/13 Val. 18/03/14	Bixina-9,5% WS-Intermediário (Bixa orellana L)		CHR- Hansen Indústria e Comercio LTDA – Valinhos/SP.

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Estrutura experimental

Os corpos de prova tal como obtidos, foram caracterizados por: Microscopia Ótica-MO; Microscopia Eletrônica de Varredura-MEV; Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR; Análise Termogravimétrica (TGA).

Alguns corpos de prova foram submetidos aos ensaios de envelhecimento acelerado por exposição a ciclos de irradiação UV-B/Umidade/Temperatura.

Os ensaios de Citotoxicidade, Biodegradação Enzimática e os ensaios mecânicos foram realizados com os corpos de prova do silicone em estado original e pigmentados, envelhecidos e não envelhecidos. O ensaio de Sorção foi realizado com o silicone natural e pigmentado sem o envelhecimento acelerado.

As propriedades mecânicas avaliadas foram: Dureza Shore A, Resistência ao Rasgamento, Resistência à Tração, Módulo Elástico e Alongamento na Ruptura.

O ensaio de envelhecimento foi realizado em uma câmara de envelhecimento acelerado para não-metálicos C-UV (Comexim- NBR 9512). A pesquisa foi organizada em etapas de acordo com o fluxograma da Figura 14.

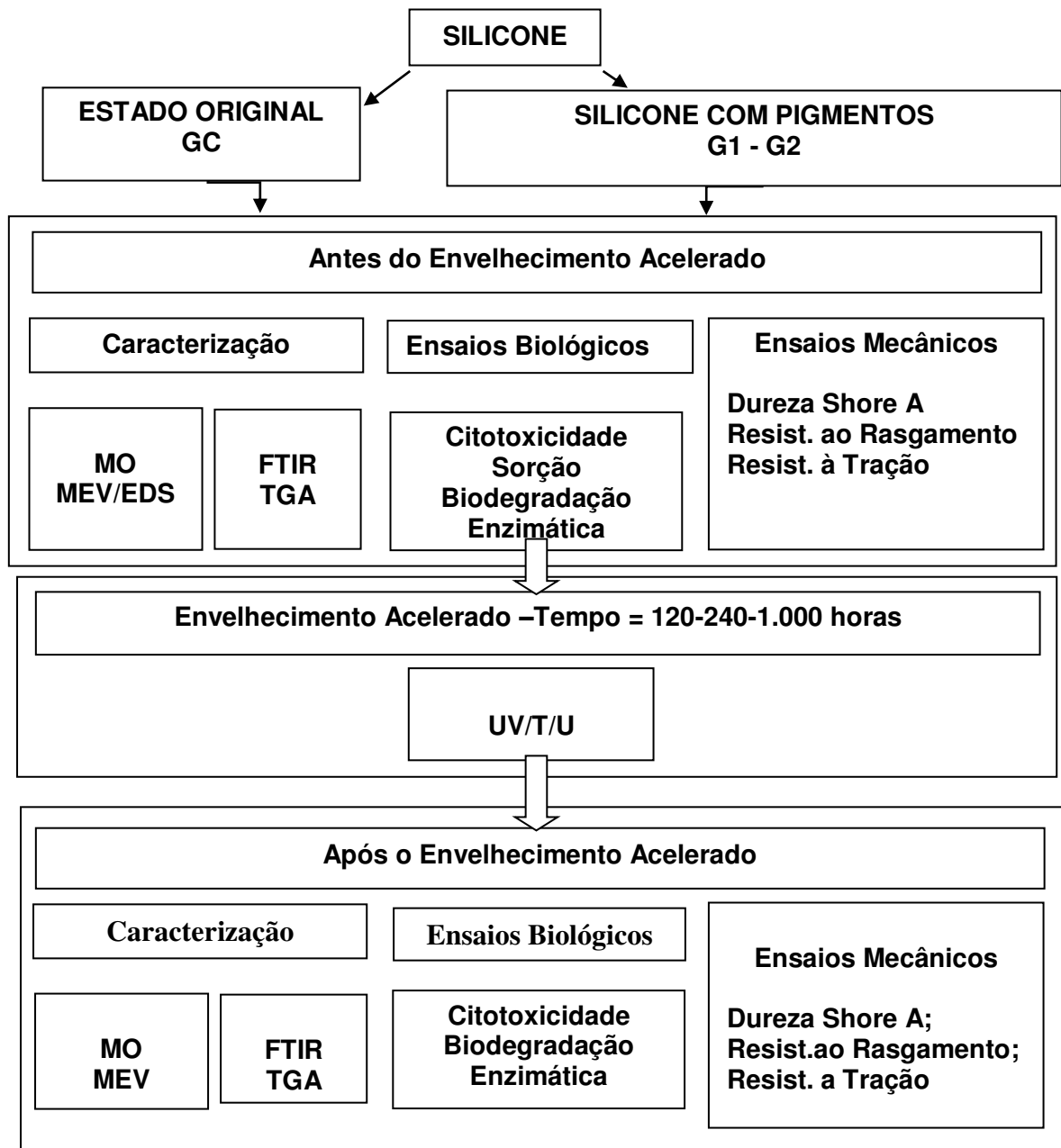


Figura 14 – Fluxograma dos estudos realizados: GC(Grupo Controle – Silicone em estado original; G1(Silicone pigmentado com maquiagem) e G2(-Silicone pigmentado com Bixina).

As fases experimentais deste estudo foram conduzidas no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – UFCG e no CERTBIO em temperatura ambiente mantida a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar em $50 \pm 10\%$. Todos os corpos de prova foram confeccionados por um único operador e aferidos com um paquímetro digital (DIGIMESS Instrumentos de Precisão Ltda – São Paulo/SP).

3.2.2 Obtenção dos corpos de prova

Todos os corpos de prova foram confeccionados em silicone, a partir de padrões de Cera Rosa 7- WILSON (Polidental-Cotia-SP), sobre uma placa de cerâmica de piso medindo 200x200x60mm, e incluídas em gesso pedra Tipo IV Durone (Dentsply Ind. Com. – Petrópolis/RJ) para a obtenção de moldes com superfície lisa e uniforme (Kiat-Amnuay *et al.*, 2006). Após a cristalização do gesso, a cera foi eliminada com água fervente e obtido um molde para a polimerização do silicone no interior das matrizes e obtenção dos corpos-de-prova (Figura 15-A e B).

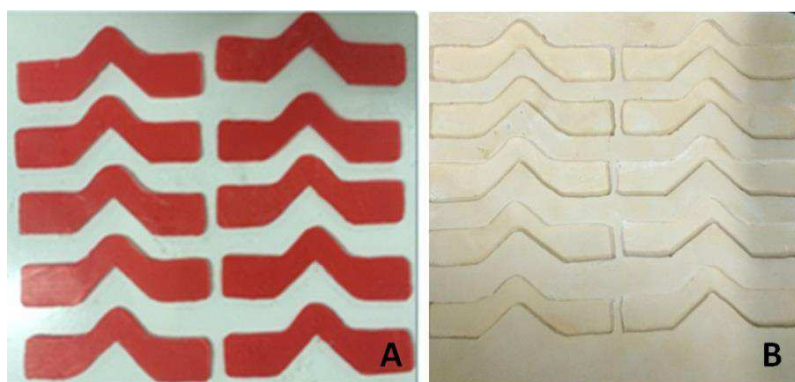


Figura 15 – **A**- Padrões em Cera 7; **B**- Matriz em gesso tipo IV

Para a obtenção do grupo controle (GC) o silicone e o catalisador na proporção de 10:1, foram manuseados segundo as instruções do fabricante, pesado em balança semi-analítica (Ind. e Com. Eletro Eletrônica Gehaka Ltda – São Paulo/SP-Brasil), sendo 180g de silicone e 18g do catalisador (10:1). Na obtenção dos corpos de prova do grupo experimental G1, foi adicionado 0,36 g do pigmento de maquiagem ao silicone Silastic MDX4-4210. Essa concentração corresponde a 0,2% do peso do silicone e é suficiente para a coloração do material, tornando-o semelhante ao tom da pele humana, sem afetar a matriz, como foi constatado nos estudos de Yu *et al.* (1980); Goiato *et al.* (2005); Kiat-amnuay *et al.* (2006); Mancuso, (2009). Para a obtenção dos corpos de prova do grupo G2, foram colocados 03 gotas com o dispositivo de conta-gotas sobre uma lâmina de vidro polida e estéril. Essa quantidade é equivalente a 0,2 g do pigmento de bixina, que corresponde a 0,11% do peso do silicone Silastic MDX4-4210. Este valor não ultrapassa a proporção de 0,2% do peso do material, como preconizado nos estudos acima citados.

Após a adição dos pigmentos ao silicone, o catalizador foi incorporado e a massa manipulada com um espatulador a vácuo Turbomix (EDG – Equipamentos e Controles Ltda – São Carlos-SP, Brasil), durante 20 segundos a uma velocidade de 400 rpm.

Empregando-se uma seringa descartável de 20 ml (BD SoloMed TM – Curitiba/PR), as matrizes foram preenchidas com a mistura homogenizada do silicone pigmentado. Figuras 16 e 17.



Figura 16 – Espatulador mecânico



Figura 17 – Inserção do silicone na matriz

O material permaneceu confinado no interior da matriz durante 30 minutos, em seguida, colocado uma placa de cerâmica 200x200x60mm sobre as matrizes e levado à estufa a 75°C durante 30 minutos (Dow Corning Product Information, 2013; MAIDA *et al.*, 2011).

Os corpos de prova, com as dimensões preconizadas pelas normas ASTM específicas para cada tipo de ensaio a ser realizado, foram assim obtidos.

3.2.3 Formação dos grupos experimentais

Foram confeccionados 288 corpos de provas e produzidos três grupos: o Grupo Controle (GC) constituído por amostras do silicone Silastic® MDX4-4210 sem acréscimos de pigmento e os grupos experimentais G1 e G2. O Grupo 1 (G1), formado por amostras do silicone Silastic® MDX4-4210, pigmento com pó de maquiagem e, o Grupo 2 (G2), constituído por amostras de silicone com a incorporação da solução do pigmento de Urucum-Bixina (Bixa orellana L). Cada grupo foi constituído de 24 corpos de prova, sendo 09 unidades destinadas às caracterizações e 15 unidades aos ensaios mecânicos.

Setenta e dois corpos de prova foram selecionados para serem avaliados antes do envelhecimento acelerado. Os 216 corpos de prova restantes, foram submetidos ao envelhecimento acelerado por luz ultravioleta, temperatura e umidade, simulando o intemperismo natural. Neste estudo os tempos de envelhecimento acelerado foram de 120, 240 e 1.000 horas. De acordo com os tempos de avaliação os grupos foram formados por 72 unidades, sendo selecionadas 15 unidades para cada grupo (GC, G1 e G2) destinadas para os ensaios mecânicos e 09 unidades para as caracterizações e ensaios biológicos (Vide o APÊNDICE A).

3.2.4 Caracterização das amostras

3.2.4.1 Envelhecimento acelerado Ultra Violeta/ Temperatura/Umidade

O ensaio de envelhecimento acelerado foi realizado no Laboratório de Caracterização da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais-CCT/UFCG, seguindo a ASTM G154-00.

Os corpos de prova foram submetidos ao processo de envelhecimento por exposição artificial (ciclos de UV/T/U), em uma câmara de envelhecimento acelerado para não-metálicos Ultravioleta B/condensação de água – C-UV, fabricado pela Comexim Matérias Primas Ind. Com. Ltda., SP, Brasil (Figura 18).



Figura 18 – Câmara de envelhecimento acelerado para não-metálicos C-UV. (Comexim – NBR 9512)

Cada corpo de prova foi identificado com caneta para CD, e agrupado conforme roteiro para coleta de dados (Apêndice B), o que permitiu identificar os corpos de prova para cada grupo. Os corpos-de-prova foram fixados com cola de silicone (Cascola Flexite Banheiro & Cozinha- HENKEL Ltda-Itapeví/SP), em duas prateleiras metálicas estacionária com o plano de superfície de teste paralelo ao plano das lâmpadas, a uma distância de 50 mm da superfície da lâmpada mais próxima (Figura 19).



Figura 19 – Disposição dos corpos de prova (prateleiras) dentro da câmara de envelhecimento acelerado

A fonte de radiação foi feita a partir de um arranjo de lâmpadas fluorescentes Philips UV-B de 40W e corrente de 430 mA a 102 V, com emissão de ultravioleta entre 280 e 350nm, com pico de emissão a 313nm, apresentando boa equivalência com a radiação solar. O equipamento de intemperismo acelerado possui controle de

temperatura, temporizadores e atmosfera úmida. Os corpos de prova foram expostos aos raios UV, temperatura e à condensação em ciclos de 12 horas, sendo 08 horas de emissão UV em temperatura de $60 \pm 3^{\circ}\text{C}$, resultando em uma combinação de degradação fotoquímica e térmica, seguido pela exposição da superfície dos corpos de prova às misturas saturadas de ar e vapor de água destilada a cada 18 minutos, em um período de 4 horas sob condições de calor e umidade de 100%, executando dois ciclos a cada 24 horas (Mancuso *et al.*, 2009).

Os tempos de exposição à luz ultravioleta, temperatura e umidade foram divididos nos tempos de 8 e 4 horas, simularam a deterioração causada pelos efeitos da energia ultravioleta (UVB) da luz solar direta e indireta, da água da chuva, do orvalho do intemperismo natural. (Dootz *et al.*, 1994). Os corpos de prova foram retirados nos tempos de envelhecimento acelerado de 120, 240 e 1.000 horas para serem avaliados nos diferentes ensaios propostos.

3.2.4.2 Ensaios de caracterização para avaliação do silicone para prótese facial

Os silicones elastoméricos empregados para confecção de prótese facial, se apresentam com curta duração por serem submetidos à degradação após a sua confecção, sofrendo significativas alterações na sua estrutura e aparência durante a vida útil, devido, principalmente, ao envelhecimento causado pela exposição às condições climáticas, tais como irradiação solar, temperatura, umidade. (Sampers, 2002). A análise superficial e microestrutural do material envelhecido pode fornecer entendimento sobre as correlações entre a microestrutura e propriedades, auxiliando o pesquisador a prever as propriedades do material quando estas correlações são estabelecidas. Uma das formas de minimizar ou retardar os efeitos da degradação é através do uso de aditivos e anti-oxidantes.

3.2.4.2.1 Microscopia Ótica

A caracterização por Microscopia Ótica foi realizada em um Microscópio Ótico HIROX, pertencente ao CERTBIO, com resolução máxima de 3500X, que pode operar com luz transmitida ou refletida, acoplado a uma estação de captura e análise de imagens com software.

Para realização das análises de microscopia ótica, foram retirados fragmentos de aproximadamente 1,0 cm² de cada corpo de prova, e feita a microscopia com aumento de 40x, 100x e 160x para observar as possíveis alterações morfológicas da superfície do material e algum detalhe que pudesse evidenciar a degradação, inobservável a olho nu.

3.2.4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

O Microscópio Eletrônico de Varredura é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação de resolução até 300.000 vezes. Esse equipamento permite a análise de amostras não condutoras sem o uso de recobrimento metálico. Ele permite ainda a obtenção de informações estruturais e químicas de amostras diversas. Um feixe de elétrons de alta energia incide na superfície do corpo de prova onde ocorre uma interação, parte do feixe é refletida e coletada por um detector que converte este sinal em imagem, fornecendo, dessa forma, informação morfológica e topográfica sobre a superfície do material, necessária para se entender o comportamento de superfícies (Fideles, 2010; Fook, 2005).

O incidência do feixe de elétrons com a superfície da amostra promove uma série de radiações que são emitidas, tais como: elétrons secundários; elétrons retroespalhados; raios-X característicos; elétrons Auger; fótons; entre outras. Estas radiações, quando capturadas corretamente, fornecerão características topográfica da superfície, composição e cristalografia da amostra. Os sinais de maior interesse para a formação da imagem através do MEV são os elétrons secundários e os retroespalhados. Os feixes de elétrons primários vão varrendo a amostra e gradativamente estes sinais se modificarão de acordo com a superfície. Os elétrons secundários geram as imagens relativas à topografia da superfície e são responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução, ao passo que os retroespalhados geram imagem característica da variação da composição.

As superfícies de fratura dos corpos de prova desta pesquisa foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV), através de um aparelho de bancada pertencente ao Laboratório de Biomateriais (CERTBIO), modelo TM 1.000 – HITACHI®, com aumento de 10.000x, profundidade de foco de 1mm, resolução de 30nm, 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), acoplado

com sistema para microanálise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS. Ver figura 20.

Um fragmento de 1x1cm dos corpos de prova de cada grupo foi analisado. Foram realizadas quatro leituras em cada corpo de prova, a fim de detectar diferenças sob aumentos de 1.000x, 3.000x e 6.000x.



Figura 20 – Equipamento HITACHI TM 1.000 para avaliação-MEV

3.2.4.2.3 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier-FTIR, é usada para identificar os compostos químicos presentes na estrutura do material, a partir das frequências vibracionais absorvidas das substâncias existentes na sua composição. A técnica identifica as bandas características dos grupos funcionais presentes nos materiais, podendo utilizar a faixa de varredura de baixo, médio e alto comprimento de onda. Esta técnica tem grande valor para a análise orgânica qualitativa e compreende a faixa do espectro eletromagnético que vai do limite superior da faixa de microondas até o começo da região visível, com comprimento de onda entre $4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, ($2,5 \mu\text{m}$ e $25 \mu\text{m}$), o chamado infravermelho médio. Considera-se que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis vibracionais da molécula.

A caracterização por FTIR foi realizada segundo a norma ASTM F2102-13, através da análise da superfície das amostras usando um instrumento da PERKIN ELMER SPECTRUM 400, com a finalidade de identificar as bandas características

dos grupos funcionais presentes nos corpos de prova utilizados nesta pesquisa, onde se utilizou uma faixa de varredura na região do infravermelho médio de 4.000 a 600 cm^{-1} , pertencente ao CERTBIO/UAEMA/UFCG. Os espectros foram obtidos com 16 varreduras.

Para a realização da análise dos insumos, foi depositado 1ml do pigmento de bixina em estado líquido em placas Petri, solubilizando-a em tolueno; para acelerar a evaporação completa do solvente, foram aquecidas a 50°C, resultando em um filme fino de espessura não controlada. A partir dos filmes foram extraídas as amostras para o ensaio espectroscópico. Para a análise do silicone em estado natural e da maquiagem foi obtido 1g de cada material. Na análise dos compostos, foram selecionados 1 cm x 1cm de área dos corpos de prova de cada grupo. Todos os corpos de prova foram colocados no porta-amostra do equipamento e, fez-se leitura direta.

Após a aquisição dos espectros dos corpos de prova, eles foram interpretados com uso de tabelas de absorções características para grupos funcionais, anexada ao software de controle do equipamento e analisados no Origin.

3.2.4.2.4 Termogravimetria

A Termogravimetria é uma técnica termo analítica na qual a massa de uma substância é medida em função de uma programação controlada de temperatura. O ensaio é realizado através do aquecimento a uma taxa constante de temperatura ou se pode mantê-la a uma temperatura fixa em atmosfera inerte. Com este tipo de análise é possível conhecer a estabilidade térmica do material e verificar reações químicas ou modificações físicas que ocorrem durante o aquecimento (Shychuk e White, 2000). As variações na massa, como perda de material podem ser por volatilização, decomposição ou vaporização (Canevarolo Jr, 2004). Através da termogravimetria é possível a obtenção de informações sobre os teores inorgânicos que estão contidos nas amostras do silicone, permitindo concluir qual, dos componentes presentes no material, sofre maior influência da degradação (Agnelli, 1993).

Nesta pesquisa, as curvas termogravimétricas (TGA) e suas derivadas em função da temperatura (DTG) foram obtidas em um Analisador Térmico TGA-50 SHIMADZU, utilizando razão de aquecimento de 10°C min^{-1} em amostras com

massa de aproximadamente 10 mg aquecidas a partir da temperatura ambiente (23°C) até 1000°C, em atmosfera de N₂. As temperaturas de degradação térmica foram determinadas através dos picos das derivadas das curvas de perda de massa.

3.2.4.3 Ensaio biológico para avaliação do silicone para prótese facial

3.2.4.3.1 Ensaio de Citotoxicidade

Foi realizado um estudo experimental *in vitro*, controlado e analítico, para avaliar o potencial de citotoxicidade do silicone medicinal com e sem pigmentos indicados para a confecção de próteses maxilofaciais.

Os testes de citotoxicidade foram realizados com a finalidade de avaliar a resposta celular em culturas contendo amostras do silicone Grau Médico Silastic® MDX4-4210 (Dow Corning Product Information Corporation-USA). Para este estudo, foram formados três grupos: o GC (Grupo Controle, constituído de corpos de prova confeccionados com o silicone em estado original; o G1 (Grupo 1, foi formado empregando-se o silicone em estado original incorporado com pigmento de maquiagem (Contém 1g – Make-up-São Paulo/SP) e o G2 (Grupo 2 – o silicone foi incorporado com pigmentos de Urucum – Bixina – Bixa *orellana* L (CHR- Hansen Indústria e Comércio LTDA – Valinhos/SP).

Todos os corpos de prova foram preparados e cortados nas dimensões de 1cm², sob condições estéreis e submetidos aos testes de citotoxicidade com amostras sem envelhecimento acelerado e também com as que foram submetidas ao envelhecimento acelerado em períodos de 120, 240 e 1.000 horas, seguindo a norma ISO 10993-5:2009 (International Standard Organization. “Biological evaluation of medical devices tests for cytotoxicity: *in vitro* methods”), através da determinação da porcentagem da viabilidade celular, utilizando o método da redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetilazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio], que estabelece uma correlação entre a atividade metabólica celular e o número de células viáveis em cultura *in vitro*. Neste ensaio, o MTT é acumulado pelas células por endocitose e a redução do anel tetrazólico deste sal resulta na formação de cristais de formazan de cor azul que se acumulam em compartimentos endossomais e/ou lisossomais, sendo depois transportados para fora das células por exocitose. Sendo a endocitose

um mecanismo fundamental das células vivas, o ensaio do MTT tem sido usado frequentemente como ensaio de viabilidade celular.

Para avaliação da citotoxicidade de todos os arcabouços estudados, foram utilizados a linha celular L929 e a linha celular cancerígena MCF-7. De acordo com o documento ISO 10993-5, 2009), esta linhagem é recomendada para os estudos de citotoxicidade e de interações entre biomateriais. Foi utilizada uma concentração de 5×10^5 células/mL RPMI e adicionados 100 μ L em uma placa de 96 poços. (Figura 21) A placa foi transferida para a incubadora de CO₂ (5%) a 37°C por 1 hora (Figura 22).

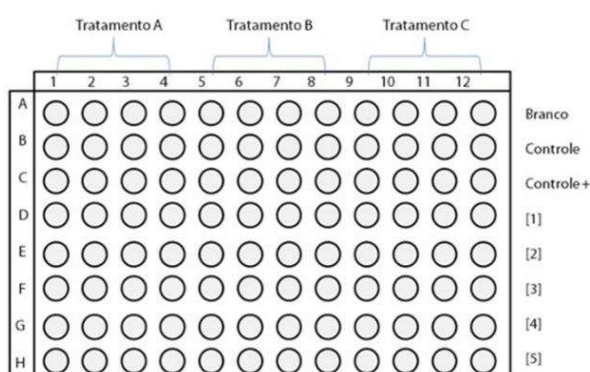


Figura 21 – Representação esquemática da placa de 96 poços, sendo 3 tratamentos e 5 concentrações distribuídos em 4 replicatas.



Figura 22 – Incubadora de CO₂ – Com desinfecção UV – 212 Litros – 220 Volts

Após este período, foram adicionadas as amostras mais 200 μ L de RPMI 1640-C, que foi utilizado como controle negativo. A placa foi incubada novamente em estufa de CO₂ (5%) a 37°C por 24 horas. Após as 24 horas, foram adicionados 100 μ L de solução de MTT-0,5 mg/mL (MTT: Sigma, lote MKBL6157V) em RPMI 1640-C. Novamente, as placas foram incubadas em estufa de CO₂ (5%) a 37°C por 3 horas. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e adicionado 100 μ L de álcool

isopropílico. A leitura da densidade ótica foi determinada em um leitor de microplacas (Victor™ X3 Multilabel Plate Reader – PerkinElmer – (Figura 23), a 540nm com filtro de referência de 620nm.



Figura 23 – Leitor de Placas Victor™ X3 Multilabel Plate Reader – PerkinElmer

A viabilidade celular foi calculada em porcentagem, considerando o controle negativo com 100% de viabilidade.

Nos ensaios *in vitro*, as células mais indicadas são os fibroblastos para o estabelecimento de linhagens celulares permanentes, se caracterizam por serem células diploides que tem tendência para se tornarem aneuploides, quando cultivadas em diferentes períodos de tempo, originando assim culturas contínuas. (Castro-Silva, 2004). Estas células têm capacidade de diferenciação em múltiplos tipos, portanto, utilizadas em estudos de citotoxicidade de diversos compostos (Freshney, 2010).

Segundo Schuh (2008), os biomateriais podem ser analisados em seus componentes, seguindo as normas da ISO 10993. O tempo de contato é um importante requisito para a realização do teste, sendo classificado em contato limitado (<24 horas), contato prolongado (24 horas a 30 dias) e contato permanente (>30 dias). Os testes de biocompatibilidade são aplicados para avaliar a interação entre os tecidos e os componentes ou o produto final dos biomateriais. Os resultados podem incluir toxicidade geral, irritação tecidual local e avaliações pré-clínicas e clínicas.

Para Freshney (2010), o teste de citotoxicidade avalia a viabilidade celular, em resposta imediata ou em curto prazo, por isso, o período de exposição dos corpos de prova em meio de cultura, no presente estudo, foi de 24 horas.

3.2.4.3.2 Ensaio de Sorção

Para a realização deste ensaio, os corpos de prova foram confeccionados seguindo a mesma metodologia empregada para a formação dos grupos utilizados em outros ensaios apresentada neste estudo e foram avaliados sem o envelhecimento acelerado.

Em relação às características, os corpos de prova apresentaram um formato circular com diâmetro de 15mm e espessura de 3mm, que foram distribuídos de acordo com os grupos GC (Grupo Controle – Silicone Original), G1(Grupo 1- Silicone+Maquiagem e G2(Grupo 2 – Silicone+Bixina).

Três corpos de prova de cada grupo foram selecionados e numerados em sequência de 1, 2, e 3, totalizando em 09 unidades, que foram inicialmente pesados em balança semi-analítica (Ind. e Com. Eletro Eletrônica Gehaka Ltda – São Paulo/SP-Brasil) com precisão de 0,001g, e aferido o seu diâmetro e espessura em três diferentes áreas com um paquímetro digital (DIGIMESS – Instrumentos de Precisão Ltda – São Paulo/SP), e obtida uma média. Os corpos de prova foram distribuídos em recipientes transparentes com tampas e imersos em 50ml de uma solução compatível bioquimicamente com o suor humano (0,1g/l de Uréia; 0,5g/l de NaCl; 5.000ml de Água Destilada QSP) em temperatura ambiente mantida a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar em $50 \pm 10\%$. (Figura 24; Figura 25 A e B).



Figura 24 – Solução compatível bioquimicamente com o suor humano

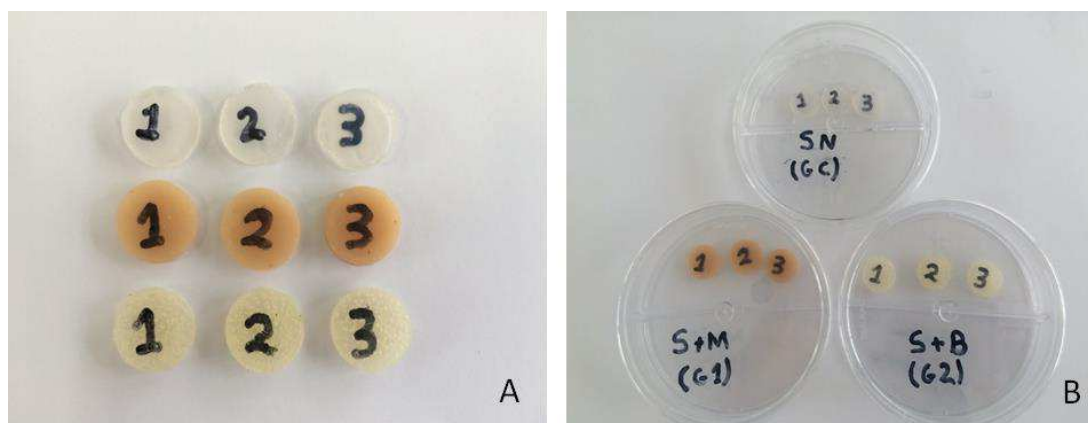


Figura 25 – **A**-Seleção dos corpos de prova; **B**-Imersão na solução de suor artificial

A desidratação através do dissecador dos corpos de prova apresentada pela maioria das pesquisas que realiza o teste de sorção, desidrata-os com o objetivo de padronizar um peso constante para as massas antes de se iniciar os ensaios, ou seja, antes de colocar os corpos de prova imersos na solução. No entanto, *in vivo*, os materiais não são submetidos a essa desidratação inicial, sendo colocados na face logo após a confecção da prótese, fato que fundamentou o método no presente estudo, ou seja, os corpos de prova não foram desidratados, foram imersos em uma solução bioquimicamente semelhante ao suor humano.

A avaliação da sorção foi realizada removendo-se os corpos de prova da solução com uma pinça clínica curva (Quinelato®), os quais foram cuidadosamente secos com lenços de papel absorventes até que não houvesse umidade na superfície (Jagger, 1978), agitadas no ar por 10 segundos, para que fosse atingida a temperatura do ambiente, pesados e aferidos (espessura e diâmetro) 60 segundos após a remoção da água. Para evitar a contaminação dos corpos de prova, foram utilizadas, durante todo o processo, luvas de procedimentos (Cremer®).

O procedimento para avaliação da variação de peso dos corpos de prova, foi realizado inicialmente em tempo zero (**t inicial**) e registrados em uma planilha. Em seguida, novos registros foram realizados (**t final**) a cada trinta minutos durante quatro horas. Os registros seguintes foram feitos a cada hora durante quatro dias, novos períodos de registro foram realizados de 12 em 12 horas durante cinco dias e finalmente uma vez ao dia durante cinco dias, totalizando 15 dias de ensaio. A solução simuladora do suor humano foi substituída por uma nova solução em períodos de 48x48 horas. Os valores obtidos foram anotados em tabelas previamente elaboradas para posterior análise dos resultados (Vide o APÊNDICE B).

Para o cálculo da sorção na solução de suor artificial através do percentual da variação de massa (%), foi usada a seguinte fórmula:

$$\% = \frac{t_{\text{final}} - t_{\text{inicial}}}{t_{\text{inicial}}} \times 100$$

Onde:

t inicial é o peso da amostra em μg , antes da imersão em suor artificial;

t final é o peso da amostra em μg , após a imersão em suor artificial;

100 é a constante para cálculo do percentual de variação.

A avaliação da sorção dos corpos de prova deste estudo foi obtida a partir do peso da massa do polímero seco antes da imersão na solução de suor artificial (t_{inicial}), representada pela equação acima. Através deste parâmetro foi possível analisar a afinidade do material pelos componentes presentes na solução simuladora de suor, observando *in vitro*. Dessa forma, a capacidade de sorção dos corpos de prova poderá representar o comportamento do silicone na pele humana durante o uso da prótese pelo paciente.

3.2.4.3.3 Ensaio de Biodegradação Enzimática

A avaliação de corpos de prova confeccionados em silicone medicinal em estado natural e pigmentados submetidos aos os ensaios de biodegradação em ambiente que simula os mecanismos desencadeados no organismo foi realizada para investigar, *in vitro*, respostas semelhantes àquelas que ocorrem quando estes materiais são colocados em contato com os fluidos do corpo humano.

O ensaio de biodegradação seguiu a norma ASTM F1635-11 Standard test Method for *in vitro* Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants (2011), foi realizado para observar a degradação das amostras e para avaliar se a presença do pigmento influenciou a degradação.

Foram selecionados corpos de prova de amostras de silicone antes e após o envelhecimento a partir dos grupos GC (Grupo Controle – Silicone Original), G1(Grupo 1- Silicone+Maquiagem e G2(Gruo 2 – Silicone+Bixina).

As amostras foram cortadas na dimensão de 1,0 cm x 1,0 cm, pesadas em balança analítica e desinfetados com álcool a 70%. As amostras foram divididas em dois grupos para avaliação da biodegradação. O primeiro grupo S1 contendo uma solução de PBS (Phosphate Buffered Saline) como controle, ou seja, uma solução salina tampão de fosfato de sódio, e o segundo grupo S2, com a solução de PBS + Lisozima, com concentração de 1µg/mL, segundo os critérios estabelecidos por Freier *et al* (2005). Ver Figura 26.

Os corpos de prova foram submetidos à degradação hidrolítica no intuito de simular *in vitro* as condições *in vivo*.

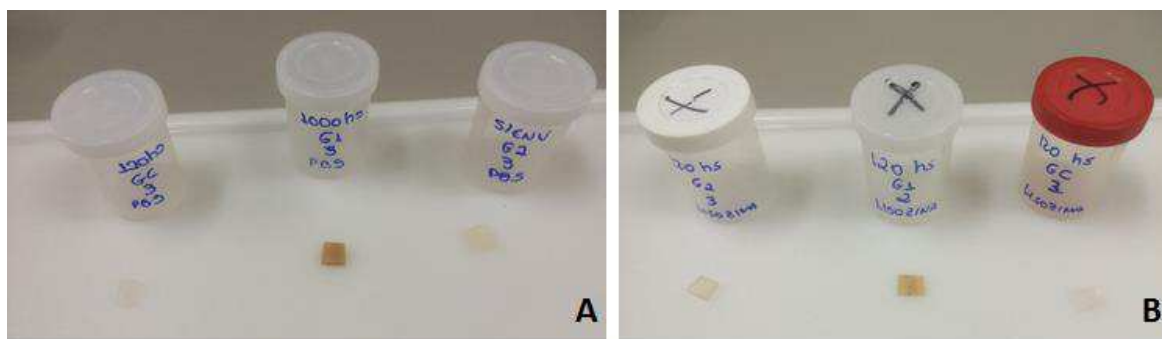


Figura 26 – Corpos de prova imersos em PBS (A) e PBS+=Lisozima (B)

Foram utilizados três corpos de prova para cada tipo de composição, tanto para a solução de PBS, quanto para o PBS + Lisozima, com um total de 72 unidades. As membranas foram incubadas em estufa microbiológica, imersas nas soluções S1 e S2 à temperatura de 37°C, sendo retiradas da estufa após 7 dias, 14 dias, 21 dias e 28 dias, seguindo um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24 horas em estufa a 50°C e pesadas em balança analítica para verificar sua variação de massa. Nessa etapa, não foi identificada nenhuma variação de massa significativa.

Os resultados da biodegradação enzimática foram obtidos pela diferença de massas a partir da razão entre peso após um tempo de imersão t (M_t) pelo peso inicial (M_i), como apresentando na equação abaixo. O ensaio foi realizado em triplicata.

$$MR (\%) = \frac{M_t \times 100}{M_i}$$

3.2.4.3.4 Ensaio Mecânicos para avaliação do silicone para prótese facial

Os ensaios mecânicos foram conduzidos para verificar de forma quantitativa e comparativa, o efeito da incorporação dos pigmentos orgânico e inorgânico nas propriedades mecânicas do material em estudo.

Foram realizados testes de Dureza Shore A, Resistência ao Rasgamento e Resistência à Tração nos corpos de provas antes (tempo 0, imediatamente à confecção foram submetidos aos ensaios), e após o envelhecimento acelerado em períodos de 120, 240 e 1.000 horas.

3.2.4.3.4.1 Ensaio de Dureza Shore A

Para a realização deste ensaio mecânico, foram selecionados cinco corpos de prova retangulares, medindo 65 mm de comprimento por 13 mm de largura e 5 mm de espessura de cada grupo em estudo, antes e após o envelhecimento acelerado (Figura 27). O ensaio foi conduzido em cinco pontos equidistantes em cada corpo de prova dos grupos estudados. Pela forma de apresentar-se como um material macio, foi utilizado no silicone medicinal a escala A em um Durômetro WULTEST MP-20 (Figura 28) de acordo com a metodologia descrita na norma ASTM D2240-10 (American Society for Testing and Materials, 2010). Este ensaio mecânico consiste na penetração de uma agulha sobre a superfície do corpo de prova sob carga constante de 10 N, para a Dureza SHORE A, com o peso de 1 Kg que já é fixo no suporte e os valores de resistência registrados.



Figura 27 – Amostras dos grupos para dureza Shore A



Figura 28 – Durômetro Shore A (WULTEST MP-20)

Os valores de dureza foram expressos em unidade SHORE A. A dureza é inversamente proporcional à penetração da ponta analisadora, ou seja, quanto maior a penetração, menor o valor indicado na escala. A faixa de ensaio é compreendida entre 0 (penetração máxima) a 100 SHORE (não ocorre penetração), com variação +/-1. Os valores são obtidos em função da propriedade viscoelástica do material. Portanto, quanto mais duro for o material, maior será o valor registrado. Para se obter leituras precisas, foram efetuadas medições em cada corpo de prova. Para que não coincidam perfurações no mesmo ponto nas diversas leituras, os corpos de prova foram demarcados com caneta azul em cinco regiões distintas.

Para efetuar a medição, cada corpo de prova foi posicionado na mesa do suporte do durômetro, mantendo uma distância de ± 2 mm da ponta penetradora. A alavanca do suporte foi acionada, elevando a mesa contendo o corpo-de-prova contra a ponta penetradora, exercendo uma pressão por 10 segundos. Em seguida, os valores da média aritmética e o do desvio padrão, nos cinco pontos selecionados foi calculado.

3.2.4.3.4.2 Ensaio de resistência ao rasgamento

Para este ensaio, seguiu-se a norma ASTM D 624-00. A resistência ao rasgamento define-se como: a força necessária para rasgar um corpo de prova específico, dividida pela sua espessura. Para realizar este ensaio, o corpo de prova foi submetido a um entalhe com um ângulo de 90 graus (Figura 29 A e B) e

posicionado na máquina universal de ensaios EMIC-DL 10.000 - Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda-(São José dos Pinhais/PR).

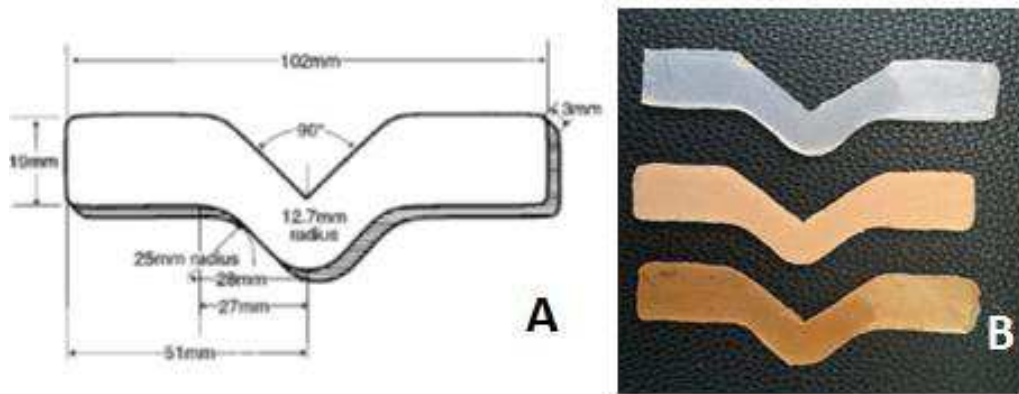


Figura 29 – A- Corpo de prova com especificações para medir a resistência ao rasgamento; B-Corpo de prova obtido para o ensaio de resistência ao rasgamento.

Cinco corpos de prova de cada Grupo, apresentando as mesmas dimensões, livres de imperfeições, foram selecionados e levados às garras da Máquina Universal de Ensaio – EMIC-DL 10 .000, que foi operada em temperatura ambiente, com uma velocidade de separação de garras de 50mm/min, e célula de tração de 200 Kgf, sem extensômetro. A máquina foi acionada e a carga e o deslocamento foram registrados até o momento do rasgamento do corpo de prova. Os resultados foram analisados no Software Tesc Versão 3.04, interligado a máquina. Ver figura 30.



Figura 30 – Máquina Universal de Ensaio- EMIC-DL 10 .000

3.2.4.3.4.2.1 Ensaio de resistência à tração

Este ensaio é muito utilizado como teste para o controle de qualidade de matéria-prima para diferentes processos. Ele fornece através de gráficos resultados da curva tensão de tração versus deformação sofrida pelo corpo de prova. É de fundamental importância por representar a medida da resistência mecânica dada dividida pela área da seção transversal do corpo de prova em sua porção útil.

Os corpos de provas foram confeccionados com base na norma ASTM D-638-08, para amostras do tipo IV na forma de “gravatas”, seguindo as seguintes dimensões: comprimento total: $115 \pm 0,5$ mm; comprimento de seção estreita (útil): 33 mm; largura da seção estreita: $6,0 \pm 0,5$ mm; espessura: 3,0 mm e largura total (cabeça) 25mm (Figuras 31 A e B).

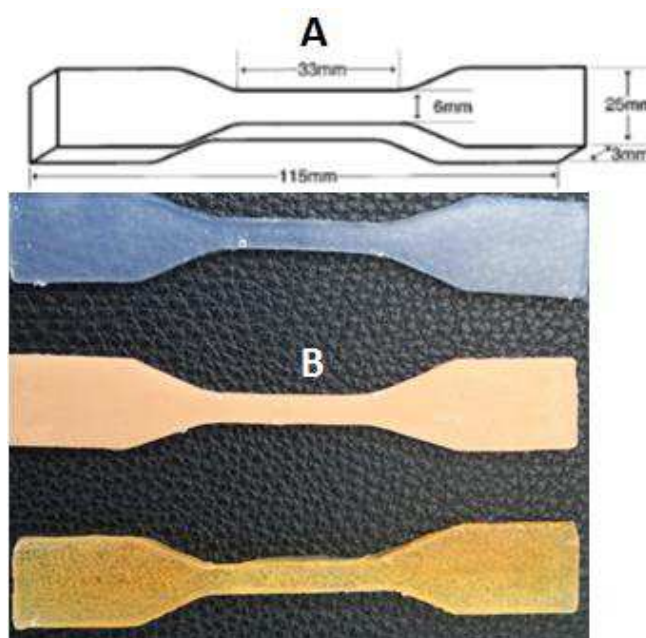


Figura 31 – A- Especificações de acordo com a ASTM D-638; B- Amostras para ensaios de tração

A resistência à tração é a tensão máxima que um material pode suportar antes de se romper. É medida como força por unidade de área. O ensaio foi realizado colocando-se os corpos de prova padronizados (Figura 31), na máquina universal de ensaios **EMIC** – DL 10 .000, pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais-CCT/UFCG, com uma força progressiva e controlada até o seu rompimento.

Este ensaio foi realizado em cinco corpos de provas de cada grupo seguindo a norma ASTM D 639-08, em temperatura ambiente, aplicando-se uma taxa de deslocamento da garra de 50mm/min. Os corpos de provas foram fixados no suporte

da máquina e o teste foi filmado por uma câmera digital para maior segurança. O equipamento registra a força necessária para manter o deslocamento, bem como a extensão sofrida pelo corpo de prova em função do tempo até a sua ruptura. Com base nesses dados, foram calculadas as tensões e extensões percentuais.

3.2.4.3.4.3 Análise dos dados

Os valores obtidos durante os ensaios foram anotados em uma planilha através do qual foram obtidas as médias, medianas, desvio padrão e valores mínimo e máximo dos testes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises dos insumos e compostos serão apresentados de acordo com os tipos de ensaios. Os insumos (silicone, maquiagem e bixina) foram caracterizados por MO, MEV-EDS, FTIR e TGA.

Foram, então, incorporados, ao silicone de grau médico, pigmentos provenientes de maquiagem e da bixina (*Bixa orellana* L). É sabido que a incorporação de pigmentos em matrizes poliméricas pode, além de conferir cor, afetar características como brilho, opacidade, propriedades mecânicas e estabilidade à radiação ultravioleta. Para Scotter (1995), os principais fatores que estão relacionados ao desempenho do pigmento são a dispersabilidade, o poder tintorial, o poder de cobertura, a resistência ao calor, à radiação ultravioleta, ao intemperismo e à migração.

Após a caracterização dos insumos, esses foram adicionados ao silicone nas proporções definidas na seção experimental, e os compostos pigmentados foram caracterizados por MO, MEV, FTIR e TGA, e seu desempenho avaliado através de ensaios mecânicos, de Citotoxicidade, de Sorção e de Biodegradação Enzimática. Todos os corpos de prova foram submetidos ao envelhecimento acelerado por exposição a ciclos de UV/temperatura/umidade e novamente caracterizados através de ensaios mecânicos, de Biodegradação Enzimática e de Citotoxicidade.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INSUMOS

Os materiais poliméricos quando expostos à qualquer tipo de radiações, podem gerar radicais livres, que são capazes de reagir por várias rotas. Podendo sofrer tanto cisão quanto reticulação de cadeia, e a suscetibilidade a um ou outro processo dependerá da estrutura da cadeia polimérica. Alguns polímeros apresentam tanto a cisão quanto a reticulação mas, normalmente, um mecanismo predomina sobre outro. A probabilidade de o PDMS formar ligações cruzadas é maior que sofrer cisão quando exposto a processos de radiação. Contudo, a taxa de formação de ligações cruzadas dependerá das condições de reação (reação em solução ou no estado sólido, da concentração, temperatura), tempo e intensidade de irradiação e da quantidade de unidades monoméricas disponíveis para a produção

de radicais livres e também da liberdade de a cadeia polimérica sofrer translação (Palsule, *et al.*, 2008; Delides, *et al.*, 1977).

O resultado da irradiação é a alteração nas propriedades óticas, mecânicas, térmicas e de solubilidade dos materiais investigados. A seguir são apresentados esses resultados que confirmam que o envelhecimento acelerado provocou alterações nas propriedades morfológicas e mecânicas do silicone utilizado nesse estudo.

4.1.1 Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV/Espectroscopia por energia dispersiva de raios X – EDS

A morfologia, distribuição e tamanho de partículas foram caracterizados usando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a composição química dos elementos presentes foram obtidas por espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDS). Todas essas caracterizações foram realizadas na UFCG-DEMA-CERTBIO, utilizando-se de um aparelho HITACHI modelo TM 1.000.

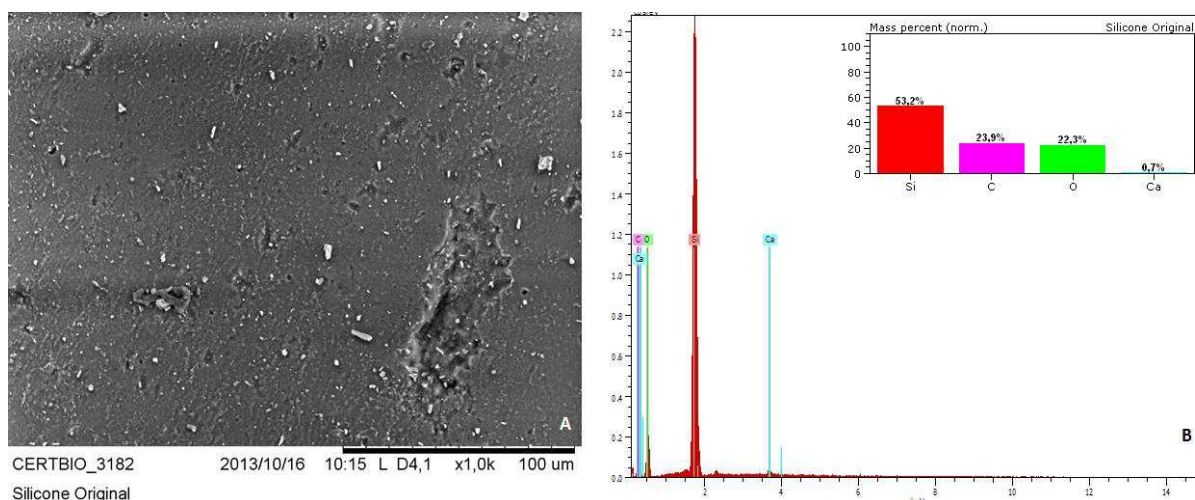


Figura 32 – Micrografia da amostra do silicone grau médico (A) e EDS das substâncias presentes no silicone (B).

A microestrutura do silicone de grau médico foi examinada por MEV (Figura 32-A). Observa-se a presença e formação de aglomerados com partículas de diversos formatos e tamanhos variando entre 1-5 μm aproximadamente. O EDS mostrou a presença de Si, C e O, típicos do silicone. As cargas provavelmente são de sílica. Não foram encontrados resíduos de catalisador de Pt ou Pd, mas foi encontrada uma pequena quantidade de Ca que não é característico do silicone original, que pode ser oriundo de alguma carga ou contaminação da matriz.

Nas Figuras 33(A) e 33(B) estão apresentados os MEV e EDS do pó de maquiagem. Verifica-se a presença de partículas de tamanhos variados de formulação complexa, compatível com aquela prevista para a maquiagem.

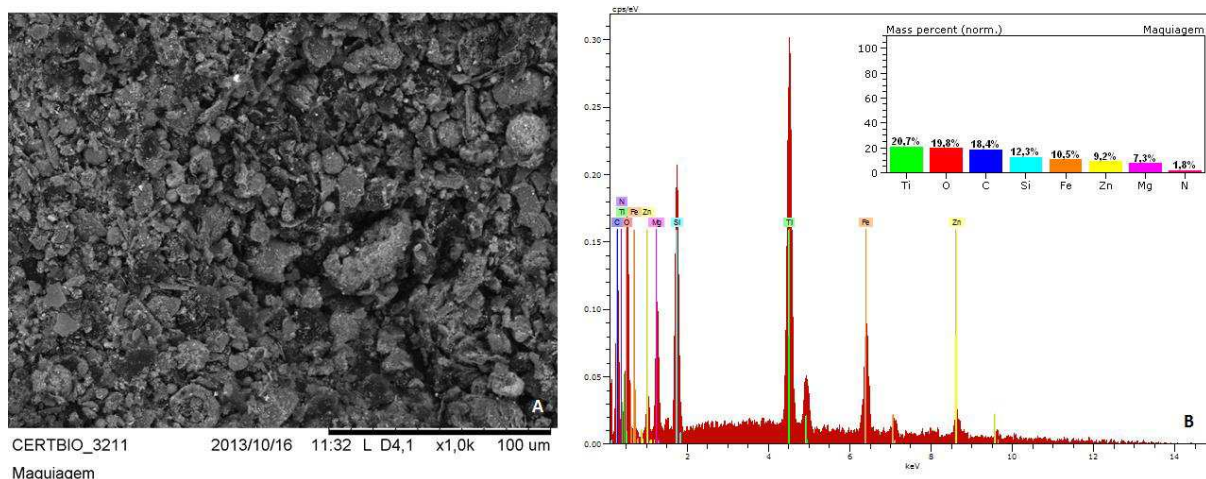


Figura 33 – (A) Micrografia da amostra do pó de maquiagem; (B) EDS das substâncias presentes no pó de maquiagem.

Nas Figuras 34(A) e 34(B), estão apresentados os MEV e EDS do pó de bixina. Verifica-se a presença de partículas de tamanhos variados, menores do que as do pó de maquiagem e a presença dos elementos (K,S), não previstos para a estrutura da bixina. Acredita-se que esses sejam devido a alguma contaminação. Vale salientar que essa bixina não é oriunda da solução utilizada no estudo e sim um concentrado, ou seja, urucum.

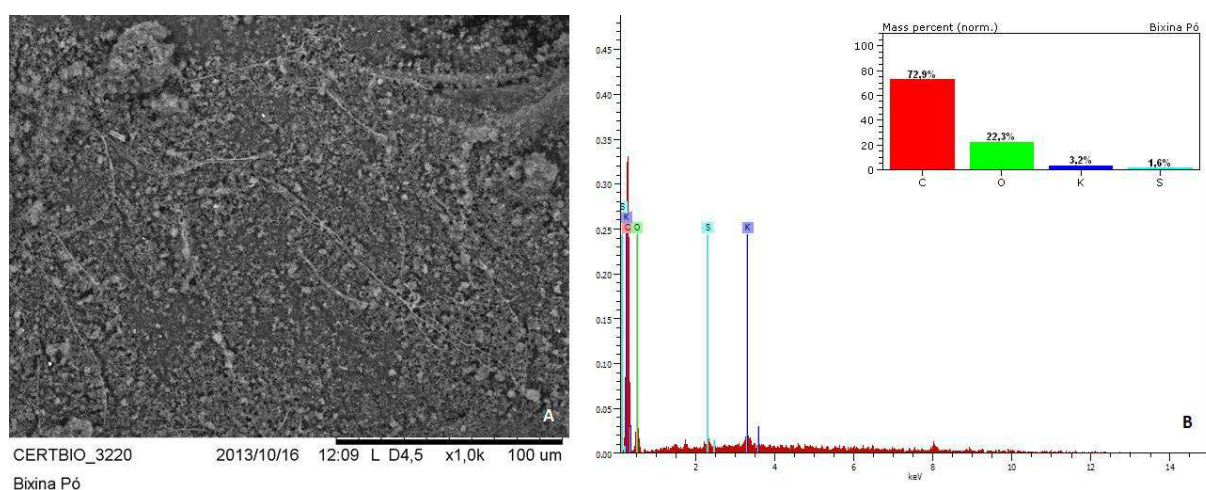


Figura 34 – (A) Micrografia da bixina; (B) EDS das substâncias presentes na bixina.

4.1.2 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR da maquiagem, da solução de bixina e do silicone são apresentados na Figura 35.

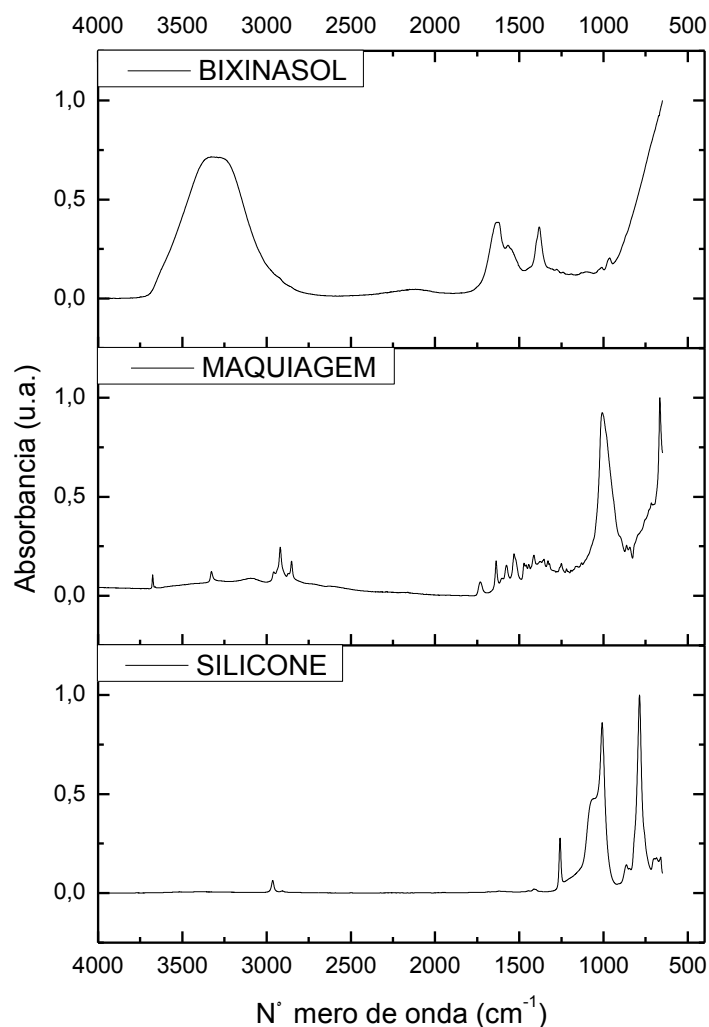


Figura 35 – Espectro no infravermelho da amostra dos insumos (silicone, maquiagem e solução de bixina).

Os espectros obtidos são coerentes com as composições dos insumos. O pigmento de maquiagem é uma mistura complexa composta por caulim, estearato de zinco, dióxido de titânio, óleo mineral, de silicone, lanolina, glicerina, pigmentos e essência. Portanto, é de se esperar que picos relativos a grupos funcionais carbonatos, ésteres e alquilas sejam os grupos vibracionais ativos. A bixina, por sua vez, apresenta ligações duplas conjugadas em sua estrutura, grupos carboxila e éster, que são os grupos ativos em seu espectro vibracional. A diferença entre os espectros da bixina em pó e da solução de bixina deve-se à concentração, maior no caso da bixina em pó, e da presença do solvente, no caso da solução de bixina. As atribuições das bandas principais da bixina são as seguintes: banda alargada em

3.195 cm^{-1} atribuída à vibração do alongamento da OH referente ao estiramento de O-H constituinte dos ácidos carboxílicos; a banda em 1.719 cm^{-1} referente ao estiramento da carbonila do éster. As atribuições com os grupos C-H e os estiramentos C=C, estão respectivamente associadas com as bandas que se encontram em 2.921 cm^{-1} , 1.605 e 1.561 cm^{-1} . A banda em 1.161 cm^{-1} é atribuída à vibração do grupo C-O.

4.1.2.1 FTIR do Silicone – Envelhecimento acelerado

A matriz de silicone foi sujeita ao envelhecimento acelerado por exposição a ciclos de UV-B/T/Umidade e caracterizada por FTIR em função do tempo de exposição à radiação UV-B. Os espectros de FTIR do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado estão mostrados na Figura 36 abaixo.

Acreditava-se que, sob as condições experimentais adotadas, o silicone pudesse degradar, por reticulação ou por hidrólise. Isto porque, relatos de uso continuado dessas próteses, indicam que as mesmas degradam após um ano de uso e necessitam ser substituídas após 12 a 18 meses de uso. (Lemon *et al.*, 1995; Hooper *et al.*, 2005; Polyzois *et al.*, 2011).

Para os tempos de irradiação investigados e sob as condições experimentais adotadas, não foram observadas diferenças significativas entre os espectros de infravermelho por FTIR do silicone em estado original antes e após radiações UV-B.

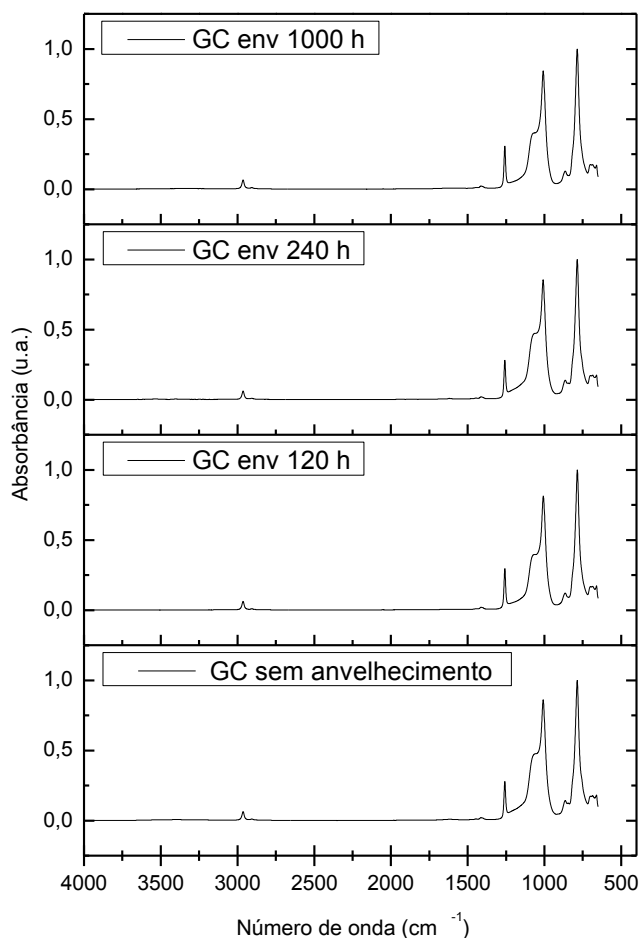


Figura 36 – FTIR do silicone grau médico em função do tempo de envelhecimento acelerado por exposição a ciclos UV-B/T/umidade.

4.1.3 Análise Termogravimétrica

A Análise Termogravimétrica ou Termogravimetria (TGA), consiste na avaliação da variação de massa de uma amostra, resultante de uma transformação física (sublimação, evaporação, condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura (Canevarolo Jr, 2004).

As curvas termogravimétricas dos insumos, conduzidas em taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1.000°C, em amostras com aproximadamente 10mg e atmosfera de N₂, estão apresentadas nas Figuras 37 a 39.

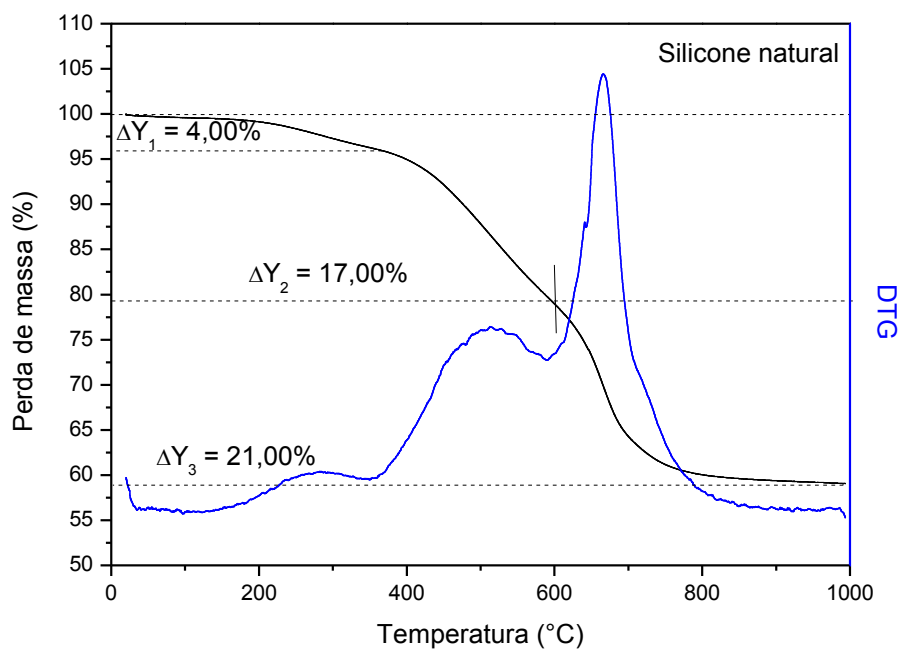


Figura 37 – Curvas termogravimétrica (TGA) da amostra de Silicone.

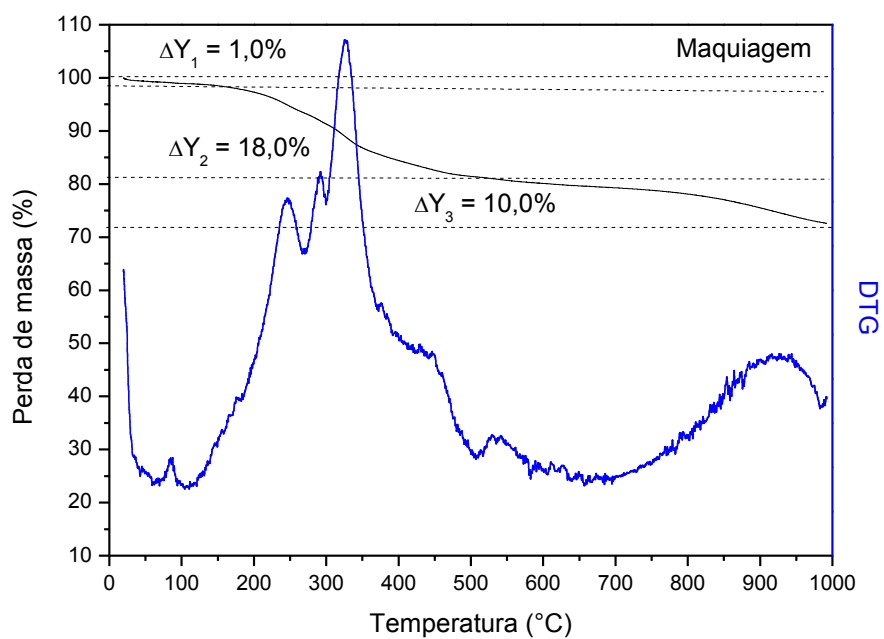


Figura 38 – Curvas termogravimétrica (TGA) de amostra de maquiagem.

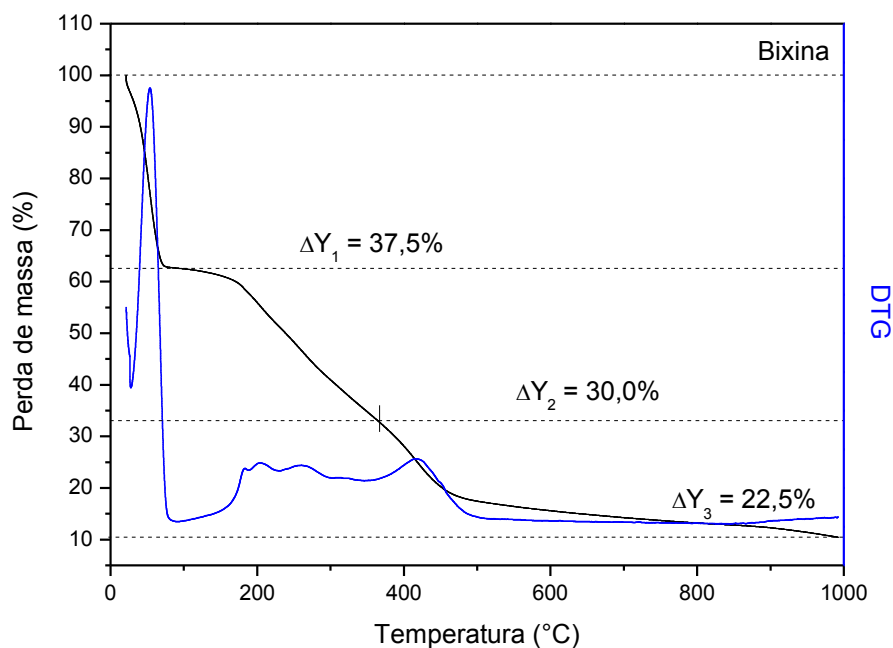


Figura 39 – Curva termogravimétrica (TGA) da amostra de Bixina.

Os resultados indicam que o silicone utilizado nessa pesquisa sofre 3 processos de perda de massa: o primeiro, entre 200°C e 300°C com perda de aproximadamente 5% de massa, o segundo, entre 300 e 600°C com perda 17,5% e, o terceiro, entre 600 e 800°C com perda de aproximadamente 17,5% de massa. Em estudo correlato, utilizando o mesmo material, Pinheiro (2012) observou 2 perdas de massa para o mesmo silicone em temperaturas semelhantes às observadas para a primeira e terceira temperaturas aqui descritas. A segunda perda de massa, claramente observado neste estudo, aparece naquele reportado por Pinheiro como um pequeno "ombro" não considerado como pico por aquela autora. O motivo para o não aparecimento do segundo pico no estudo de Pinheiro pode ter decorrido do fato de que, naquele caso, a taxa de aquecimento foi de 20°C/min, ao invés dos 10°C/min utilizados neste presente estudo. Em ambos os casos, o teor total de massa perdida na faixa de temperatura até 600°C foi equivalente. A primeira perda de massa pode ser atribuída à umidade e, a segunda e terceira perdas de massa, a rupturas de ligações Si-O-Si e Si-CH₂.

A curva de perda de massa apresentada pela maquiagem é complexa e reflete a sua composição que é constituída de caulim estearato de cálcio, dióxido de titânio, óleo mineral, óleo de silicone, lanolina, glicerina, pigmentos e essências. As diversas etapas de perda de massa em temperaturas mais baixas (inferiores a

300°C) são atribuídas à degradação das essências, glicerina e lanolina; em temperaturas mais elevadas (acima de 300°C) ocorre a degradação do estearato de cálcio e dos óleos de silicone e mineral. O carbonato de cálcio e os pigmentos inorgânicos se decompõem em temperaturas superiores a 600°C.

A bixina, por sua vez, sofre pelo menos 2 etapas de perda de massa a saber: a primeira entre 25 e 100°C com perda de massa de 35% atribuída à perda de umidade e perda de voláteis, a segunda, com múltiplas perdas entre 150 e 500°C com perda de massa de 45% atribuída à degradação e volatilização de compostos orgânicos oriundos da cisão de sua cadeia já que a bixina é um material orgânico composto por longas cadeias com ligações duplas conjugadas, contendo grupos éster e ácido carboxílico terminais, conforme mostrado na Figura 39.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS – EFEITOS DA DEGRADAÇÃO

4.2.1 Microscopia Ótica

Imagens de microscopia ótica da superfície do silicone e dos compostos pigmentados em função do tempo de envelhecimento foram analisadas com o intuito de observar, mais detalhadamente, os efeitos da exposição a ciclos de irradiação UV-B, temperatura e umidade – aspectos na morfologia das amostras de silicone medicinal.

Na Figura 40(A, B e C), estão apresentadas as superfícies internas das amostras de silicone e dos compostos pigmentados com maquiagem e bixina com aumentos de 40x.



Figura 40 – Microscopia ótica da superfície interna das amostras de silicone natural (A), pigmentado com maquiagem (B) e com solução de bixina (C) não envelhecidos com aumentos de 40x.

As imagens de microscopia ótica com aumentos de 160x em função do tempo de envelhecimento acelerado (0,120, 240 e 1.000 horas) da superfície interna das amostras evidenciam uma superfície plana caracterizada principalmente por ranhuras e poros, devido a presença de bolhas. As ranhuras são resultado do corte com estilete.

A cor das amostras pigmentadas com maquiagem é mais intensa e escura e aquela pigmentada com bixina é mais clara e amarelada, com maior número de poros, o que pode estar relacionado ao fato de a bixina ter sido adicionada em solução. Nas amostras contendo maquiagem, verifica-se a presença de partículas, provavelmente oriundas de minerais.

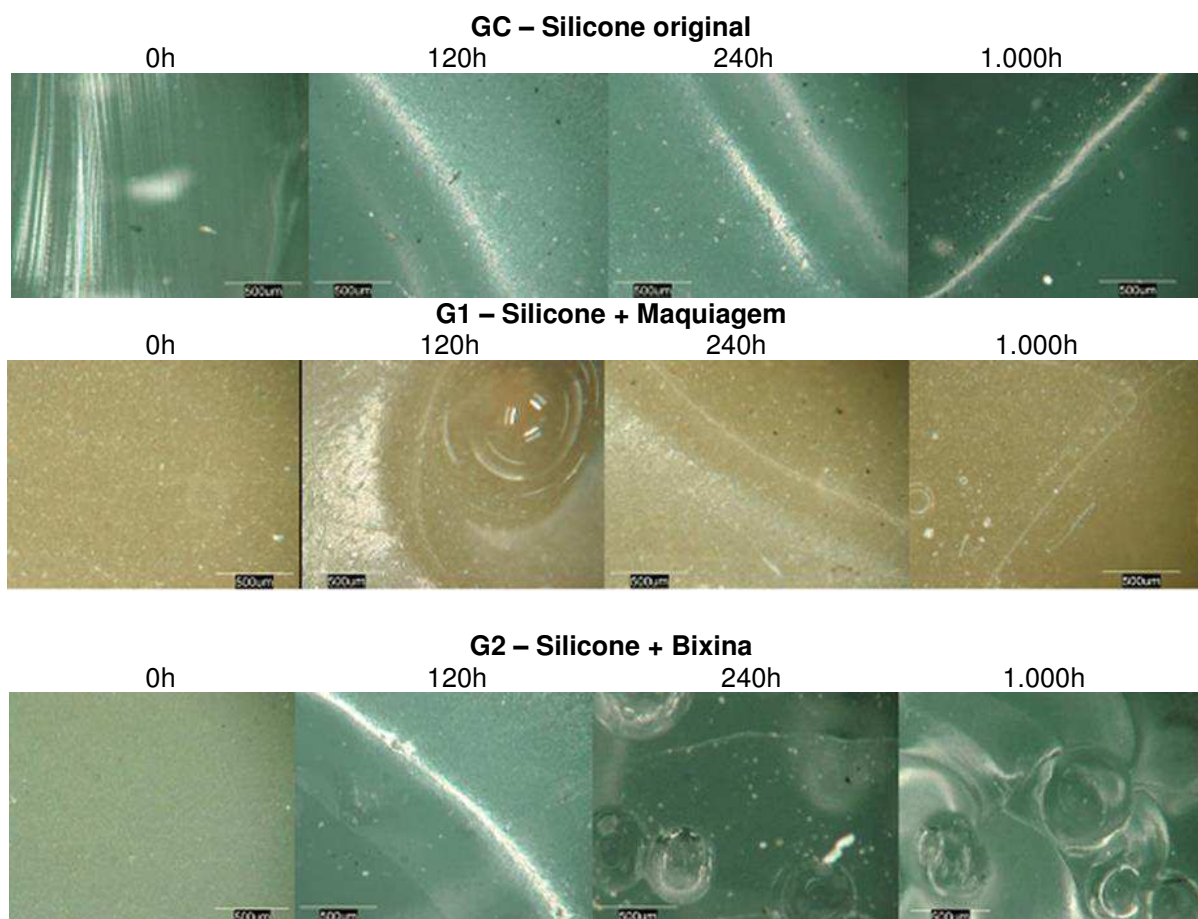


Figura 41 – Imagens (Microscopia Ótica) das superfícies dos corpos de prova

Para a parte interna das amostras, não foram observadas consideráveis alterações de cor ou de textura com o tempo de envelhecimento acelerado, nem para o grupo controle nem para os sistemas pigmentados. As imagens do sistema com maquiagem sugeriram uma superfície um pouco mais escura e rugosa, ao passo que as imagens dos sistemas compostos com bixina, apresentaram um maior número de poros. É possível que, durante o envelhecimento, com a ciclagem

térmica, irradiação UV-B e umidade, reações de cisão e reticulação tenham ocorrido, liberando gases hidrogênio, metano e etano para a superfície do material gerando um número ainda maior de bolhas. Estes resultados sugerem que um estudo mais aprofundado e com maior número de amostras necessita ser realizado para que conclusões mais precisas possam ser alcançadas.

Alterações encontradas na coloração, aglomeração de partículas e separação de fases por fissuras e rachaduras são sinais que confirmam a ocorrência da degradação do material polimérico (ESTEVES, et al., 2010).

4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As fotomicrografias, ilustradas nas Figuras 42 a 47, obtidas com aumentos de 1.000x, 3.000x e 6.000x, correspondem às imagens da superfície de fratura em tração dos corpos de prova de Silicone (GC) e dos compostos aditivados com maquiagem (G1) e bixina (G2) antes e após o envelhecimento acelerado nos tempos de 0, 120, 240 e 1.000 horas.

Para as amostras não envelhecidas (Figuras 42, 43 e 44), as imagens sugerem que os corpos de prova do silicone (GC) (Figura 42) apresentam uma superfície plana e uniforme. Acredita-se que as estrias observadas nas amostras de silicone possam ser atribuídas a bandas de estiramento durante o ensaio de tração. Nota-se também algumas partículas aderidas à matriz, o que era esperado já que a matriz de silicone, na realidade, é um composto com teor de sílica coloidal relativamente elevado.

As imagens das amostras aditivadas com maquiagem (G1) (Figura 43) apresentam-se mais rugosas, com presença de partículas do pigmento mineral, fracamente aderidos à matriz de silicone. Na imagem das amostras G1, são observados alguns aglomerados dispersos sobre a matriz de silicone. A adesão pigmento/matriz parece ser pobre, com adesão relativamente baixa.

No caso das amostras aditivadas com a solução de bixina (G2) (Figura 44), percebe-se um maior número de aglomerados na superfície da amostra. A adesão também parece ser falha e esses aglomerados, em média, são maiores do que os observados para a carga mineral, o que é indicativo de uma baixa dispersão da bixina no solvente ou um tamanho de partícula do pigmento orgânico maior do que o dos pigmentos inorgânicos utilizados na maquiagem.

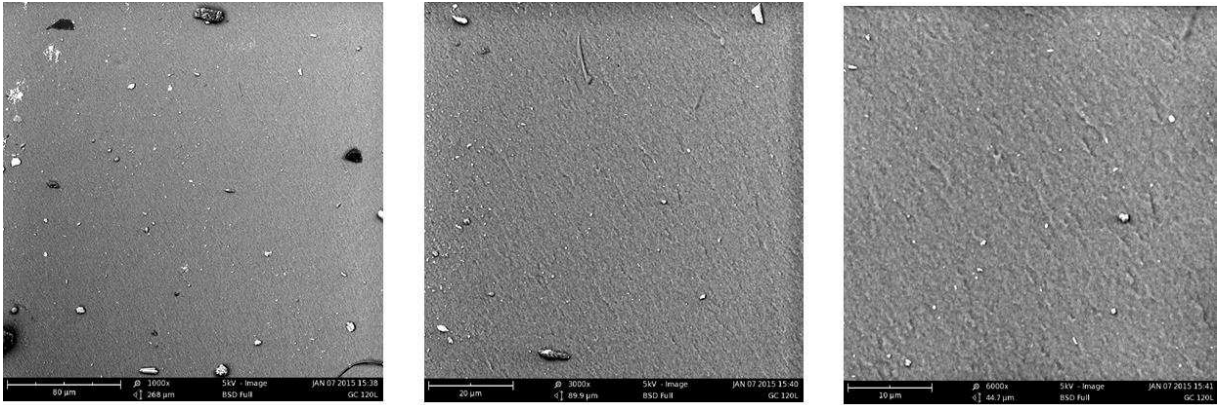


Figura 45 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

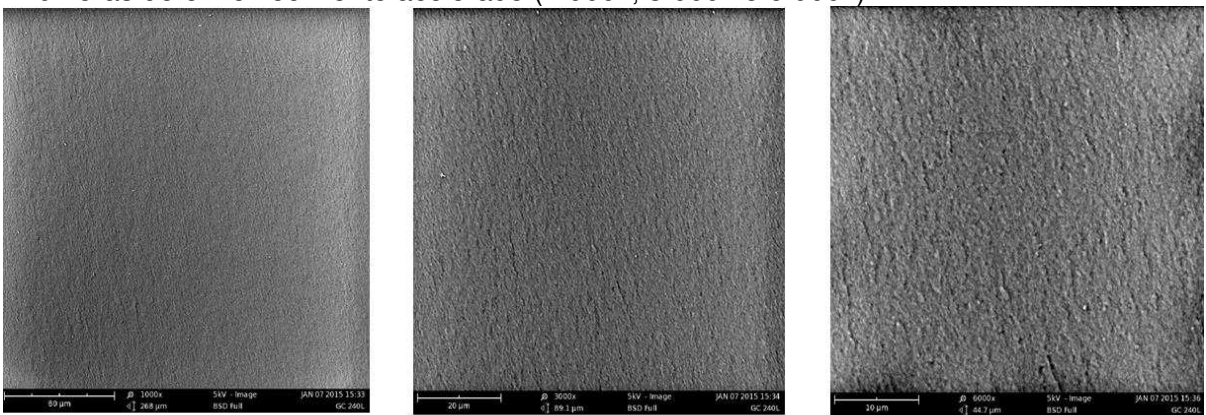


Figura 46 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

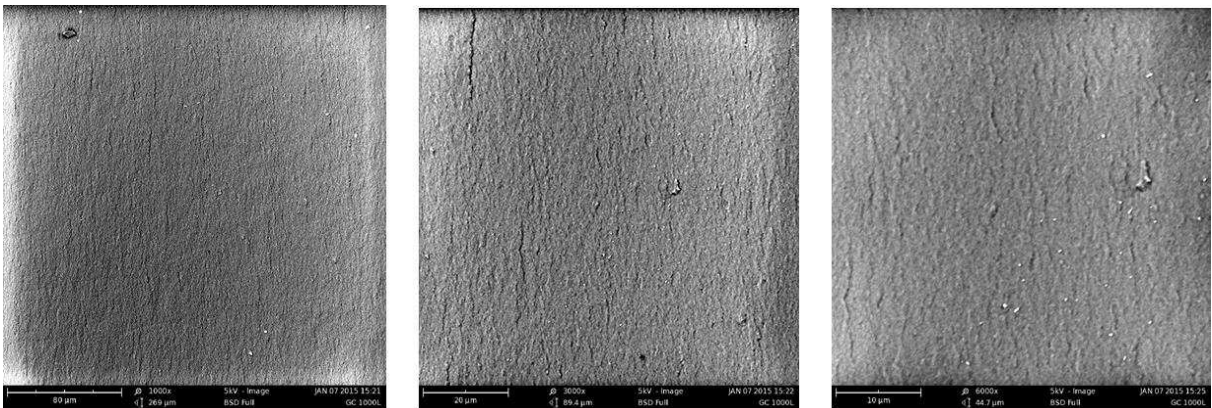


Figura 47 - Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do GC com 1.000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

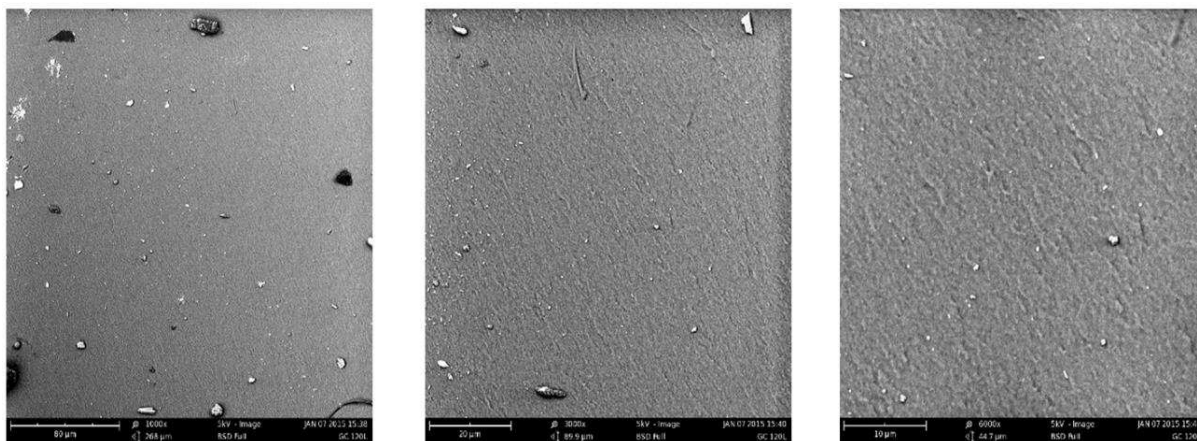


Figura 48 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

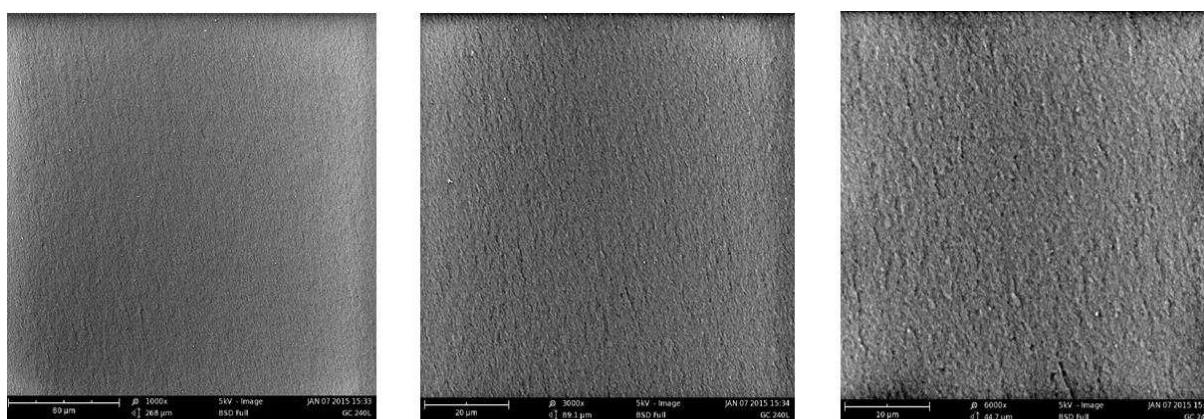


Figura 49 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

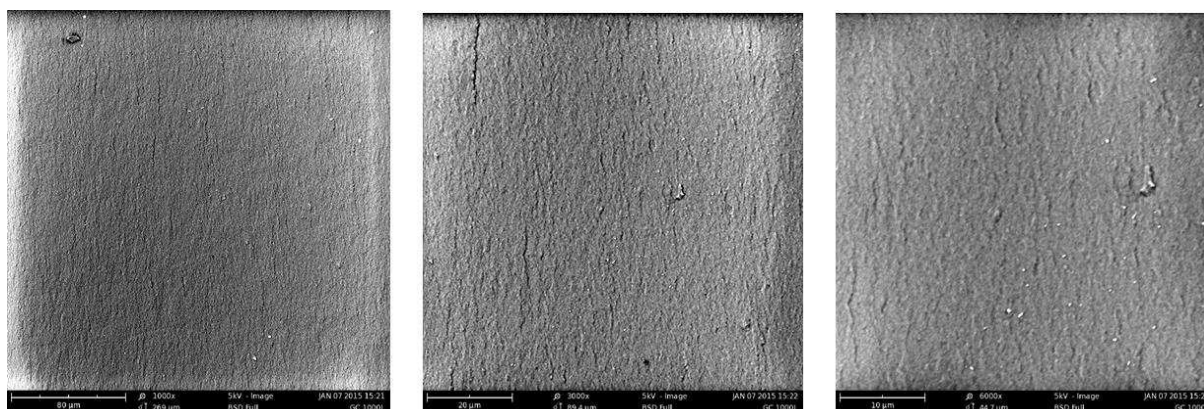


Figura 50 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G1 com 1.000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

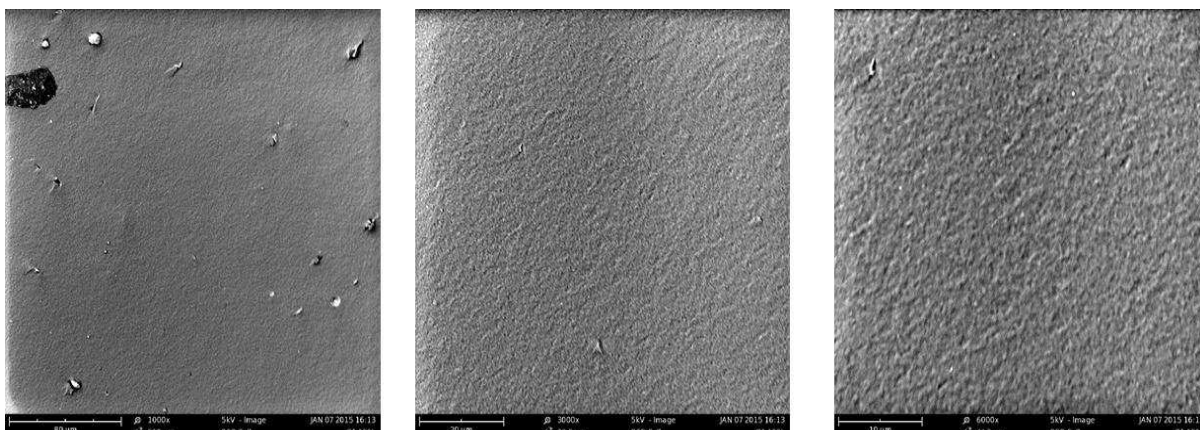


Figura 51 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 120 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

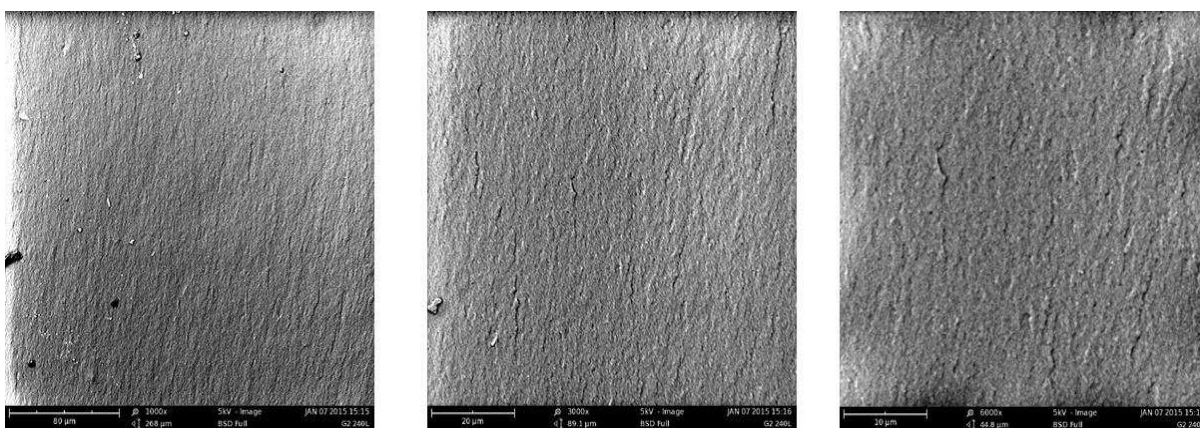


Figura 52 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 240 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x).

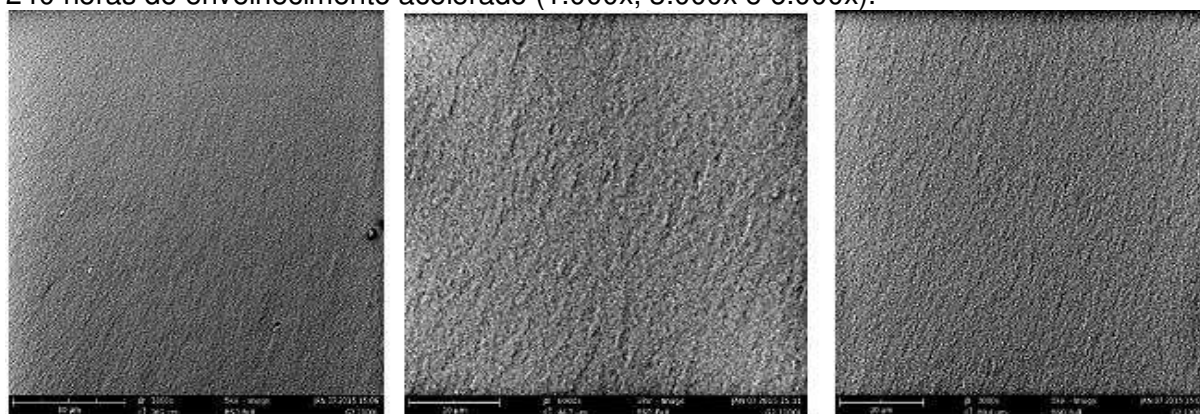


Figura 53 – Microfotografias, por MEV das superfícies de fratura de amostras do G2 com 1.000 horas de envelhecimento acelerado (1.000x, 3.000x e 6.000x)

Os resultados indicam que, para todas as amostras, à medida que o tempo de envelhecimento acelerado aumenta, mais rugosa se torna a superfície. De modo geral, após 240 e 1.000h de envelhecimento acelerado, a superfície interna de todas

as amostras, independentemente de sua composição, tornaram-se bastante similares, com aparência mais frágil e rugosa. Comparativamente, a alteração mais significativa parece ter sido a da matriz de silicone e do sistema contendo o pigmento bixina. Outro fato digno de nota é que, nas amostras envelhecidas em tempos mais longos (240 e 1.000h) não são visualizados os aglomerados de carga, o que parece sugerir que esses tenham se desprendido da superfície. A adesão carga/matriz, que já era pobre, parece ter se deteriorado ainda mais com o envelhecimento. É provável que, durante a manipulação das amostras para a preparação para a análise de MEV, as cargas tenham se desprendido e sido removidas da superfície delas.

4.2.3 FTIR dos compostos

O espectro molecular vibracional no infra-vermelho permite identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra a partir de picos oriundos de vibrações específicas de grupamentos químicos presentes naquela amostra. Sendo assim, o efeito do tempo do envelhecimento acelerado na estrutura da matriz e dos compostos de silicone aqui investigados foi avaliado por FTIR. O surgimento de novos picos ou a supressão de picos existentes é tido como uma evidência de alterações estruturais das moléculas presentes no composto. É importante ressaltar que, mesmo ocorrendo, ocasionalmente essas alterações podem não ser observadas no espectro de FTIR caso sua concentração seja baixa ou seus picos estejam total ou parcialmente encobertos por outros picos fortes, oriundos de outras substâncias presentes na amostra, que não tenham sofrido modificação química.

Tanto a matriz de silicone quanto os compostos pigmentados com maquiagem ou bixina foram submetidos ao envelhecimento acelerado por exposição a ciclos de UV-B/T/Umidade e caracterizada por FTIR em função do tempo de exposição à radiação UV-B. Os espectros de FTIR do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado estão mostrados na Figura 54, os pigmentados com maquiagem na Figura 55 e os pigmentados com bixina na Figura 56.

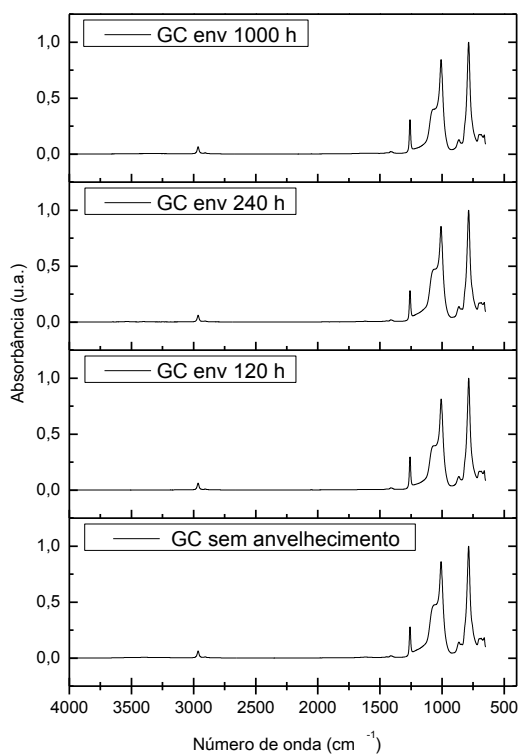


Figura 54 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado.

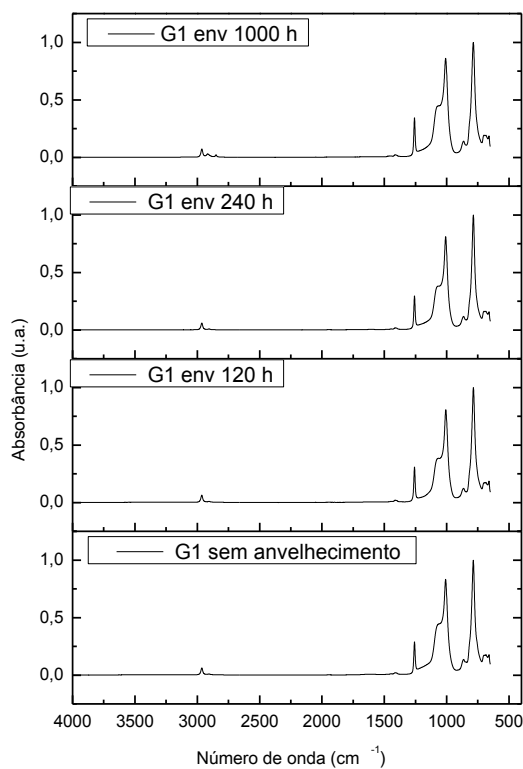


Figura 55 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone pigmentado com maquiagem, em função do tempo de envelhecimento acelerado.

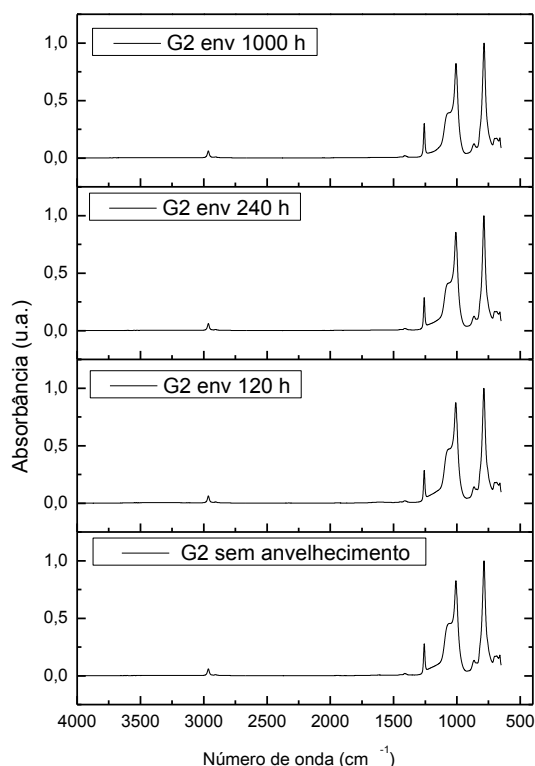


Figura 56 – Espectrogramas na região do infravermelho da amostra do silicone pigmentado com bixina, em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Como mencionado anteriormente (em 4.1.2.1), acreditava-se que, sob as condições experimentais adotadas, o silicone pudesse degradar, por reticulação ou por hidrólise. No entanto, para os tempos de irradiação investigados e sob as condições experimentais adotadas, não foram observadas diferenças significativas entre os espectros de infravermelho por FTIR nem da matriz de silicone, nem do sistema pigmentado com bixina antes ou após o envelhecimento acelerado por ciclos de irradiação UV-B/Temperatura/Umidade.

Nos espectros do silicone pigmentado com maquiagem, não foram observadas alterações significativas nos espectros em função do tempo de envelhecimento até 240h de irradiação. A única diferença observada foi em 1.000h de irradiação com o surgimento de novos picos de pequena intensidade entre 3.000-2.750cm⁻¹. Picos nessa região estão associados a estiramentos de grupos CH₂ e CH. É possível que sejam oriundos de cisão da cadeia orgânica do

polidimetilsiloxano (silicone), catalisada pela presença de metais pesados presentes no pigmento maquiagem.

4.2.4 TGA dos compostos

As curvas termogravimétricas do silicone e dos compostos contendo os pigmentos de maquiagem e bixina são mostradas nas Figuras 57, 58 e 59 abaixo. O efeito de 1.000 h de envelhecimento acelerado nesses mesmos sistemas são apresentados nas Figuras 60 a 62.

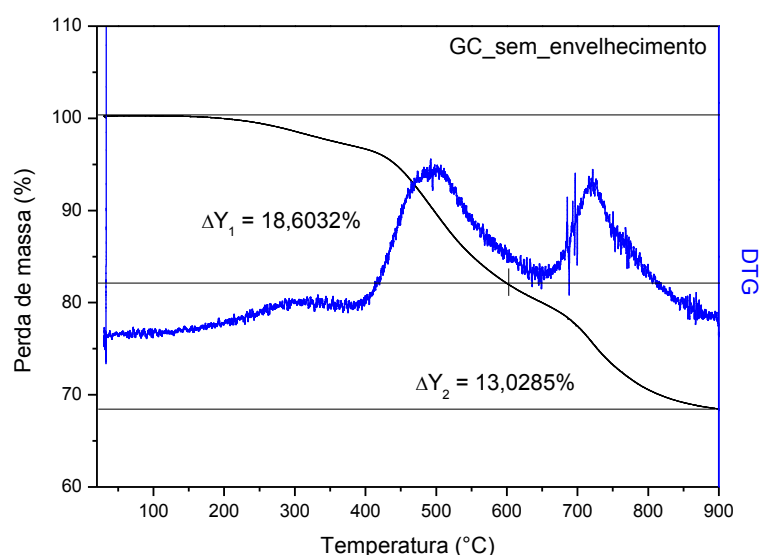


Figura 57 – Termograma da amostra do silicone não pigmentado antes do envelhecimento acelerado.

Segundo a literatura, a curva termogravimétrica (TGA) do PDMS apresenta 02 (dois) estágios de decomposição: o primeiro em temperaturas na faixa de 390°C a 540°C, com perda de massa de 12% a 18,7% atribuído à decomposição do PDMS através da cisão das ligações Si-O, formando oligômeros cíclicos, energeticamente mais favoráveis, principalmente hexametiltrisiloxano e octametiltetrasiloxano (Madsen, *et al.*, 2013; Almeida, *et al.*, 2014; Esteves, *et al.*, 2010) e o segundo estágio de perda de massa ocorre devido à decomposição final dos oligômeros cíclicos gerando o sólido residual SiO₂ (Almeida, *et al.*, 2014; Esteves, *et al.*, 2010). Para Graziano *et al.*, (1995), o primeiro estágio de decomposição do PDMS reticulado ocorre em temperaturas superiores a 425°C, e esse autor afirma que a estabilidade térmica do PDMS aumenta de acordo com o aumento do nível de reticulação. Já no segundo estágio, a perda de massa ocorre em decorrência da

decomposição final dos oligômeros cíclicos, gerando o sólido residual SiO_2 (ALMEIDA, et al., 2014; ESTEVES, et al., 2010). Em altas temperatura, observa-se a degradação dos oligômeros cíclicos que é seguido por um caminho termodinamicamente favorecido pela clivagem da ligação Si-C, por ser menos estável que as ligações Si-O e C-H nestes siloxanos (Chenoweth, *et al.*, 2005). É possível que o pequeno pico observado em temperatura inferior a 300°C possa ser atribuído ou à cura incompleta ou ao fato da taxa de aquecimento utilizada ($10^\circ\text{C}/\text{min}$) ter sido inferior à da reportada na literatura ($20^\circ\text{C}/\text{min}$).

Conforme preconiza a literatura, na decomposição térmica do PDMS é gerada uma elevada quantidade de resíduo de SiO_2 , na faixa de 60 a 87% (Almeida, *et al.*, 2014; Ghanbari-Siahkali, *et al.*, 2005). Para Moghadam *et al.*, (2014) a menor massa residual de poli(dimetilsiloxano) é de 29%, sob temperatura igual ou superior a 800°C . Nesta pesquisa, o teor de resíduo para a decomposição do silicone foi de aproximadamente 68%.

Aquecidos a temperaturas muito elevadas, os polímeros sofrem uma degradação térmica, que consiste em uma reação que envolve a cisão de cadeia (principal e secundária), perda de grupamentos químicos, rearranjos estruturais e formação de novas ligações químicas e reticulação, promovendo várias mudanças físico-químicas que podem levar à formação de gases, líquidos e mudanças de coloração. A habilidade do polímero em resistir à decomposição química causada pelo aquecimento a altas temperaturas é chamada de estabilidade térmica. Um dos fatores determinantes da estabilidade térmica do polímero é a energia das ligações da cadeia principal (Damian *et. al*, 2005).

A ligação C-C é uma das mais resistentes à degradação térmica. A presença de átomos de hidrogênio na molécula do polímero diminui a energia entre a ligação C-C, motivo pelo qual os hidrocarbonetos com elevada massa molecular e seus derivados possuem comparativamente baixa estabilidade sendo facilmente degradados com o aquecimento em temperaturas elevadas. O silicone, quando aquecido em temperaturas elevadas sofre degradação. (Tager, 1978).

As figuras abaixo mostram os termogramas obtidos dos compostos estudados, através da superposição das curvas termogravimétricas (TGA) de decomposição térmica do Silicone original adicionado com pigmentos de maquiagem ou bixina.

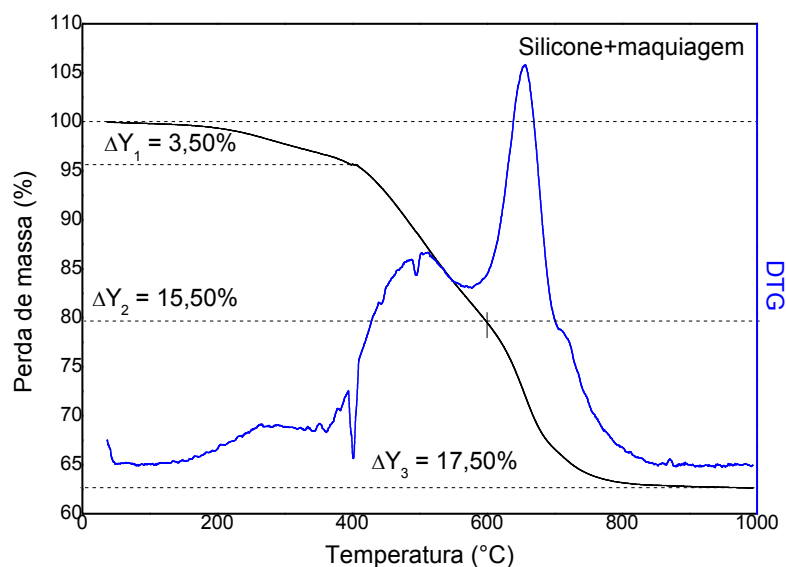


Figura 58 – TGA da amostra de silicone pigmentado com maquiagem

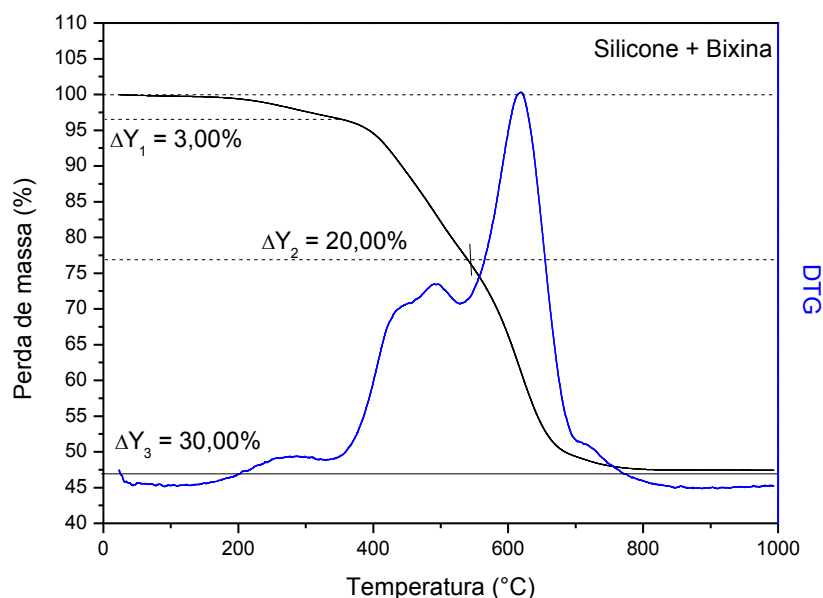


Figura 59 – TGA da amostra do silicone pigmentado com bixina

Nas curvas termogravimétricas não se percebem picos oriundos dos pigmentos incorporados (maquiagem ou bixina). A aparência dos termogramas dos compostos pigmentados é bastante semelhante à do silicone original. O motivo para esse comportamento é que o teor de pigmento incorporado é muito pequeno de modo que o efeito da sua perda de massa torna-se praticamente imperceptível frente à maior perda de massa observada para a matriz silicone.

O efeito de 1.000 horas de envelhecimento acelerado nas curvas termogravimétricas do silicone e dos compostos pigmentados com maquiagem e bixina é mostrado nas Figuras 60 a 62 respectivamente.

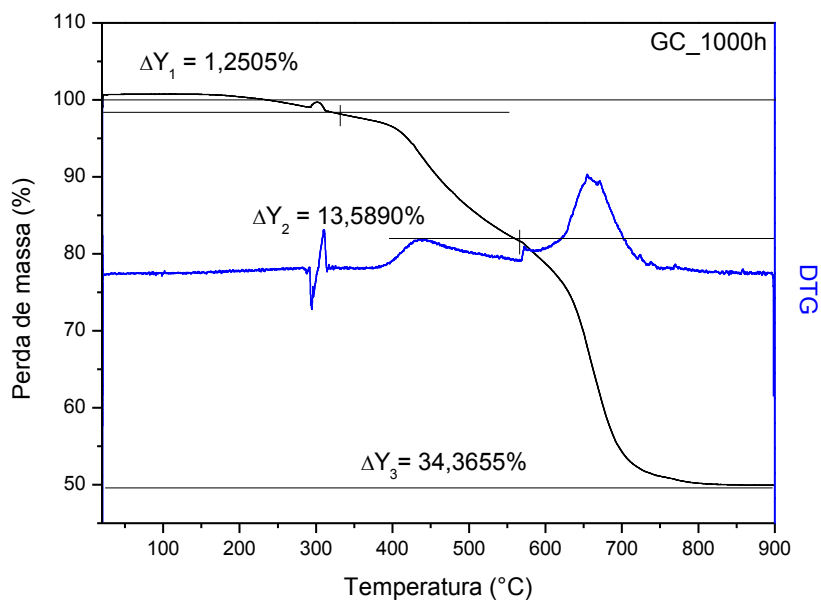


Figura 60 – Curva Termogravimétrica do silicone envelhecido por 1.000 h.

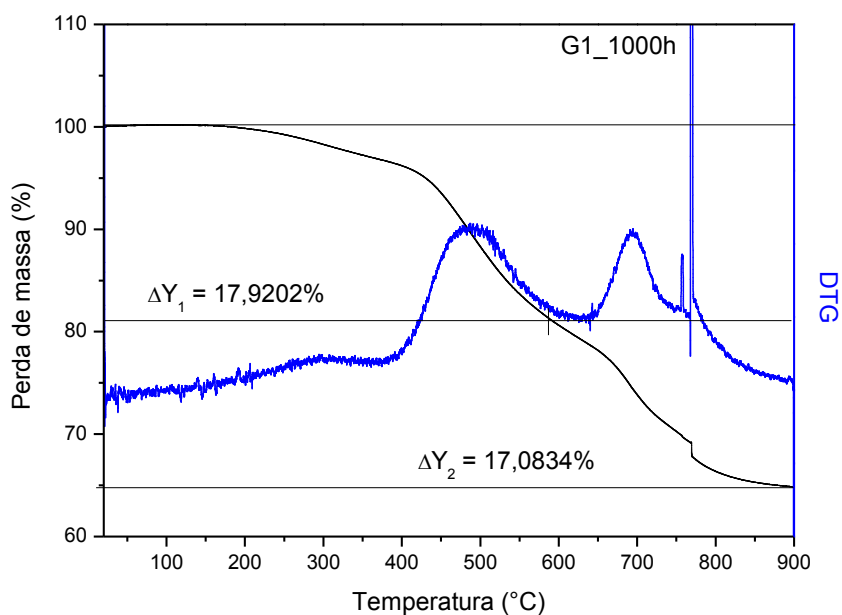


Figura 61 – Curva termogravimétrica do silicone pigmentado com maquiagem envelhecido por 1.000 h.

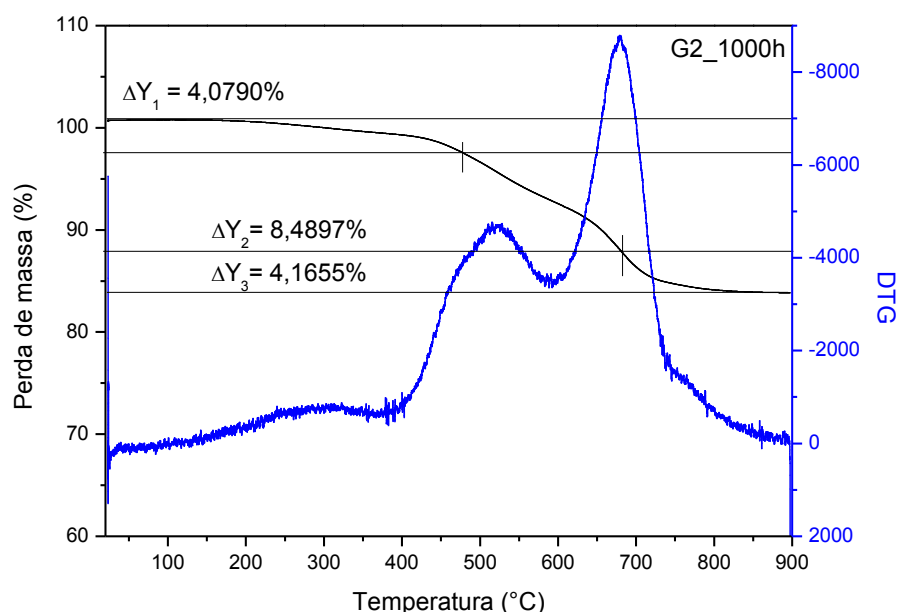


Figura 62 – Curva termogravimétrica do silicone pigmentado com bixina envelhecido por 1.000h.

Na tabela 03 abaixo estão listados os principais eventos térmicos ocorridos durante o ensaio termogravimétrico das amostras investigadas, não envelhecidas e após 1.000 h de envelhecimento acelerado.

Tabela 3 – Efeito do envelhecimento nos eventos térmicos da matriz e compostos

% de Material Decomposto				Pico de Decomposição			
Material	1ª Perda	2ª Perda	3ª Perda	1ª Perda	2ª Perda	3ª Perda	Resíduo
GC	18,60%	13,03%	-	498°C	718°C	-	68,37%
GC+1.000°C	1,25%	18,60%	13,02%	295°C	434°C	658°C	67,13%
G1	15,99%	29,52%	-	315°C	712°C	-	54,49%
G1+1.000°C	17,92%	17,08	-	315°C	710°C	-	65,00%
G2	18,84%	41,21%	-	449°C	681°C	-	39,95%
G2+1.000°C	9,08%	48,95%	1,26%	319°C	551°C	712°C	40,71%

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Os resultados indicam que a incorporação de pequena quantidade de pigmentos ao silicone alterou a decomposição térmica dos sistemas. De modo geral, a temperatura do pico do primeiro estágio de decomposição térmica foi reduzida. Essa redução foi mais significativa com a incorporação do pigmento maquiagem, o que pode ser atribuído à presença de metais pesados (zinco, titânio) na composição daquele pigmento sendo capazes de catalisarem o início da degradação do silicone.

É digno de nota, no entanto, que a quantidade de massa perdida nessa primeira etapa de decomposição, ao passo que, praticamente foi independente do tipo de pigmento adicionado à matriz. A temperatura de decomposição da segunda perda de massa praticamente não foi alterada com a incorporação do pigmento de maquiagem e diminuiu em cerca de 37°C com a incorporação da bixina. Em ambos os casos, a perda de massa nesse estágio aumentou notadamente com a incorporação dos pigmentos, particularmente para o material pigmentado com bixina, o que é atribuído ao fato de a bixina ser um pigmento orgânico. Esperava-se que o teor de resíduo do sistema pigmentado com maquiagem fosse maior do que o do sistema não pigmentado (já que a maquiagem possui, em sua composição, elementos não voláteis), o que não ocorreu. Acredita-se que isso possa ser atribuído a um efeito de degradação causado pelos metais (Zn, Ti) presentes no pigmento da maquiagem sobre o silicone.

A Tabela 03 também mostra o efeito do envelhecimento acelerado na perda de massa do silicone e dos compostos investigados. Os resultados indicam que o envelhecimento acelerado alterou a degradação térmica de todos os sistemas investigados. No caso do sistema não pigmentado e daquele pigmentado com bixina, houve o surgimento de um terceiro evento de perda de massa, que foi mais acentuado para o sistema não pigmentado e, no caso daquele pigmentado com maquiagem, a degradação provocou um aumento de 9,5% no teor de resíduo carbonáceo. O envelhecimento acelerado, tal como a degradação térmica, pode provocar cisão, rearranjos, formação de ligações químicas e reticulação, que implicam várias mudanças físico-químicas nas moléculas. O surgimento de um terceiro estágio de degradação térmica atesta que o envelhecimento térmico alterou a estrutura do silicone natural e pigmentado com bixina e que essa alteração, aparentemente, foi mais intensa para o sistema pigmentado com bixina. Acredita-se que o fato de o sistema pigmentado com maquiagem ter gerado um teor de resíduo maior seja indicativo de que, nesse caso, após a exposição a ciclos de irradiação UV-B/T/Umidade, a amostra tenha reticulado, aumentando sua estabilidade térmica, gerando um maior teor de resíduos inorgânicos.

4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.3.1 Citotoxicidade

A biocompatibilidade, ou bioaceitação, consiste na capacidade que um material possui de desenvolver uma resposta biológica apropriada ao entrar em contato com tecidos vivos ou fluidos orgânicos. A interação que ocorre na interface material/tecido é dinâmica e depende de uma série de fatores como: o local a ser implantado o biomaterial, as propriedades do material e a resposta biológica do hospedeiro. (Reis, 2009; Anusavice, 2005).

Resultados de relevantes pesquisas confirmam a importância do estudo *in vitro* da viabilidade ou sobrevivência celulares para a análise da citotoxicidade em materiais das mais diversas áreas. Assim, a aplicabilidade também deve estar dirigida para os silicones elastoméricos indicados para confecção de próteses faciais. Nesse enfoque, os ensaios *in vitro* de polímeros possibilitam não só a avaliação das propriedades biológicas básicas do material, por ser um método de menor custo e de maior reprodutibilidade do que um teste executado em animais (Camps e About, 2003; Souza *et al.* (2006) mas também permitem detectar os mecanismos homeostáticos que ocorrem *in vivo*, como ressaltam Ribeiro *et al.* (2005). Outra vantagem do experimento *in vitro* é a facilidade no controle dos fatores experimentais, o que dificilmente se observa nos ensaios realizados em experimentos *in vivo* (Scelza *et al.*, 2001; Camps, About, 2003).

Devido a sua rapidez e objetividade, o ensaio com o MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il] – 2,5-difeniltetrazolium) vem sendo utilizado como um teste de citotoxicidade *in vitro* em culturas celulares. Principalmente como teste de triagem em materiais indicados para serem usados em mamíferos, antes que outros testes mais complexos e avançados sejam indicados. Este teste se baseia na capacidade das células viáveis de reduzirem o sal do MTT em seu metabolismo mitocondrial. O sal reduzido adquire uma coloração roxa, que pode ser mensurada em espectrofotômetro utilizando-se um leitor de Elisa (Kim *et al.*, 2007).

O Controle positivo ocorre quando uma substância apresenta efeito citotóxico de maneira reprodutível, já o controle negativo é observado quando um material ou substância biológica não produz efeito citotóxico sobre as células. O índice de citotoxicidade do controle negativo foi acima de 75%. As amostras de

silicone testadas mostraram comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, não citotóxico.

Diferentes estudos tem sido realizados empregando este método com a finalidade de avaliar a citotoxicidade de diversos materiais para aplicação na área odontológica (Huang *et al.*, 2002; Lodiene *et al.*, 2008; Al-Hiyasat *et al.*, 2010), fundamentados nestes estudos e por oferecer resultados precisos, foi aplicado este teste para avaliar a citotoxicidade da amostra do silicone em estado natural e incorporado com pigmentos, antes e após o envelhecimento acelerado.

Na Tabela 4 e na Figura 63, estão apresentados os resultados da viabilidade celular, referentes ao ensaio de citotoxicidade, nos corpos de prova do silicone em função do tempo de envelhecimento, para todas as amostras investigadas, isto é, para o silicone original (GC) e pigmentado com maquiagem (G1) e bixina (G2).

Os percentuais de viabilidade celular dos silicões natural e pigmentados investigados, foram estatisticamente muito significativos uma vez que foram identificados elevados percentuais de sobrevivência celular em todos os grupo estudados. Os grupos GC e G1 foram os menos citotóxicos sobre as células L929, mantendo um excelente padrão de sobrevivência celular, antes do envelhecimento. Os resultados de todos os grupos ao longo do estudo, não apresentaram diferença estatisticamente significativos no efeito de citotoxicidade *in vitro*, entre os grupos avaliados, independentemente dos tempos de envelhecimento. Estes resultados corroboram com os achados de Oliveira (2009), que, ao avaliar os extratos puros dos biomateriais Veloderm® e Biopiel®, constatou a não citotoxicidade dos materiais estudados, principalmente no cultivo de 72 horas segundo o teste de MTT.

Fundamentado em diferentes estudos, através dos quais os autores afirmam que, apesar de a cultura de células com fibroblastos de rato da linhagem permanente L929 ser recomendada pela ISO 10993-5 e também ser uma das mais comumente utilizadas em estudos de biocompatibilidade (Cohen *et al.*, 2.000; Saidon *et al.*, 2003; Haglung *et al.*, 2003; Koulazidou *et al.*, 2005; Carvalho, 2005; Anvisa, 2015). Tal cultura representa o estágio inicial de investigação de um material, além de outras vantagens, como ser um dos métodos reprodutíveis, sensíveis, de baixo custo e que minimizam as variáveis. É importante ressaltar que os resultados obtidos podem, muitas vezes, não corresponder exatamente aos mesmos da clínica, pois deve-se levar em consideração a dinâmica tecidual elevada (Freshney, 2010; Azar *et al.*, 2.000); Rogero *et al.*, 2003). Contudo, vale destacar

que um material que apresente toxicidade celular, muito provavelmente será tóxico aos tecidos vivos (Osório *et al.*, 1998).

Foi observada uma discreta tendência à redução da viabilidade celular com o tempo de envelhecimento, porém esta não é significativa frente aos erros experimentais. Todas as amostras apresentaram percentuais de viabilidade acima de 75%, nos diferentes tempos de envelhecimento.

Tabela 4 – Viabilidade celular do ensaio de citotoxicidade em função do tempo de envelhecimento

Grupos/Envelhecimento	(% Viabilidade \pm U(Viabilidade))		
GC 0h	103	\pm	12
G1 0h	102	\pm	8
G2 0h	97	\pm	10
GC 120h	96	\pm	11
G1 120h	97	\pm	8
G2 120h	93	\pm	7
GC 240h	93	\pm	13
G1 240h	97	\pm	12
G2 240h	93	\pm	10
GC 1.000h	93	\pm	12
G1 1.000h	93	\pm	10
G2 1.000h	94	\pm	11

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

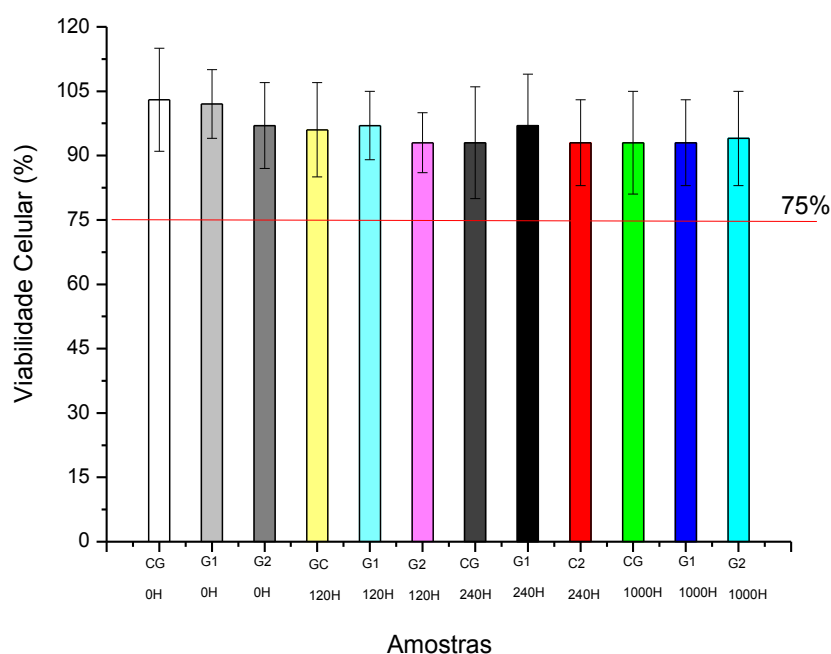


Figura 63 – Histograma da viabilidade celular do ensaio de citotoxicidade dos corpos de prova do silicone em função do tempo de envelhecimento acelerado, distribuídos de acordo com os diferentes grupos.

Estes resultados corroboram com os estudos de Kim *et al* (2007), que empregaram o mesmo método (corante brometo de 3- (4,5 dimetiliazol-2il)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT) para verificar a viabilidade de células de ligamento periodontal, após a reimplantação de dentes em ratos fêmeas. Os autores afirmaram que o MTT é um teste rápido, de alta eficácia, fácil manipulação e fornece, imediatamente, a quantidade e identificação de células viáveis. Os achados na presente pesquisa estão de acordo com os observados nos estudos de Marques (2002) e Granato *et al.* (2009).

Embora o teste MTT seja rápido, de alta eficácia e de fácil manipulação, outros autores ressaltam a importância de se avaliar materiais antes de sua aplicação em organismos, por outros métodos. Assim, Oliveira (2009) avaliou a citotoxicidade dos extratos dos Equivalentes de Pele Humana (EPH) Veloderm® e Biopiel® no cultivo de fibroblastos da linhagem celular NIH-3T3, através do teste colorimétrico de MTT. O autor afirmou que, embora o teste tenha revelado alta biocompatibilidade de ambos os estratos de EPHs, o teste colorimétrico de MTT representa uma avaliação inicial, sendo importante seu papel na racionalização da experimentação *in vivo* e clínica dos biomateriais. O autor ressaltou, ainda, que a hipótese precisa ser confirmada com testes complementares segundo normas da ISO 10993, o que foi corroborado por Barbosa e Fook (2014) segundo os quais, devido à existência de metodologias variadas, é importante a realização de ensaios de citotoxicidade, por diferentes métodos e ressaltaram que são necessárias comparações entre eles para melhorar o embasamento teórico na escolha do teste para a obtenção de maior confiabilidade nos resultados. Portanto, em que pese os presentes resultados preliminares indicarem, aparentemente, que tanto o material natural quanto os pigmentados com maquiagem ou com bixina são adequados, seria interessante ampliar os estudos de citotoxicidade caso o material fosse lançado no mercado.

4.3.2 Ensaio de sorção

Os ensaios de sorção foram conduzidos por imersão das amostras, na temperatura ambiente, em solução bioquimicamente compatível com o suor humano. Em intervalos pré-determinados, as amostras eram retiradas da solução, secas rapidamente com papel absorvente, pesadas, aferidas e retornadas à solução. O

teste tinha por objetivo determinar se a exposição continuada ao suor altera a massa e as dimensões das amostras, pois muitos materiais quando expostos à umidade, têm essas e outras características como, por exemplo, as mecânicas, fortemente afetadas.

Nas primeiras 8 horas de imersão, medidas foram realizadas em intervalos de tempos curtos (a cada 60 minutos) e, posteriormente, em tempos mais longos, a cada 12 h ou a cada 24h. Isto porque, seguidamente, para alguns polímeros, a absorção é mais rápida nos estágios iniciais, diminuindo em tempos mais longos (Cavalcanti *et al.*, 2010)

Esse não foi o caso, para qualquer das amostras investigadas nesse estudo, onde a sorção de suor sintético foi mínima (variações de massa inferiores a 0,003g), conforme evidenciado pelos dados apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Média de peso das amostras nas primeiras 8 h de imersão em suor sintético.

Tempo(h)	GC(g)	G1(g)	G2(g)
0	0,456	0,467	0,451
1	0,456	0,466	0,452
2	0,454	0,469	0,454
3	0,456	0,470	0,454
4	0,455	0,468	0,450
5	0,455	0,470	0,454
6	0,455	0,469	0,453
7	0,455	0,471	0,456
8	0,455	0,469	0,453

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Os dados médios de massa em função do tempo de imersão para os 15 dias de teste estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Média do peso das amostras por dia de imersão em suor sintético.

Dia	GC(g)	G1(g)	G2(g)
1	0,455	0,469	0,453
2	0,455	0,470	0,453
3	0,455	0,469	0,454
4	0,457	0,470	0,455
5	0,456	0,471	0,455
6	0,455	0,469	0,456
7	0,457	0,472	0,456
8	0,455	0,471	0,455
9	0,456	0,472	0,457
10	0,455	0,471	0,457

11	0,457	0,471	0,459
12	0,458	0,470	0,457
13	0,457	0,471	0,458
14	0,455	0,471	0,456
15	0,460	0,469	0,457

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Esses mesmos dados são ilustrados na Figura 64.

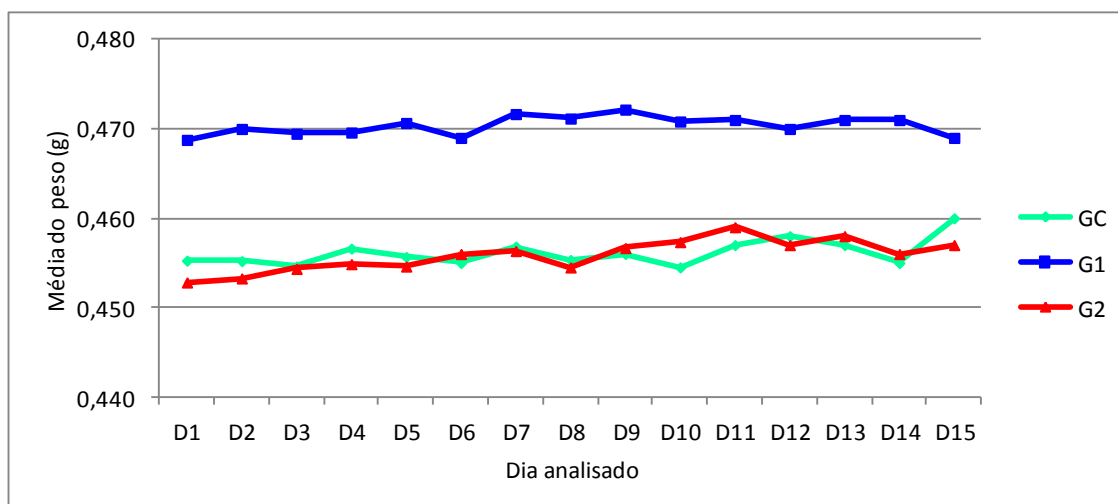


Figura 64 – Massa em função do tempo de imersão em suor sintético para as amostras de silicone e silicone pigmentado.

Uma outra forma, talvez mais clara de apresentar os dados, é por variação percentual da massa num determinado tempo t em relação ao peso inicial, ou seja $[100 \cdot (M_t - M_i) / M_i]$. Os dados foram assim calculados e apresentados na Figura 65 abaixo.

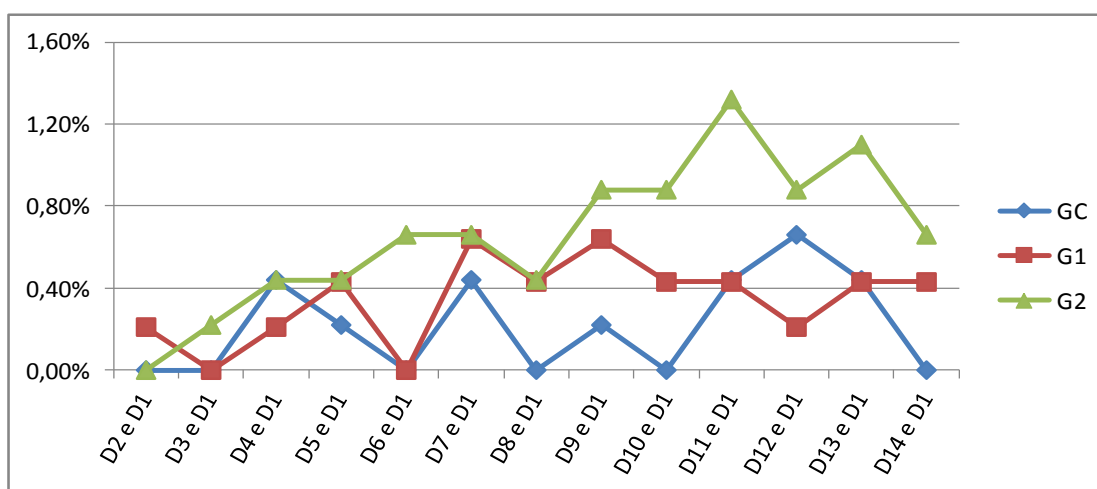


Figura 65 – Variação percentual média das massas das amostras em função do tempo de imersão em suor sintético.

Os resultados indicam que há um leve aumento de massa com o tempo de imersão em suor sintético e que esse aumento é um pouco mais evidente para as amostras pigmentadas, principalmente com aquela pigmentada com bixina em tempos mais longos (>9 dias). A maior sorção média obtida com o material pigmentado bixina foi de 1,32%, ao passo que, quanto ao silicone com maquiagem, foi 0,66% e, com o silicone original, foi 0,64%. Esses valores são considerados baixos. Os desvios experimentais, no entanto, são relativamente elevados e o número de amostras (ensaio em triplicata) considerado pequeno para que análises estatísticas mais aprofundadas possam ser realizadas. A tendência, no entanto, parece ser essa. Um maior número de amostras e um ensaio mais longo seriam necessários para que uma afirmação conclusiva sobre o efeito da pigmentação na sorção de suor sintético por parte do silicone pudesse ser feita.

O comportamento do silicone no ensaio de sorção ao longo deste estudo revelou que a incorporação de pigmentos de maquiagem e bixina no silicone MDX4-4210, não promoveu diferença estatisticamente significativa em relação ao GC. Embora alguns autores afirmem que a taxa de sorção de água de material seja contínua, o que aumenta com tempo, este fenômeno não foi observado neste estudo. Estes achados estão fundamentados nos observados por Santos (2009), ao avaliar a Influência de pigmentos e opacificadores na dureza, absorção e solubilidade de um silicone facial submetido ao envelhecimento acelerado e constataram que a sorção de líquidos nas amostras de silicone incorporado com pigmentos e opacificadores não foi diferente do grupo controle após os testes estatísticos.

A existência de várias ligações cruzadas no silicone associado à presença de um ativador de reticulação, faz com que a taxa de sorção diminua, em decorrência da união entre as moléculas da carga contida no material elastomérico e as moléculas que o compõem (Leon *et al.*, 2005; Pinto, *et al.*, 2004), com isto, diminui a possibilidade da formação de porosidades e conseqüentemente a difusão da água. Os valores observados no presente estudo, corroboram com os achados de Begum *et al.*, (2011), através do qual os autores constataram que a sorção de água em amostras de diferentes silicones foi aumentada ao longo do tempo, mas não afetou significativamente as propriedades de nenhum dos materiais estudados.

O processo de degradação do silicone é resultante de diferentes fenômenos, afetando de forma direta a resistência do material em função do tempo.

O silicone utilizado para a confecção de prótese facial deve apresentar baixos valores de sorção, já que esta propriedade está relacionada à alteração de cor, deterioração da superfície do material, perda da flexibilidade com consequente aumento da dureza, acúmulo de manchas e desenvolvimento de micro-organismos (Goiato, *et al.* 2009c; Mancuso, *et al.*, 2009a; Kiat-Amnuay, *et al.*, 2006).

Os resultados deste estudo mostraram pouca sorção da solução pelo silicone nos grupos controle e experimentais. Este fato pode ser atribuído à hidrofobicidade do silicone, reduzindo as taxas de hidrólise (Amin, 2007). Nos polímeros hidrofóbicos, a degradação se apresenta como um fenômeno superficial com erosão lenta do polímero. Em polímeros hidrofílicos, a degradação ocorre normalmente até o interior do material. Dessa forma, qualquer intervenção que altere a sua hidrofobicidade, como orientação e cristalinidade ou a incorporação de aditivos hidrofílicos, afetará a sua taxa de degradação (Lyman, 1989).

Os resultados deste estudo corroboram os achados de Al-Dharrab, *et al.*, 2013, que realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito de três diferentes soluções com características ácidas, alcalinas e de sebo sobre as propriedades físicas de um silicone incorporado com pigmento intrínseco para prótese bucomaxilofacial. Os autores constataram que o silicone avaliado é um material cuja formulação apresenta reticulação que resiste ao armazenamento em soluções diferentes com pH variável. Observaram, ainda, que a adição de pigmento não alterou as propriedades físicas destes materiais. Os testes de rugosidade da superfície, bem como a microscopia eletrônica de varredura mostraram mudanças moderadas, indicando um efeito limitado das substâncias estudadas sobre a superfície do material. Por outro lado, estes resultados divergem das afirmações de Goiato *et al.*, (2008) que, em suas pesquisas, observaram que amostras de silicone imersas em suor artificial quando incorporados com pigmentos inorgânicos melhoraram as características físicas.

Polyzois *et al.*, (2.000), realizaram uma pesquisa para avaliar as propriedades físicas de resistência à tração, módulo, alongamento e resistência na ruptura, dureza, e mudança de cor de um silicone facial após imersão durante 6 meses em sebo e suor simulado a 37°C, após envelhecimento acelerado. Observaram uma melhoria das propriedades mecânicas para as amostras imersas no suor artificial,

que foi atribuída à facilitação da propagação da reação de reticulação durante o envelhecimento das amostras de silicone e um aumento de peso para as amostras imersas na solução aquosa, ao passo que, para aquelas amostras imersas em sebo, houve perda de peso, provavelmente devido à extração de alguns compostos. Os autores concluíram que as amostras de silicone com idade correspondente a um período de 1,5 anos de uso, mostrou alterações mínimas referentes às propriedades estudadas. Kurkreja *et al.*, (2002), verificaram também melhora nas propriedades mecânicas, em decorrência da presença do sebo como fator que contribui para as qualidades do silicone.

Segundo Al-Dharrab (2013), a absorção de suor e/ou sebo pode causar alterações na estrutura do silicone, resultando na deterioração da prótese, reduzindo o seu tempo de vida útil, sendo necessário a sua substituição, pois as mudanças que ocorrem relacionadas à degradação do silicone podem afetar a cor e a estética da prótese. A mudança na cor das próteses poderá ser um fator limitante para o paciente que as deixará de usar. Os resultados obtidos através dos ensaios de sorção sugerem que, de maneira geral, a incorporação dos pigmentos poderá também melhorar as características de cor, textura e estética ao longo do tempo.

4.3.3 Ensaio de Biodegradação Enzimática

O silicone no seu estado original e pigmentado com pigmentos orgânicos (solução de bixina) e inorgânicos (pó de maquiagem) foram biodegradados em solução de PBS e em solução de PBS + Lizosima. Os pigmentos foram incorporados à matriz de silicone para avaliar seus efeitos nas propriedades físicas, térmicas, mecânicas e na durabilidade do material. Ensaio *in vitro*, realizados com o objetivo de avaliar a degradação de um biomaterial em meios biológicos, são importantes para determinar o seu tempo de vida útil durante o uso. Segundo Dallan (2005), a caracterização e avaliação das propriedades de um material, submetido a ensaio *in vitro*, poderão indicar procedimentos para melhorar suas características antes de sua utilização pelo paciente.

Nos gráficos abaixo, o percentual de perda de massa em função do tempo de biodegradação, para todas as amostras investigadas, de acordo com o tempo de envelhecimento e do tipo de solução (PBS ou PBS+Lizosima) a que foram expostas, são apresentados.

Para que o gráfico não apresentasse um valor negativo, o resultado foi plotado como $[100 * (Mi-Mt)/Mi]$, onde Mi é a massa inicial e Mt a massa da amostra após um determinado tempo t de biodegradação. Os dados experimentais foram obtidos em triplicata. Portanto, nesses gráficos são apresentados os dados originais e a curva é uma regressão linear que melhor se ajusta aos valores experimentais. Para uma melhor visualização, os dados foram separados segundo o meio de biodegradação – PBS ou PBS + Lizosima.

De modo geral, verifica-se que a perda de massa em ambas as soluções é mínima – em geral inferior a 0,4%. Mesmo assim, os resultados apontam para uma leve tendência ao sistema contendo pigmento de bixina biodegradar um pouco mais facilmente.

Segundo Flemming (1998), o método de avaliação do peso de amostras imersos em líquidos, além de ser frequentemente aplicado, tem relativa sensibilidade na determinação de mudanças de massa causadas pelo ataque de micro-organismos ao polímero. Por outro lado, a comparação das variações dos percentuais do peso da massa na avaliação da biodegradação mensura os valores relativos aos comportamentos com características semelhantes em um meio previamente controlado. É possível observar que, neste estudo, entre os grupos estudados foram observados, tanto antes como após o envelhecimento, valores não significativos para as variações de degradação biológica.

Quando se comparou as amostras dos grupos G1 e G2, percebeu-se que a biodegradação foi levemente maior nas amostras do grupo G2 tanto antes quanto após o envelhecimento acelerado. Comparando-se as amostras GC e G2, constatou-se uma menor perda de massa na amostra do GC, porém, quando se comparou as membranas GC e G1, os dados não foram suficientemente claros para que se pudesse chegar a uma conclusão. Aparentemente, o pigmento orgânico potencializou a biodegradação das amostras.

É importante notar que, dentro do intervalo de tempo investigado, tanto as diferenças de massa quanto o número de amostras testadas (3), foram muito pequenos. A técnica experimental utilizada – secagem rápida com material absorvente e pesagem em balança de precisão – é válida, porém, está sujeita a variações experimentais decorrentes de secagem ineficiente ou irregular. Portanto, afirmar categoricamente que a biodegradação é mais acentuada para o sistema

pigmentado com bixina, com o pequeno universo de amostras testadas é, no mínimo, ousado.

No presente estudo, observou-se que, à medida que se prolongava o tempo de biodegradação enzimática, houve uma tendência `à estabilização na perda de peso das amostras, divergindo dos achados da pesquisa de Bottene *et al.*, (2012) que avaliaram a degradação *in vitro* em solução de saliva artificial a 37°C de amostras de PHB e PGA, durante 300 dias. Naquele estudo, os autores observaram que até os 15 dias ocorreu um aumento de massa nas amostras, possivelmente devido ao inchamento do polímero em contato com solução de saliva artificial e que, à medida que se prolongava o tempo de degradação, ocorria uma paulatina diminuição da massa das amostras e que essa diminuição foi gradativa com o tempo. É provável que as diferenças entre os achados de Bottene e os do presente estudo decorram do curto tempo deste estudo e ao fato de que a Lizosima não seja a enzima mais adequada para a degradação do silicone.

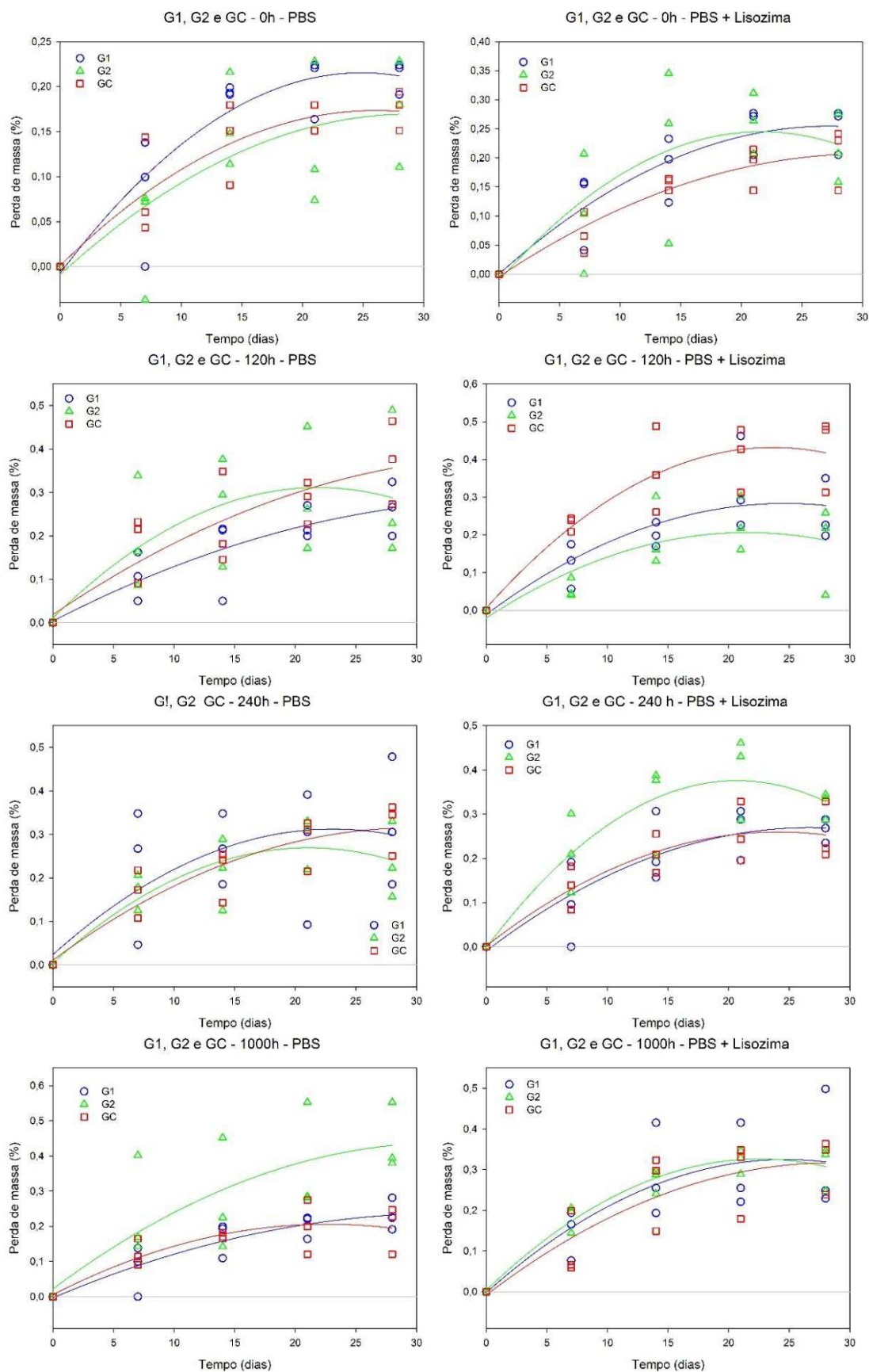


Figura 66 – Biodegradação das amostras dos diferentes grupos estudados, com e sem envelhecimento acelerado em função do tempo de biodegradação em PBS ou PBS + Lisozima.

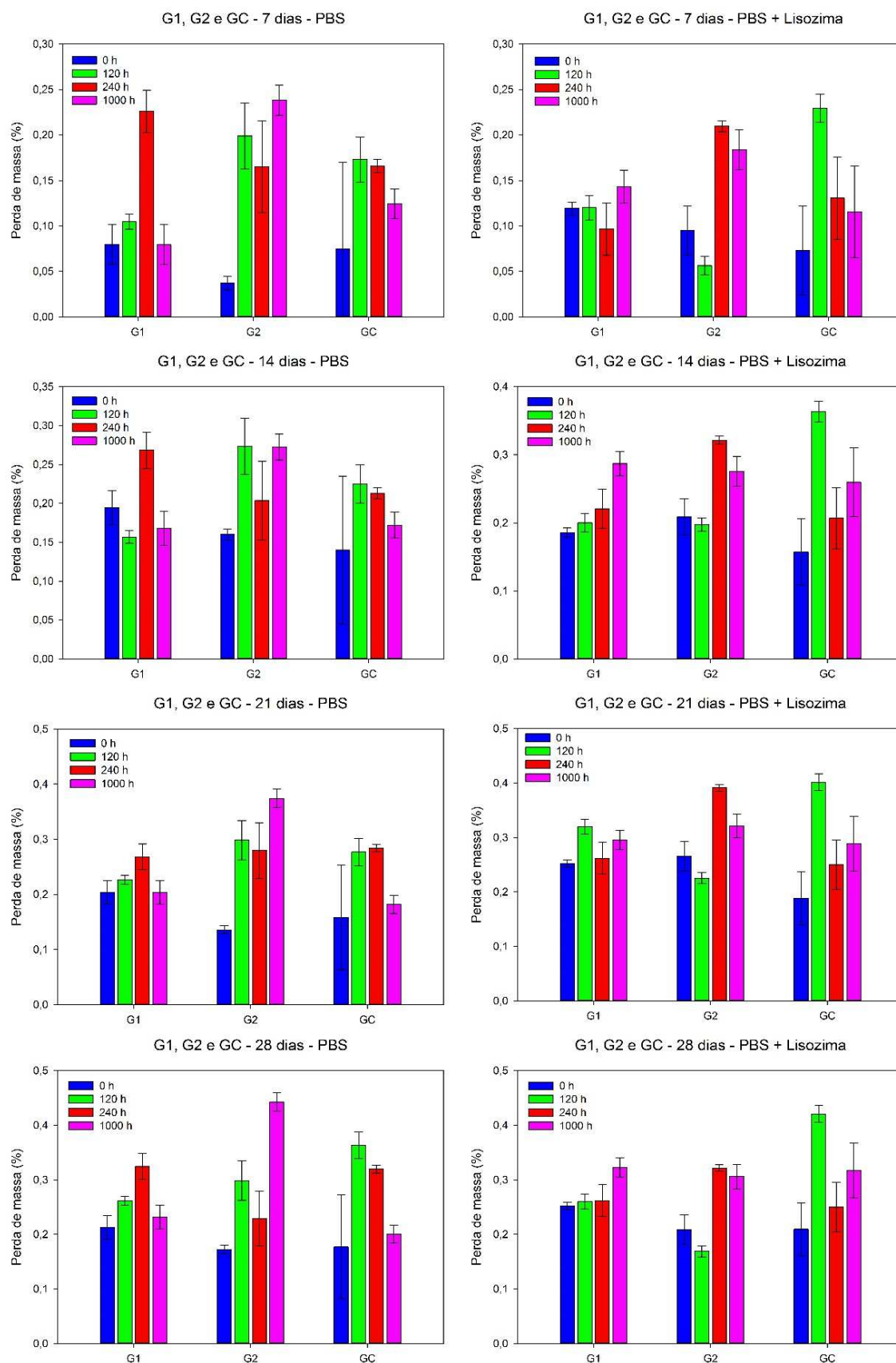


Figura 67 – Biodegradação das amostras dos diversos grupos, com e sem envelhecimento, em função do tempo de biodegradação em diferentes meios: PBS ou PBS + Lisozima.

A Figura 67 ilustra os mesmos dados de biodegradação das amostras em outra perspectiva, permitindo ao leitor melhor visualizar o efeito da biodegradação no envelhecimento acelerado de cada um dos sistemas investigados, isto é, do silicone e dos sistemas pigmentados com maquiagem ou com solução de bixina nos dois meios de biodegradação utilizados, ou seja, PBS e PBS + Lizosima.

As tendências não são muito claras. Aparentemente, para o sistema pigmentado com bixina, em tempos maiores de exposição ao meio de biodegradação e de envelhecimento acelerado, há uma maior tendência à biodegradação. Outra tendência que parece ter ocorrido é que, inicialmente o envelhecimento acelerado favorece a biodegradação (maior perda de massa) e posteriormente, o reduz, o que pode ser indicativo de uma inicial cisão de cadeia seguida de reticulação.

Essas hipóteses, no entanto, necessitam um estudo aprofundado, sistemático e metuculoso, além de técnicas espectroscópicas bem mais sofisticadas – RMN de C¹³ no estado sólido – para que possam ser confirmadas.

4.4 ENSAIOS MECÂNICOS

As propriedades mecânicas da matriz silicone, na sua forma original e pigmentada, foram determinadas em função do tempo de envelhecimento acelerado. Tanto a presença dos pigmentos quanto o envelhecimento podem provocar alterações estruturais na matriz que, por sua vez, podem alterar as propriedades mecânicas dos sistemas investigados. Os resultados são apresentados e discutidos a seguir.

4.4.1 Dureza Shore A

A dureza Shore A dos sistemas investigados em função do tempo de envelhecimento acelerado estão apresentados na Figura 68 e na Tabela 7. Os resultados indicam que, inicialmente e considerados os desvios experimentais, esta propriedade praticamente não foi afetada pela incorporação dos pigmentos. Em média, a dureza tendeu a aumentar ligeiramente com o tempo de envelhecimento acelerado e com a incorporação dos pigmentos, sem que diferenças pudessem ser observadas em relação ao tipo de pigmento na dureza do composto. Os valores

obtidos para a dureza dos silicones pigmentados e não pigmentado estão de acordo com os reportados nos estudos de Maida *et al*, 2011; Pinheiro *et al*, 2011; Carvalho, 1990; Dootz *et al.*, 1994), que afirmaram que durezas Shore A entre 24 e 32 para silicones indicados para prótese facial são adequadas, e estão de acordo com as pesquisas realizadas pela Dow Corning Product Information, que preconiza parâmetros de dureza Shore A em média de 30 para o Silastic MDX4-4210.

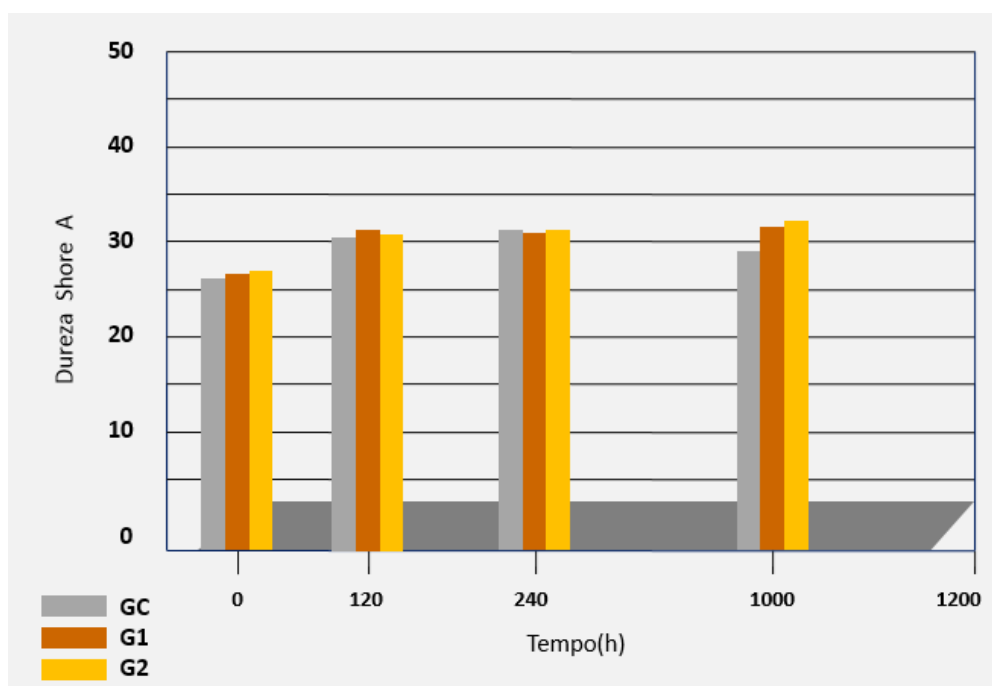


Figura 68 – Dureza Shore A em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Tabela 7 – Dureza Shore A em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Dureza Shore A	0h	120 h	240 h	1.000 h
Silicone Original(GC)	27,8±1,9	30,9±2,0	31,4±4,0	29,3±1,0
Silicone com Maquiagem(G1)	28,3±1,2	32,5±2,2	30,4±5,6	33,7±4,3
Silicone com Bixina(G2)	28,6±0,9	31,5±0,8	31,3±0,8	34,0±4,1

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

4.4.2 Resistência ao rasgamento

Os ensaios de resistência ao rasgamento e à tração, são essenciais para demonstrar que o material é adequado para a confecção de próteses faciais (Andreopoulos; Evangelatou; Tarantili, 1998).

Uma característica observada nas próteses faciais, é a sua degradação em um curto período de tempo em decorrência principalmente do intemperismo (Aziz *et al*, 2003; Mahajan; Gupta, 2012). Uma hipótese foi levantada na tentativa de diminuir esta degradação e melhorar as propriedades mecânicas, adicionando pigmento de

bixina no processamento do silicone. Este pigmento, quando processado é uma base excipiente compatível com uma imensa diversidade de materiais e substâncias; é usado em cosmética como base de maquiagens, protetores solares, na bioquímica, indústria farmacêutica, alimentícia e têxtil (Sandi *et al*, 2003). O estado da Paraíba é considerado um dos maiores produtores de Urucum, de onde é extraído a Bixina.

O efeito da pigmentação e do envelhecimento acelerado na resistência ao rasgamento do silicone estão apresentados na Figura 69 e Tabela 8.

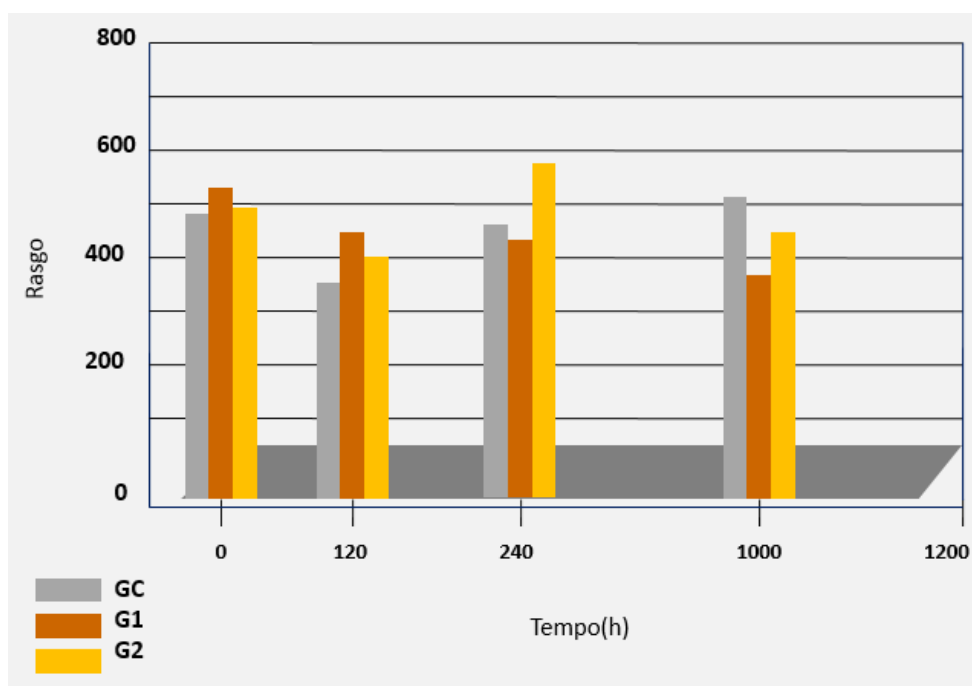


Figura 69 – Resistência ao Rasgamento em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Tabela 8 – Resistência ao Rasgamento função do tempo de envelhecimento acelerado.

Módulo de Elasticidade (KPa)	0h	120 h	240h	1.000 h
Silicone Original(GC)	485±30	365±60	460±80	503±50
Silicone com Maquiagem(G1)	530±30	445±75	430±70	385±45
Silicone com Bixina(G2)	495±30	400±80	580±100	450±100

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Considerados os desvios experimentais, os resultados sugerem que a incorporação dos pigmentos pouco afetou a resistência ao rasgamento do material em relação ao silicone original. Os desvios experimentais não permitem conclusões definitivas mas, aparentemente, nas primeiras 120h de exposição, houve uma redução nessa propriedade seguida de um aumento ou estabilização em tempos mais longos. É sabido que a exposição à luz e à umidade pode causar degradação

de polímeros e que o primeiro passo é a cisão de cadeia e formação de radicais livres que poderão, então, se recombinar de diferentes formas de acordo com o principal mecanismo de degradação do sistema, levando à cisão de cadeia ou à reticulação. Quando a cisão de cadeia é o mecanismo principal, em geral, tem-se uma redução em módulo, resistência e alongamento na ruptura; quando a reticulação predomina, em geral, observa-se aumento nessas propriedades. Ambos os mecanismos podem ocorrer e o comportamento apresentado pelo sistema depende de qual mecanismo de degradação é o predominante. Os desvios experimentais nos resultados obtidos não permitem uma conclusão; simplesmente indicam que o sistema está sendo afetado pelo envelhecimento acelerado e que muito provavelmente ambos os mecanismos de degradação estão ocorrendo, gerando estruturas bastante heterogêneas, o que corrobora os resultados de microscopia ótica que revelaram a formação mais intensa de bolhas em amostras envelhecidas. Muito provavelmente a cisão de cadeia predomina nos tempos iniciais e a reticulação em tempos mais longos.

4.4.3 Resistência à tração

Os módulos elásticos do silicone original e pigmentado em função do tempo de envelhecimento acelerado são apresentados nas Figuras 70 e Tabela 9.

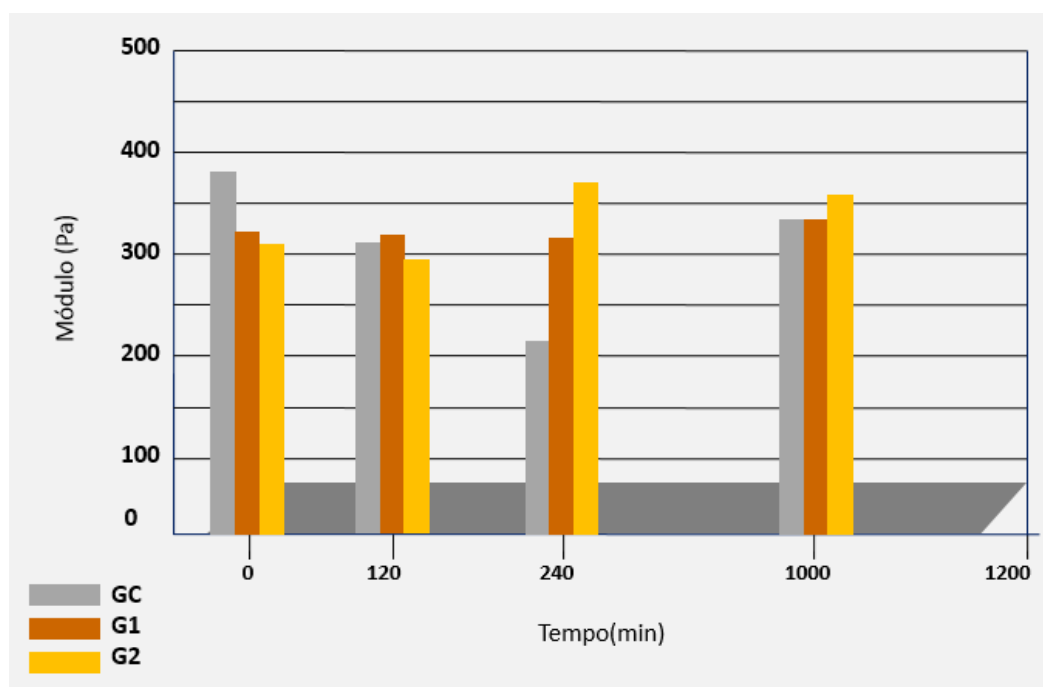


Figura 70 – Módulo elástico em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Tabela 9 – Módulo Elástico em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Módulo de Elasticidade (KPa)	0 horas	120 h	240 h	1.000 h
Silicone Original(GC)	380±50	320±10	230±30	340±20
Silicone com Maquiagem(G1)	343±30	338±40	330±25	340±30
Silicone com Bixina(G2)	320±30	298±15	375±35	353±21

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Considerados os desvios experimentais, os valores médios do módulo de elasticidade em todos os grupos (GC, G1 e G2), pouco se alteraram com o tempo de envelhecimento. Nas primeiras 120h, houve tendência à redução nessa propriedade e, em tempos mais longos, essa tendência reverteu. Esse mesmo comportamento foi observado para a dureza dos compostos. É possível que, em estágios iniciais, a cisão de cadeia tenha predominado e, em tempos mais longos de envelhecimento, um leve aumento no grau de reticulação da matriz silicone, tenha ocorrido. Os grupos G1 (silicone + maquiagem) e G2 (silicone + bixina), apresentaram melhores resultados que os valores do GC (silicone original). Este resultado está fundamentado nos achados de Wang *et al.*, 2014, onde afirmaram que as propriedades mecânicas do Silastic MDX4-4210 poderão melhorar com a incorporação de pigmentos e que as ligações covalentes entre o carbono e os elementos dos pigmentos poderão aumentar a longevidade do material. Acredita-se que a bixina esteja reagindo com o silicone, pois essa foi adicionada na forma de solução, sua resistência ao rasgamento foi bem inferior à do silicone original ou à do silicone pigmentado com maquiagem e mesmo assim seu módulo elástico foi equivalente ao do silicone com maquiagem.

A resistência máxima à tração em função do tempo de envelhecimento dos corpos de prova original e pigmentadas estão apresentadas na Figura 71 e na Tabela 10.

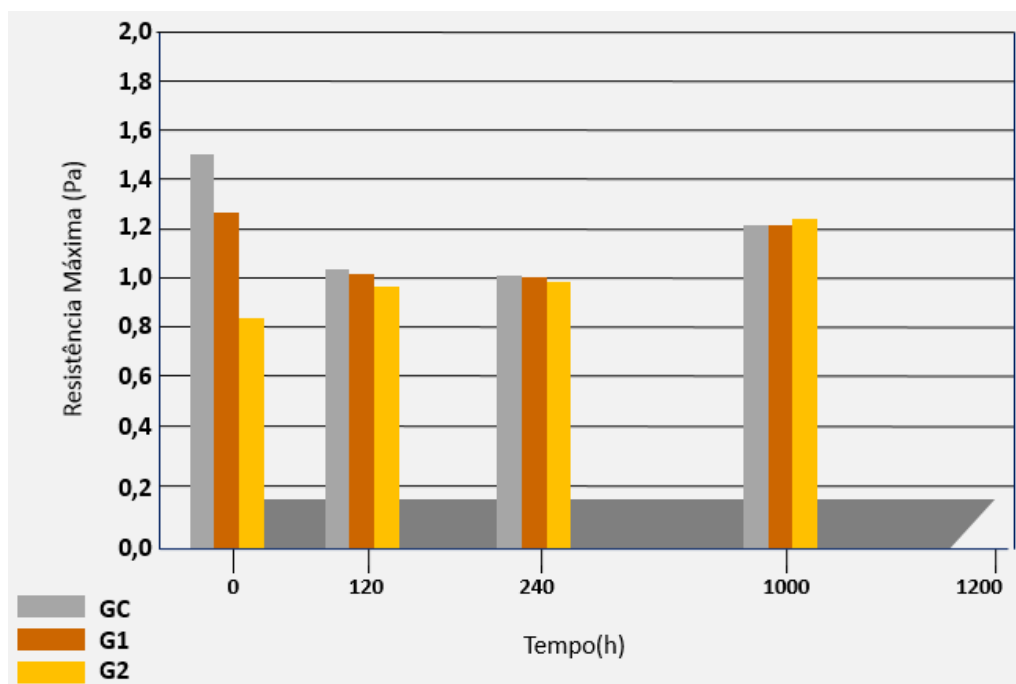


Figura 71 – Distribuição das médias da Tensão Máxima à Tração dos corpos de prova do grupo controle e dos grupos experimentais em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Tabela 10 – Distribuição das médias da Tensão Máxima à Tração dos corpos de prova do grupo controle e dos grupos experimentais em função do tempo de envelhecimento acelerado.

T. Máx. à tração (MPa)	0h	120 h	240h	1.000 h
Silicone Original(GC)	1,58±0,20	1,05±0,15	1,15±0,15	1,20±0,21
Silicone com Maquiagem(G1)	1,35±0,25	1,02±0,10	1,09±0,15	1,20±0,11
Silicone com Bixina(G2)	0,88±0,12	0,93±0,13	0,95±0,15	1,21±0,25

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Os ensaios de tração revelaram que a resistência aumenta com a pigmentação e que maiores valores foram obtidos para o sistema pigmentado com bixina. Em todos os casos, o envelhecimento acelerado promoveu aumento gradual da resistência à tração para o silicone ao passo que os sistemas pigmentados tiveram um aumento inicial seguido de uma redução em tempos longos (1.000 h). Acredita-se que as moléculas de pigmento sejam capazes de reagir com os radicais livres formados durante o envelhecimento acelerado interferindo no rearranjo molecular e, portanto, na degradação do sistema. As ligações do poli (dimetil siloxano) são relativamente fortes e estáveis e, nas condições experimentais adotadas, na ausência de pigmentos, predomina a reticulação, de modo que a resistência aumenta com o tempo de envelhecimento. Na presença de pigmentos

como o pó de maquiagem ou da bixina, os radicais livres gerados interagem com as cargas e a razão entre cisão/reticulação é alterada.

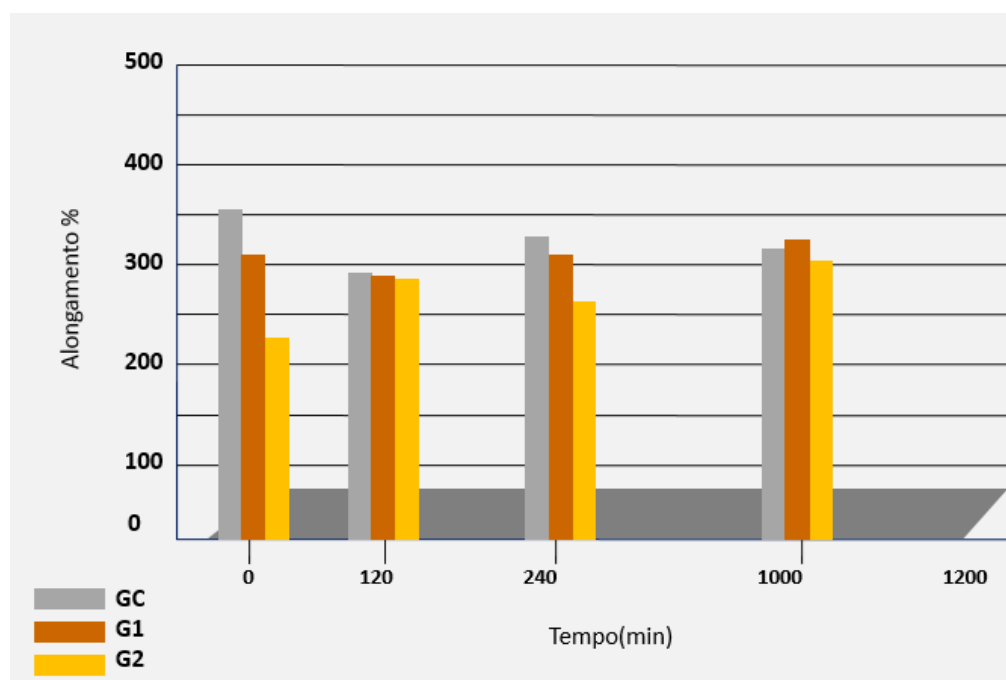


Figura 72 – Alongamento a Ruptura em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Tabela 11 – Alongamento a Ruptura em função do tempo de envelhecimento acelerado.

Alongamento na Ruptura(%)	0 h	120 h	240 h	1.000 h
Silicone Original(GC)	351±60	295±35	345±30	320±30
Silicone com Maquiagem(G1)	326±45	292±30	320±40	330±30
Silicone com Bixina(G2)	245±28	281±15	263±24	312±35

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

A Tabela 09 mostra que, apesar da elevada dispersão de dados, houve uma tendência à redução do alongamento na ruptura de todos os sistemas com o tempo de envelhecimento acelerado, o que era esperado e compatível com um aumento no grau de reticulação e enrijecimento dos sistemas. O efeito da incorporação dos pigmentos no alongamento na ruptura dos diferentes compostos foi o esperado pois o alongamento dos sistemas pigmentados tendeu a ser menor do que o do silicone puro (original). Comportamento semelhante foi reportado por Su *et al.* em 2006, para um sistema silicone/maquiagem. Esperava-se que o alongamento do sistema contendo bixina fosse maior haja vista que esta foi adicionada como solução, porém esse fato não foi verificado e o motivo não é claro.

As principais propriedades dos silicones que precisam ser aprimoradas para manter uma maior longevidade são a resistência mecânica à tração e ao

rasgamento, além da estabilidade da cor; propriedades estas que, embora adequadas no momento da confecção da PBMF, alteram-se em poucos meses de uso (LEMON *et al.*, 1995; KIAT-AMNUAY *et al.*, 2006; ARIANI, *et al.*, 2013).

5 CONCLUSÕES

Diversas técnicas de caracterização para a análise dos insumos e do silicone, tanto em estado original quanto pigmentado, antes e após o envelhecimento acelerado foram empregadas. Essas técnicas forneceram ricas informações sobre as características superficiais e microestruturais dos sistemas investigados; identificaram os compostos químicos presentes e a estabilidade do material empregado na confecção de próteses maxilofaciais. Estudos de sorção, biodegração e citotoxicidade dos diversos sistemas também foram conduzidos. As propriedades mecânicas dos sistemas em função do tempo de envelhecimento foram determinadas.

Os resultados (FTIR) indicaram que a incorporação dos pigmentos não promoveu reações químicas com o silicone e que a adesão pigmento/matriz é fraca. Houve pouca ou nenhuma alteração estrutural dos sistemas com o tempo de envelhecimento, exceto em tempos longos (1000h) e, principalmente para o sistema contendo o pigmento maquiagem, o que foi atribuído à presença de maior quantidade de metais pesados capazes de catalisar a degradação da matriz naquele sistema.

Não foram observadas alterações significativas de cor ou textura dos sistemas antes e após o envelhecimento acelerado. As propriedades mecânicas foram alteradas, mas essas alterações, em geral, foram positivas e não foram drásticas, haja vista que não provocaram variações maiores que 30% nas propriedades investigadas. Em geral, o material se tornou mais resistente, mais duro, mais rígido e menos deformado, à medida em que foi envelhecido, porém, manteve uma deformação percentual superior a 100-120%, ou seja, manteve-se bastante flexível e adequado à aplicação proposta. A bixina teve um efeito mais significativo nas alterações das propriedades mecânicas dos sistemas, principalmente quanto ao seu alongamento na ruptura. Esse efeito foi associado à estrutura química da bixina, que apresenta maior número de insaturações. Acredita-se que a maior quantidade de bolhas decorra da presença do solvente, já que é dissolvida em éter de petróleo e adicionada ao silicone na forma de solução a 9,5%. De modo geral, as propriedades mecânicas dos sistemas pigmentados com maquiagem ou bixina foram equivalentes.

Estudos de sorção de solução sintética de suor indicam pouca diferença entre os diferentes sistemas. A sorção foi relativamente baixa, tendendo a aumentar levemente com o tempo de imersão e com a incorporação de pigmentos, porém esse aumento é pouco significativo frente ao erro experimental.

Os resultados da avaliação da citotoxicidade *in vitro*, através do método MTT, revelaram que o silicone de grau médico, tanto em seu estado original quanto pigmentado, apresentou viabilidade celular. É sabido que a realização de um único ensaio poderá ser insuficiente para se avaliar a biocompatibilidade de um material ou de seus componentes e que o tempo de exposição também pode influenciar os efeitos citotóxicos de alguns materiais para mamíferos. Portanto, sugere-se que outros métodos sejam aplicados e que o controle do tempo do contato celular seja maior, de modo que outros métodos possam confirmar os achados do presente estudo, ou seja, a indicação do material estudado para confecção de bucomaxilofacial.

Os estudos de biodegradação enzimática, apresentaram alterações visuais e de perda de massa em pequena escala. É, possível que o tempo e/ou o tipo de enzima empregado não tenham sido os ideais.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados e conclusões deste estudo, podem ser feitas as seguintes sugestões:

Identificar o biofilme microbiano presente em prótese bucomaxilofaciais e nos respectivos órgãos afetados.

Avaliar in vitro a ação antimicrobiana de métodos de higienização sobre os microrganismos identificados.

Avaliar a influência dos métodos de higiene sobre a alteração de cor, dureza Shore A, rugosidade superficial e absorção de líquidos no silicone para prótese bucomaxilofacial.

Avaliar as alterações estruturais e as modificações térmicas, mecânicas e físico-químicas provocadas no silicone incorporado com pigmento de bixina.

Ampliar o estudo sobre os efeitos de diferentes concentrações do pigmento de bixina no silicone medicinal, avaliando sua influência.

Avaliar o efeito de maiores tempos de sorção e do envelhecimento acelerado na capacidade de sorção dos diferentes sistemas.

Estudar o sinergismo intempéries e biofilmes no processo de degradação do silicone utilizando diversas técnicas de caracterização.

REFERÊNCIAS

- ABDELNNABI, M. M.; MOORE, D. J.; SAKAMURA, J.S. *In vitro* comparison study of MDX 4-4210 and polydimethyl siloxane silicone materials. **J. Prosthet. Dent.** v. 51, n. 4, pp. 523-526, Abr. 1984.
- AGNELLI, J.A.M. **Degradação, Estabilização e Envelhecimento de Polímeros.** Curso de Aperfeiçoamento em tecnologia de Polímeros; Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1993.
- AGNELLI, J. A. M. **Degradação, estabilização e envelhecimento de polímeros.** Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais-CCDM-UFSCar/UNESP, São Carlos, 2000.
- ABIQUIM. 2014 - ASSOCIAÇÃO DA INDÚSTRIA BRASILEIRA DE QUÍMICA - **Comissão Setorial Silicones.** Disponível: <www.abiquim.org.br>. Acesso em: 18 de fev.2014.
- ALBRIGHT TECHNOLOGIES INC. **Silicone Molding Design Manual.** 6th Edition. Disponível em: <<http://www.albright1.com>>. Acesso em: 09 jan. 2014.
- AL-DHARRAB, A. A.; TAYEL, S.B.; ABODAYA, M. H. The Effect of Different Storage Conditions on the Physical Properties of Pigmented Medical Grade I Silicone Maxillofacial Material. **Hindawi Publishing Corporation ISRN Dentistry.** Volume 2013, pp.1-9. Article ID 582051, 9 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/582051>>. Acesso em 14 de maio de 2015.
- AL-HIYASAT, A.S; TAYYAR, M; DARMANI, H. Cytotoxicity evaluation of various resin based root canal sealers. **Int Endod J.** V. 43, n.2, pp. 148-53. Feb, 2010.
- ALMEIDA, J.C.; CASTRO, A.G.B.; LANCASTRE, J.J.H.; SALVADO, I.M.M.; MARGAÇA, F.M.A.; FERNANDES, M.H.V.; FERREIRA, L.M.; CASIMIRO, M.H. Structural characterization of PDMS-TEOS-CaO-TiO₂ hybrid materials obtained by sol-gel. **Materials Chemistry and Physics**, v. 143, p. 557-563, 2014.
- ALTMAN, D.G.; CHAPMAN & HALL. **Practical Statistics for Medical Research.** London:Great Britain, p. 611. 1991.
- ALVES, R.W. **Extração de Corantes de Urucum por processos adsortivos utilizando argilas comerciais e coloidal e gás aproticos.** 176f. 2005.Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos,UFSC, Florianópolis-Santa Catarina.
- AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Specification nº 19 for Nonaqueous, Elastomeric Dental Impression Materials. **Revised J Am Dent Assoc.**; v.94, n.4, pp. 733-741, abr. 1977.
- AMIN, M; AKBAR, M.; AMIN, S. Hydrophobicity of silicone rubber used for outdoor insulation (an overview). **Reviews on Advanced Materials Science.** Vol. 16, no. 1-2, pp. 10–26, 2007.

AMINABHAVI, T. M.; BALUNDGI, R. H.; CASSIDY, P. E. A Review on Biodegradable Plastics. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 29, pp. 235-62, 1990.

ANDREOPOULOS, A.G.; EVANGELATOU, M.; TARANTILI, P.A. Properties of maxillofacial silicone elastomers reinforced with silica powder. **J Biomater Appl**, [s.l.], v. 13, p.66-73, 1998.

ANUSAVICE, K. J. Philips. **Materiais Dentários**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, p.764, 2005.

ANUSAVICE, K.J. **Philips Science of Dental Materials**.11^a Edition Elsevier, New Delhi, p.p 215, 756. 2004.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos – Metodologias – Ensaio *in vitro***. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/html/pag05.htm>>. Acesso em: 11 ago de 2015.

ARIANI, N. et al. Microbial biofilms on facial prostheses, **Biofouling**. v. 28, n. 6, p. 583-59, 2012. DOI: 10.1080/08927014.2012.698614. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2012.698614>>. Acesso em: 19 junho de 2015.

ARANI, N. et al. Current state of craniofacial prosthetic rehabilitation. **The International Journal Of Prosthodontics**. Groningen, v. 26, n. 1, p. 57-67. 2013.

ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. **Eur J Oral Sci**, v.109, n. 4, p. 282-5. Aug; 2001.

ASTM F2102-13, Standard Guide for Evaluating the Extent of Oxidation in Polyethylene Fabricated Forms Intended for Surgical Implants, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013.

ASTM D2240-10. American Society for testing and materials. Rubber property - Durometer hardness, Standard Test Methods for. Philadelphia: PA, 2010.

ASTM D638-08.American Society for Testing Materials. D 638 – Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. Pennsylvania: ASTM, 2008.

ASTM D624-00. American Standards of for Testing Materials. Standard Test Method for Tear Strength of conventional vulcanized rubber and thermoplastic elastomers. **In:** Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia. 2000.

ASTM F1635. 2011. American Society For Testing And Materials. Standard Test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants.

ASTM G154-00. Standard Practice for Operating Fluorescent Light Apparatus for UV Exposure of Nonmetallic Materials.

AZAR, N. G.; HEIDARI, M.; BAHRAMI, Z. S.; SHOKRI, F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. **J Endod**, v. 26, n. 8, p. 462-465, Aug. 2000.

- AZIZ, T.; WATERS, M.; JAGGER, R. Development of a New Poly(Dimethylsiloxane) Maxillofacial Prosthetic Material. **Journal Of Biomedical Materials Research: Part B Applied Biomaterials**. Cardiff, v.65, n,2, p. 252-261. ago. 2002.
- AZIZ, T.; WATERS, M.; JAGGER, R. Analysis of the properties of silicone rubber maxillofacial prosthetic materials. **J Dent.**, Cardiff, v.31, p.67-74. fev. 2003.
- BAL, B.T.; YILMAZ, H.; AYDIN, C.; KARAKOCA, S.; YILMAZ, S. *In vitro* cytotoxicity of maxillofacial silicone elastomers: effect of accelerated aging. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 89, n.1, p. 122-6. Abr. 2009.
- BARBOSA, E.F.; FOOK, M.V.L. **Comparação de testes de citotoxicidade por método de contato direto e indireto em elastômeros de próteses mamárias de silicone**. XI Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande CNPQ. Propex - Pibic/Cnpq-UFCG. Campina Grande, 2014. Disponível em: <http://pesquisa.ufcg.edu.br/anais/2014/resumos/xicicufcg_2989.pdf>. Acesso em 27 jul. de 2015.
- BARBOSA-FILHO, J.M. Bixa orellana: Retrospectiva de usos populares, atividades biológicas, fitoquímica e emprego na fitocosmética, no Continente American **In: Anais do Simpósio Brasileiro do Urucum**, João Pessoa, 2006.
- BARILE, F.A. Mechanisms of cytotoxicology. I. Introduction. **In: Introduction to *in vitro* cytotoxicology mechanisms of cytotoxicology. Mechanisms and Methods**. Boca Raton, Editora CRC Press. Cap.2, p.27-45.1994.
- BASTIOLI, C. Handbook of Biodegradable Polymers. Shawbury: Rapra Technology Limited, 2005.
- BAUTISTA, A. R. P. L; MOREIRA E. L. T; MIRANDA M. S.;BATISTA, M. S.; GOMES, I. C. S. Subacute toxicity assessment of annatto in rat. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 625-9, 2004.
- BEATTY, M. W. *et al.* Color changes in dry-pigmented maxillofacial elastomer resulting from ultraviolet light exposure. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.74, n.5, p.493-8, nov. 1995.
- BEGUM, Z; KOLA M. Z.; JOSHI, P. Analysis of the properties of commercially available silicone elastomers for maxillofacial prostheses. **Int J Contemporary Dent**, v. 2, n. 4, p. 1-5. 2011.
- BELLAMY, K.; LIMBERT, G.; WATERS, M.G.; MIDDLETON, J. An elastomeric material for facial prostheses: synthesis, experimental and numerical testing aspects. **Biomater**, v. 24, n. 27, p.5061-6. 2003.
- BENY, M.G. Fisiologia da pele. **Cosmetics & Toiletries**, Edição em Português. São Paulo, v.12, p.44-50, 20L00.
- BERNADESI, G.P.P.; SANTANA, R.M.C. Avaliação da fotodegradação por envelhecimento acelerado de poliestireno cristal. **Anais do 12º Congresso Brasileiro de Polímero**. Florianópolis/SC., 2013, 2013).

- BERTOLINI, A.C. **Biopolymers Technology**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2007.
- BEUMER, J. *et al.* Rehabilitation of facial defects. **In:** Beumer J, Marunick MT, Esposito SJ editors. Maxillofacial rehabilitation: prosthodontic and surgical management of cancer-related, acquired, and congenital defects of the head and neck. 3d edition. Chicago: Quintessence Publishing Co. pp. 255-314.2011.
- BOTTENE, M.K. *et al.* **Avaliação da degradação do poli (3-hidroxi-butarato) e poli (ácido glicólico) em saliva artificial para possível aplicação na área odontológica**. 7º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais-22 a 25 de agosto de 2012-Natal/RN.
- BRADEN, M.; WRIGTH, P.S. Water absorption and solubility of soft lining materials for acrylic dentures. **J Dent Res**. v. 62, p.764-768. 1983.
- BROWN, K., GERSTBERGER S., CARLSON L., FRANZOSO G., SIEBENLIST U. Control of I κ B- α proteolysis by site-specific, signal-induced phosphorylation. **Science**, v. 267, p.1485-8. 1995.
- BURLANT, W.; NEERMAN, J.; SERMENT, V. Radiation of p-substituted polystyrenes. **Journal of Polymer Science**, v. 58, p. 491, 1962.
- BURMA, P.; SCHREURS, W.; VERDONSCHOT, N. Skeletal tissue engineering from *in vitro* studies to large animal models. **Biomaterials**, v. 25, p.1487-95, 2004.
- CALLISTER JR., W.D. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2002.
- CAMARGO, C.H. *et al.* The induction of cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity by root canal sealers in mammalian cells. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. v. 108, n. 6, pp. 952-960. 2009.
- CAMPS, J.; ABOUT, I. Cytotoxicity testing of endodontic sealers: a new method. **J Endod**, v. 29, n. 9, p. 583-586. Sep, 2003, 2003).
- CANEVAROLO JR, S.V. **Ciência dos polímeros**. 2ª Edição. Artliber Editora. São Carlos-SP, 2004.
- CÂNOVA, R. **Urucum**. Disponível em: <<http://alemdojardim.terra.com.br/alem/mai>>. Acesso em: 06 ago 2014.
- CÁRDENAS, G.; ANAYA, P.; VON PRESSING, C.; ROJAS, C.; SPULVEDA, J. Chitosan composite films. Biomaterial applications. **J Mater Sci: Mater Med**, v.19, p.2397-2405.2008.
- CARDIM, R.H. Alterações cromáticas de silicones utilizados na confecção de próteses faciais após envelhecimento. Dissertação (Mestrado em Odontologia-Prótese Buco Maxilo Facial). São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP. 2007.
- CARVALHO, J. C. M. **Avaliação das propriedades físicas de duas novas siliconas para uso em prótese facial**. 101f. 1990. Tese (Livre-Docência em

odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo-São Paulo..

CARVALHO, M.A.A. **Citotoxicidade de três cimentos obturadores do sistema de canais radiculares sobre cultura de células L929**. 86f. 2005. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde-Odontologia). Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro-Rio de Janeiro.

CASTRO, C.M.M.B al. Citotoxicidade de Polímero de Cana-de-Açúcar. **Anais...** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco. Recife. v. 49, n. 2, p.119-123, 2004.

CASTRO, T.C. **Avaliação da resistência ao rasgamento do silicone submetido à ação do suor artificial**. 105f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas- Área de concentração-Prótese Buco Maxilo Facial). Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo- USP. São Paulo-São Paulo.

CASTRO-SILVA, J.P.M.S. **Efeitos de novos compostos adotados com potencial farmacológico na proteção do estresse oxidativo**. 85f. 2004. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular) Portugal: Escola de Ciências, Universidade do Minho-Porto-Portugal.

CAVALCANTI, B.N.; RODE, S.M.; MARQUES, M.M. Cytotoxicity of substances leached or dissolved from pulp capping materials. **Int Endod J**. 2005.

CAVALCANTI, W. S.; A. G. B. DE LIMA; CARVALHO, L.H. Sorção de água em compósitos de poliéster insaturado reforçados com tecido de juta e juta/vidro: modelagem, simulação e experimentação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, nº 1, pp. 78-83, 2010.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science**, Londres, v. 23, pp.1273-1335, 1998.

CHEN, H.; BROOK, M.A.; SHEARDOWN, H. Silicone elastomers for reduced protein adsorption. **Biomaterials** v. 25, n. 12, pp. 2273-2282. Maio, 2004.

CHENOWETH, K.; CHEUNG, S.; DUIN, A.C.T; GODDARD III, W.A.; KOBER, E.M. Simulations on the thermal decomposition of a poly(dimethylsiloxane) polymer using the reaxFF reactive force field. **Journal American Chemical Society**, v. 127, n. 19, p. 7192-7202, 2005.

CHONE, C. T.; SPINA, A. L.; CRESPO, A. N.; GRIPP F M. Speech rehabilitation after total laryngectomy: long-term results with indwelling voice prosthesis Blom-Singer. **Braz J Otorhinolaryngol**. jul-ago, v.71, n.4, pp.504-509. 2005.

COECKE, S. *et al*. Metabolism: A bottleneck *in vitro* toxicological test development. Ecvam Workshop 54. **Alternatives to laboratory animals**, v. 34, pp. 49-84. 2006.

COHEN, B. I. *et al*. An *in vitro* study of the citotoxicity of two root canal sealers. **J Endod**, v. 26, n. 4, pp. 228-229, Abr, 2000.

CONOVER, W.J. Practical Nonparametric Statistics. Second Edition, Editora John Wiley & Sons. **Texas Tech University**, New York, p. 495, 1980.

CORRÊA, M.P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura/IBDF**, v.4, pp.358-359, 1978.

COSTA, C.A.S.; HUCK, C. Efeitos citotóxicos e biocompatibilidade de agentes clareadores usados na odontologia. Uma revisão de literatura. **Robrac**, v. 15, n.39, pp. 1-14. 2006.

COWIE, J.M.G. **Polymers: Chemistry & Physics of Modern Materials**. 2ª ed. Nova York: Editora Chapman and Hall, 1991.

CRAIG, R.G.; KORAN, A.; YU, R.; SPENCER, J. Color stability of elastomers for maxillofacial appliances. **J Dent Res**, v. 57, p. 866-871, 1978

CRUZ, A.S. **Teste de citotoxicidade *in vitro* como alternativa ao teste *in vivo* de Draize na avaliação de produtos cosméticos**. 118f. 2003. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 107pp. São Paulo-São Paulo.

DA SILVA, J.D.C.B.K.F. **Avaliação da influência da degradação no comportamento, na estrutura e nas propriedades físicas e mecânicas de implantes mamários de silicone**. 2014. 157f. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais). Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia.

DAGUANO, J. K. M. F.; Santos, C.; Rogero, S. O. Avaliação da citotoxicidade de biocerâmicas desenvolvidas para uso em sistemas de implantes. **Revista Matéria**, v. 12, n.1, pp. 134-139, 2007.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. 2005. 194f. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Tese (Doutorado em Engenharia Química).

DAMIAN, C. *et al.*, Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2005

DELIDES, C.G.; SHEPHERD, I.W. Dose effects in the crosslinking of irradiated polysiloxane. **Radiation Physics Chemistry**, v. 10, p. 379-385, 1977.

DE PAOLI, M. A. **Degradação e Estabilização de Polímeros**. Chemkeys, Editado por João C. Andrade. São Paulo: Editora Artliber, 2008.

DENG, H.Y.; ZWETCHKENBAUM, S.; NOONE A.M. Bond strength of silicone to polyurethane following imersion of silicone in cleaning solutions. **J Prosthet Dent.**, v.91, pp.582-585. 2004.

DOOTZ, E.R.; KORAN, A.; CRAIG, R.G. Physical properties of three maxillofacial materials as a function of accelerated aging. **J Prosthet Dent.**, v.71, n.4, pp.379-83. 1994.

DOW CORNING PRODUCT INFORMATION. **Liquid Silicone Rubber. Silastic 9280-50**. Disponível em: <<http://www.dowcorning.com>>. Acesso em: 19 fev. 2013.

DUPRET, I., DAVID, C., DARO, A. Biodegradation of polyester-amides using a pure strain or micro-organisms or papain II. **Polymer, Polymer Degradation and Stability**, v. 67, pp., 505-13. 2000.

ELENI, P.N.; KROKDA, M.; POLYZOIS, G.; GETTLEMAN, L.; BISHARAT, G.I. Effects of outdoor weathering on facial prosthetic elastomers. **The Society of The Nippon Dental University- Odontol.**, v.99. pp.68-76. DOI 10.1007/s10266-010-0145-0. 2011.

EL-HADARY, A.; DRUMMOND, J. Comparative study of water, solubility and tensile bond strength of two soft lining materials. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v. 83, n.3, p.356-61, mar. 2000.

ELST, M. V.; KUIPER, I; KLEIN, C.P.A.T.; P. PATKA, P.; HAARMAN, H.J.T. M. The burst phenomenon, an animal model simulating the long-term tissue response on PLLA interlocking nails. **J Biomed Mater Res**, v.30, pp.139,1996.

ESTEVEES, A.C.C.; BROKKEN-ZIJP, J; LAVEN, J.; WITH, G. Light converter coatings from cross-linked PDMS/particles composite materials. **Progress in Organic Coatings**, v. 68, p. 12-18, 2010.

FANG, S.; YIMIN, Z.; LONGQUAN, S.; JINGGUANG, P. The test of the mechanical properties of SY-28. SY-20 and MDX-4-4210 silicone elastomers. **Journal of US-China Medical Science**, v. 3, p. 36-40, 2006.

FARAEDON, M.M.Z. Characterisation of Implant Supported Soft Tissue Prostheses Produced with 3D Colour Printing Technology. **School of Clinical Dentistry**, The University of Sheffield, A PhD Thesis, 2012.

FECHINE, G. J. M. Fotodegradação de termoplásticos semicristalinos, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1998.

FERNANDES, A.U.R.; GOIATO, M.C.; BATISTA, M.A.J.; SANTOS, D.M. Color alteration in paint the irises for ocular prostheses. **Braz Oral Res** in Pres. V. 23, n. 4, pp 386-392. 2009.

FERREIRA, P.; CARVALHO, A.; CORREIA, T. R.; ANTUNES, B.P.; CORREIA, I.J.; ALVES, P. Functionalization of polydimethylsiloxane membranes to be used in the production of voice prostheses. **Sci. Technol. Adv. Mater**, v.14, p. 1-8. 2013. (<http://iopscience.iop.org/1468-6996/14/5/055006>).

FIDÉLES, T.B. In: Filmes reticulados de quitosana para aplicação com biomaterial.2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais)–Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.Campina Grande, 2010.

FLEMMING, H. C. Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. **Polym. Degrad Stab**, v.59, pp. 309-15, 1998.

FOOK, M.V.L. In: Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial. 2005. 96p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química. Araraquara, 2005.

FRADE, M.A.C; VALVERDE, R.V; DE ASSIS, R.V.C. Chronic phebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. **Inter J Dermatol**. v. 40, pp.238-240. 2001.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C.. Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, pp.811-816, 2006.

FRANCO, C.F.O. *et al.* **Urucum Sistema de Produção para o Brasil**. João Pessoa, PB; EMEPA, 112p. 2008.

FRANCO, C.F.O. **Mercado Brasileiro de urucum (*Bixa orellana* L) no Brasil**. In: Simpósio Brasileiro de Urucum, João Pessoa, PB, abr. 2006 Disponível em <<http://www.emepa.org.br/simbrau/>>.

FREIER, T. *et al.* Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. **Biomaterials**, v.26, pp.5872-8. 2005.

FRESHNEY, R.I. Culture of Animal Cell: A manual of basic technique and Specialized Applications. Indianapolis: **Wiley Liss**, 6th ed. 796p, 2010.

FUKUSHIMA, K. *et al.* Biodegradation of poly (lactic acid) and its nanocomposites. **Polymer degradation and Stability**. v.94, n.10, pp. 1646-1655. 2009.

GATTIN, R.; *et al.* Biodegradation study of a starch and poly(lactic acid) coextruded material in liquid, composting and inert mineral media. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 50, n.1,pp. 25-31 2002.

GEUSKENS, G.; Degradation and Stabilization of Hydrocarbon Polymers, **Anais do I Congresso Brasileiro de Polímeros**, p.272. 1991.

GHAFFARI, S. M.; NAGUIB, H. E.; PARK, C. B.; ATALLA, N. Effect of biopolymer blends on physical and acoustical properties of biocomposite foarms. **J.Polym. Sci. Part B**. v.52, pp.1002-1013. 2014.

GIROTTO, D. *et al.* Tissue-specific gene expression in chondrocytes grown on three-dimensional hyaluronic acid scaffolds. **Biomaterials**. 2003.

GOES, A.M.; LOPES M. T. P., MARA R. M. M. T., SALAS C. **Testes *in vitro* com biomateriais e citotecnia**. Biomateriais - Fundamentos e aplicações. Cultura Médica, Cap. 11. Rio de Janeiro, 2006.

GOIATO MC, MURAKAWA AC, MANCUSO DN. Pigmentação de próteses bucomaxilofaciais. **Revista Odonto**, Ano 16, n. 31, São Bernardo do Campo, SP, Metodista, 2008.

GOIATO, M.C *et al.* Patient satisfaction with maxillofacial prosthesis: literature review. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. v. 62, n. 2, pp. 175-80. Feb, 2009a.

GOIATO, M.C. *et al.* Evaluation of hardness and surface roughness of two maxillofacial silicones following disinfection. **Braz. Oral Res.** v.23, n.1, pp. 49-53. 2009b.

GOIATO, M.C, *et al.* Color Stability Comparison of Silicone Facial Prostheses Following Desinfection. **J Prosthodont.** v 18, pp. 242-4. 2009c.

GOIATO, M.C. Avaliação da recuperação elástica e da resistência ao rasgamento de um silicone para uso em prótese facial sob a influência da pigmentação e da desinfecção química. **Rev. Odontol. UNESP**, v. 33, pp.189-94. 2004.

GONZALEZ, J.B. Polyurethane elastomers for facial prosthesis. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, vol. 39, p. 179-87, 1978.

GRANATO, A.E.C. *et al.* Avaliação da citotoxicidade de membranas de quitosana em cultura de células. **Anais do XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação - São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2009.** Disponível em: <http://www.inicepp.univapp.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/RE_0541_0885_01.pdf>. Acesso em: 23 de julho de 2015.

GRAZIANO, R.V.; SANCHEZ, F.H.; RODRIGUEZ, J.V.C. Study of crosslinking density in polydimethylsiloxane networks by DSC. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 55, p. 1317-1327, 1995.

GROS, L. Biological activity. **In: Polymers: biomaterials and medical applications.** John Wileyand Sons, pp. 28-52, 1989.

GU, J. D. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Londres, v.52, pp.69-91, 2003.

GUIOTTI, A.M.; *et al.* Evaluation of the Shore A hardness of silicone for facial prosthesis as to the effect of storage period and chemical disinfection. **J Craniofac Surg.**, v.21, n.2, pp.323-7, 2010.

GUIOTTI, A.M; GOIATO, M.C. Dimensional changing and maintenance of details evaluations of use silicone for use in maxillofacial prosthesis. **J Den Res**, pp.82-250, 2003.

GUIOTTI, A.M; GOIATO, M.C. Silicones para próteses faciais: efeito da pigmentação e envelhecimento sobre dimensão e superfície. **Cienc. Odontol. Bras.**, v.6, n.3, pp.86-97, 2003.

GULMINE, J.V. *et al.* Degradation profile of polyethylene after artificial accelerated weathering. **Polym. Degradation Stability**, v.79, pp.385-97, 2003.

GUNAY, Y. *et al.* Effect of tulle on the mechanical properties of a maxillofacial silicone elastomer, **Dental Materials Journal**, v. 27, nº 6, pp. 775-9, 2008.

HADAD, D. *et al.* Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. **Journal of Applied Microbiology**, Vol. 98, pp. 1093-1100. 2005.

HADDAD, M. F. **Efeito da desinfecção química e do envelhecimento acelerado sobre a estabilidade dimensional, reprodução e manutenção de detalhes e estabilidade de cor do silicone facial Silastic MDX 4-4210 com opacificador.** 126f. 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia-Prótese Dentária) - Universidade Estadual Paulista-UNESP, Faculdade de Odontologia, Araçatuba-São Paulo.

HAGIWARA, A. *et al.* A thirteen-week oral toxicity study of annatto extract (Norbixin), a natural food color extracted from the seed coat of annatto (*Bixa orellana L.*) in Sprague-Dawley rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, pp. 1157-1164, 2003.

HAGLUNG, R. *et al.* Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages *in vitro*. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 6, pp. 739-745, Jun. 2003.

HAILA, K.M. *et al.* Effects of lutein, lycopene, annatto and γ -tocopherol on autoxidation of triglycerides. **J Agric Food Chem**, v.44, n.8, pp.2096-2100, 1996. DOI: 10.1021/jf9504935.

HAMDANI, S. *et al.* Flame retardancy of silicone-based materials. **Polymer degradation and Stability**, v. 94; pp.465-95, 2009.

HAN, Y. *et al.* Effect of nano-oxide concentration on the mechanical properties of a maxillofacial silicone elastomer. **J Prosthet Dent.**, v.100, pp.465-473. 2008.

HAN, Y. Effect of opacifiers and UV absorbers on pigmented maxillofacial silicone elastomer, part 1: Color stability after artificial aging. **J Prosthet Dent.**, v.109, pp.397-401. 2013.

HATAMLEH, M.M.; WATTS, D.C. Mechanical properties and bonding of maxillofacial silicone elastomers. **Dent Mater**. v.26, n.2, pp.185-191. 2010.

HAUG, S.P.; ANDRES, C.J.; MOORE, B.K. Color stability and colorant effect on maxillofacial elastomers. Part I: colorant effect on physical properties. **J Prosthet Dent.**, v.81, n.4, pp.418-422. 1999.

HOOPER, S. *et al.* Implant-Supported Facial Prostheses Provided by a Maxillofacial Unit in a UK Regional Hospital: Longevity and Patient Opinions. **Journal of Prosthodontics**, v. 14, p.32-38.2005.

HOWARD, G.T. Biodegradation of polyurethane: a review. **Int. Biodeter. Biodegr.** v.49, p.245-252, 2002.

HUANG, F.M; *et al.* Cytotoxicity of resin-zinc oxide-eugenol, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. **Int Endod J**, v. 35, n. 2, pp. 153-158. Feb, 2002.

HUANG, J.C. *et al.* Biodegradable plastics: A review. **Adv. In Polym. Technol.**, v. 10, n. 1, pp. 23-30, 1990.

HULTERSTROM, A.K.; BERGLUND, A. Wettability, water sorption and water solubility of seven silicone elastomers used for maxillofacial prostheses. **J Mater Sci.** v.19, pp.225-231.2008.

INTERNATIONAL STANDARD ISO 10993-5:2009. **Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity.** Geneva: International Organization for Standardization, 2009.

ITAVAARA, M. *et al.* Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions. **Chemosphere**, v.46, n.6, 2002.

JAGGER, RG. Effect of the curing cycle on some properties of a polymethylmethacrylate denture base material. **J Oral Rehabil**, v.5, pp.151-157,1978.

JAHNO, V. D. Síntese e caracterização do poli (l-ácido láctico) para uso como biomaterial. Dissertação de Mestrado-Ciências dos Materiais – Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS/PPGEM, 2005.

KANTOLA, R.; *et al.* Color stability of thermochromic pigment in maxillofacial silicone. **J Adv Prosthodont** v. 5, pp. 75-83. 2013.

KAUSCH, H.; **Radiation Effects on Polymers for Biological Use.** 1. ed. Nova York: Ed. Springer, 2003.

KAWANO, F., DOOTZ, E. R., KORAN, A., CRAIG, R. G. Sorption and solubility of 12 soft denture liners. **The Journal of Prosthetic Dentistry.** v. 72, n. 4, p. 393-398. Oct. 1994.

KELEN, T. **Polymer degradation.** Nova York: Van Nostrand Reinhold Company, 1983.

KHINDRIA, S.K.; SANJAY, B.; MEGHA, K. Maxillofacial prosthetic materials. **J Ind Prost Soc.**, v.9, n.1, pp.1-5. 2009.

KIAT-AMNUAY, S.; *et al.* Color stability of dry earth pigmented maxillofacial silicone A-2186 Subjected to Microwave Energy Exposure. **Journal of Prosthodontics.** v. 14, n. 2, pp. 91-96, 2005. PMID:16011619. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-849X.2005.000.00017.x>>. Acesso em: 15 ago 2014.

KIAT-AMNUAY, S.; LEMON, J. C.; POWERS, J. M. Effect of opacifiers on color stability of pigmented maxillofacial silicone A-2186 subjected to artificial aging. **J Prosthodont.**, Philadelphia, v.11, n.2, pp.109-116, Jun. 2002.

KIAT-AMNUAY, S. *et al.* Interactions of pigments and opacifiers on color stability of MDX4-4210/type A maxillofacial elastomers subjected to artificial aging. **J Prosthet Dent**, v. 95, pp.249-257. 2006.

KIAT-AMNUAY, S. *et al.* Adhesive retention of silicone and chlormated polyethylene for maxillofacial prostheses. **J Prosthet Dent**, v. 99, pp.483-488, 2008.

KIM, E. *et al.* An MTT-based method for quantification of periodontal ligament cell viability. **Oral Dis**, v. 13, n. 5, pp. 495-499. Sep, 2007.

KIOKIAS, S.; OREOPOULOU, V. Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.7, pp.132-139, 2006.

KIRKPATRICK, C. J.; MITTERMAYER, C. Theoretical and practical aspects of testing potential biomaterials *in vitro*. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.1, p. 13, 1990.

KLEIN, F. R. **Estudo da degradação térmomecânica e fotooxidativa de poli (acrilonitrila-butadienoestireno) para fins de reciclagem primária**. 68f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-Santa Catarina.

KOULAOUZIDOU, E. A. *et al.* Antiproliferative effect of mineral trioxide aggregate, zinc oxide-eugenol cement, and glass-ionomer cement against three fibroblastic cell lines. **J Endod**, v. 31, n. 1, p. 44-6, jan., 2005.

KROLL, A. *et al.* Current *in vitro* methods in nanoparticle risk assessment: limitations and challenges. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, v.72, n 2, pp. 370-377, 2009.

KRZAN, A. *et al.* Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. **Polymer Degradation and Stability**, Londres, v.91, pp. 2819-2833, 2006.

KUKREJA, T.R. *et al.* Optimisation of physical and mechanical properties of rubber compounds by response surface methodology - two component modeling using vegetable oil and carbon black. **European Polymer Journal**, v.38, pp.1417-1422. 2002.

KURUSU, R.S. **O efeito do tempo e do recozimento nas propriedades mecânicas e de biodegradação de materiais baseados no Poli(3-hidroxibutirato - PHB)**.101f. 2011.Dissertação (Mestrado em Engenharia-Engenharia Metalúrgica e de Materiais)-Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. São Paulo-São Paulo.

LAI, J.H. *et al.* New organosilicon maxillofacial prosthetic materials. **Dent Mater**, v.18, pp. 281-286. 2002.

LAI, S.K. *et al.* Characterization of polydimethylsiloxane elastomer degradation via cross-linker hydrolysis. **Polymer**, v.46, pp.4204 -4211, 2005.

LEMON, J.C. *et al.* Color stability of facial prostheses. **J Prosthet Dent.**, v.74, n.6, pp.613-618. 1995.

LEON, B.L.T. *et al.* Water sorption and bond strength of resilient denture lining materials polymerized by different methods after cycling. **J Prosthet Dent.**,v.93, p.282-287.2005.

LEWIS, D.H.; CASTLEBERRY, D.J. An assessment of recent advances in external maxillofacial materials. **J Prosthet Dent.**, v.43, pp.426-432. 1980.

LI, Q.; *et al.* Synthesis and characterization of chitosan-based hydrogels. International. **Journal of Biological Macromolecules**, v. 44, pp. 121-127, 2009.

LODIENE, G. *et al.* Toxicity evaluation of root canal sealers *in vitro*. **Int Endod J**, v. 41, n.1, pp. 72-77. Jan, 2008.

LUGAUSKAS, A. *et al.* Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. **Int. Biodeter. Biodegr**, v.52, pp. 233-242.2003.

LYMAN, D. J.; ROWLAND, S. M. Biomaterials. In KROSCWITZ, J. I.; *Polymers:biomaterials and medical applications*, **John Wiley and Sons**, p. 52-71.1989.

MADSEN, F.B.; DIMITROV, I.; DAUGAARD, A.E.; HVILSTED, S.; SKOV, A.L. Novel cross-linkers for PDMS networks for controlled and well distributed grafting of functionalities by click chemistry. **Polymer Chemistry**, v. 4, p. 1700-1707, 2013.

MAHAJAN, H; GUPTA, K. Maxillofacial Prosthetic Materials: A Literature Review. **J Orofac. Res.**, v.2, n.2, pp.87-90. 2012.

MAIDA, A. F. P.; DAHER, C.; PINHEIRO, J.B.; PARANHOS, H.F.O.; MACEDO, A.P.; SILVA, C.H.L. Avaliação da dureza de um silicone médico com potencial aplicação em prótese facial. **Ver. Odontol. Bras. Central**, v.20, n.55. pp.329-334.2011. ISSN 1981-3708.

MAITI, P. *et al.* New Biodegradable Polyhydroxybutyrate/Layered Silicate Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 11, 2007.

MANCUSO, D.N. *et al.* Visual evaluation of color stability after accelerated aging of pigmented and non pigmented silicones to be used in facial prostheses. **Ind J Den Res**, v. 20, pp. 77-80, 2009a.

MANCUSO, D.N. *et al.* Color stability after accelerated aging of two silicones, pigmented or not, for use in facial prostheses. **Brazil Oral Res**, v.23, n. 2, pp.144-148. 2009b.

MANCUSO, M.N. *et al.* Color changes in maxillofacial prostheses: literature review. **Rev Odontol. UNESP**, v.34, pp.173-8. 2005.

MARIN, E.; *et al.* **Int. J. Nanomed**, vol 8, n 3071, 2013.

MARMION, D.M. Handbook of U.S. **Colorants: Food, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices**. Third Edition, USA, pp.120-122, 1991.

MARQUES, A.P.; *et al.* The biocompatibility of novel starch based polymers and composites: *in vitro* studies. **Biomaterials** 23, pp.1471-78, 2002.

MAYER, R. **The artist's handbook of materials and techniques**. 5^a ed. New York: Viking Penguin. 1991.

- MIDDLETON, J. C.; TRIPTON, A. J. **Biomaterials**, 2000, v. 21, pp.23-35.
- MOGHADAM, M.K.; MORSHEDIAN, J.; EHSANI, M.; LAINE, R.M.; KUANG, L.Y.; UMEHARA, N. Effects of Ph12SQ on the thermal stability and mechanical properties of high temperature vulcanized (HTV) silicone rubber. **IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation**, v. 21, n. 1, p. 244-252, 2014.
- MORAES, P.C. **Biocompatibilidade e comportamento do cimento de fosfato de cálcio, reforçado com diferentes tipos de fibras, implantado no rádio de coelhos**. 73f. 2002.Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-São Paulo.
- MORTELLARO, C. *et al.* The use of silicon elastomer in maxillofacial rehabilitation as a substitute for or in conjunction with resins. **J Craniofac Surg**. v. 17, n.1, pp.152-162. Jan, 2006.
- NARAYAN, R. Misleading Claims and Misuse Proliferate in the Nascent. **Bioplastics**. Magazine. v. 5, pp. 38-41, 2010.
- NGUYEN C.T. *et al.* Effect of opacifiers and UV absorbers on pigmented maxillofacial silicone elastomer, part 2: Mechanical properties after artificial aging. **J Prosthet Dent.**, v.109, n. 6, pp.402-410. 2013.
- NOWAK, B.; *et al.* Biodegradation of poly(ethylene terephthalate) modified with polyester Bionolle® by *Penicillium funiculosum*. **Polimery**, Warsaw, v. 56, n. 1, pp. 35-44, 2011.
- NUNES, J. Avaliação de segurança em produtos cosméticos e dermatológicos. **Rev. Racine**, São Paulo, v.58, pp.22-26, 2000.
- OLIVEIRA, M. P. Análise *in vitro* da citotoxicidade e proliferação celular emequivalentes de pele humana. Dissertação (Mestrado em Medicina). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Porto Alegre, PUCRS, 71f. 2009.
- OLIVEIRA, T.R. **Influência do tempo após manipulação na citotoxicidade e genotoxicidade de diferentes cimentos endodônticos**. 108f. 2011. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos-São Paulo.
- ORÉFICE, R.L. *et al.* **Biomateriais**. Fundamentos & Aplicações. 1. ed. São Paulo: Ed. Cultura Médica, 2006.
- OECD.2010-ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidance document on using cytotoxicity tests to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests**. OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, n. 129. 2010.
- OSÓRIO, R. M.; HEFT, A.; VERTUCCI, F. J.; SHAWLEY, A. L. Cytotoxicity of endodontic materials 1998. **J Endod.** v. 24, pp. 91-96. 1998.

PARK, J.B.; LAKES, R.S. **Biomaterials: An introduction**. 3rd Ed. New York: Springer, 2007.

PASCON, E.A.; SOUSA, C.J.A.; LANGELAND, K. Biocompatibility of endodontic materials: cytotoxicity of a polyurethane resin derived from castor beam oil. **Braz Endod J.**; v.5, pp. 5-12. 2001.

PAUMGARTTEN, F.J.R. *et al.* Evaluation of the developmental toxicity of annatto in the rat. **Food Chem Toxicol**, v. 40, pp. 1595-1601, Nov. 2002.

PALSULE, A.S.; CLARSON, S.J.; WIDENHOUSE, C.W. Gama irradiation of silicones. Journal of Inorganic and Organometallic **Polymers and Materials**, v.18, p. 207-221, 2008.

PAWAR, P.V. *et al.* Current status and future prospects in prosthetic voice rehabilitation following laryngectomy. **J Can Res**, v.4, n.4, pp. 186-191.2008. Disponível em: <<http://www.cancerjournal.net>> IP: 177.180.235.115 Acesso em: 11 de Agosto de 2015.

PELMONT, J. Biodégradations et métabolismes. **Les bactéries pour les technologies de l'environnement**. EDP Sciences, Les Ulis-France. 2005.

PEREIRA, I.P.M. **Estudo da degradação de compósitos reforçados com fibras biodegradáveis para aplicações biomédicas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Universidade do Porto. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10216/69204>>. Acesso em: 15 ago 2014.

PINHEIRO, J.B. **Correlação estrutura-propriedades de silicones para prótese facial – Efeitos da pigmentação e do envelhecimento**. 110f. 2012. Dissertação (Mestrado em Odontologia Área de concentração: Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-Ribeirão Preto-São Paulo.

PINHEIRO, J.B. *et al.* Effects of pigmentation and accelerated aging on color stability of a medical silicone with potential for use in maxillofacial prosthetics. **Rev Odontol UNESP**, Araraquara, v.40, n.3, pp.125-130, maio/jun. 2011.

PINTO, J.R.R. *et al.* Evaluation of varying amounts of thermal cycling on bond strength and permanent deformation of two resilient denture liners. **J Prosthet Dent**. St Louis: Mosby, Inc. v. 92, p.288-293. 2004. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/31412>>.

PITTET, B.; MONTANDON, D.; PITTET, D. Infection in breast implants. **Lancet Infectious Diseases**, v.5, n. 2, pp. 94-106, 2005.

POLYZOIS G. L.; TARANTILI, P. A.; FRANGOU, M. J.; and ANDREOPOULOSET, A. G. Physical properties of a silicone prosthetic elastomer stored in simulated skin secretions. **J Prosthet Dent.**; v.83, n. 5, pp. 572-577. 2000.

POLYZOIS, G. L., ELENI, P. N.; KROKIDA, M. K. Effect of Time Passage on Some Physical Properties of Silicone Maxillofacial Elastomers. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 22, n 1617, 2011.

POSPISIL, J. *et al.* Factors affecting accelerated testing of polymer photostability. **Polym Degradation Stability**, v.91, pp.417-22. 2006.

RABELLO, M. **Aditivação de Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2000. ISBN: 85-88098-01-6.

RAHIMI, A. Inorganic and organometallic polymers: a review. **Iranian Polymer Journal**, Department of Polymer Science and Catalysts, Iran Polymer and Petrochemical Institute. v.13, pp.149-464. 2004.P.O. Box: 14965/115, Tehran, I.R. Iran.

RAI, S.Y.; GUTTAL, S.S. Effect of Intrinsic Pigmentation on the Tear Strength and Water Sorption of Two Commercially Available Silicone Elastomers, **J Indian Prosthodont Soc**. v.13, n.1, p.30-35., Jan-Mar 2013.

RAJAN, K.P.; GHAMDI, A. A. **Preparation and Biocompatibility Evaluation of Compatibilized blends of Thermoplastic Polyurethane (TPU) and Polydimethyl Siloxane Rubber**. Dubai: ANTEC, 2014.

RAMAKRISHNA, S. *et al.* Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. **Composites Science and Technology**. ISSN 0266-3538. v. 61, n. 9, pp.1189-224. Jul, 2001.

REIS, A.; LOGUERCIO, A. **Materiais Dentários Diretos – dos Fundamentos à Aplicação Clínica**. São Paulo: Ed Santos, 423pp. 2009.

RIBEIRO, D.A. *et al.* *In vitro* biocompatibility tests of two commercial types of mineral trioxide aggregate. **Braz Oral Res**. v. 19, n. 3, pp. 183-188. 2005.

ROCHA GARCIA, C.E. *et al.* Bixina e norbixina: os pigmentos do urucum (*Bixa orellana* L.) utilizados na indústria cárnea. **Revista Nacional da Carne**, v.401, pp.14-22, 2010. ISSN 1413-4837.

ROGERO, S.O. *et al.* Teste *in vitro* de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias. **Mater. Res**. v. 6, n. 3, pp. 317-320, 2003.

ROSA, D. S.; FILHO, R. P. **Biodegradação: um ensaio com polímeros**. Bragança Paulista: Universitária São Francisco; Itatiba Edit, Moara, 2003. 112p. ISBN 8586965677, 9788586965678.

SAIDON, J. *et al.* Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 4, pp. 483-489, Abr. 2003.

SAMPERS, J. Importance of weathering factors other than UV radiation and temperature in outdoor exposure. **Polym Degradation Stability**, v.76, pp.455-465. 2002.

SANDI, M. P., CUEN, B.A.;CERRA, R.. **El Achiote, Boletín Bimestral de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad**. Ano 7, n°46, pp.7-11. Janeiro. 2003.

SANTOS, D. M. **Influência de pigmentos e opacificadores na estabilidade de cor, dureza, absorção e solubilidade de um silicone facial submetido ao envelhecimento acelerado.** 113f.2009. Tese (doutorado em odontologia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Araçatuba-São Paulo. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/105570>>. Acesso em: 10 jun 2015.

SANTOS, G.C. **Avaliação do efeito protetor do urucum e da bixina sobre a genotoxicidade induzida pelo antitumoral cisplatina em células da linhagem PC12.** Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição- Área de Ciências Nutricionais)136f.2008.Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Araraquara, São Paulo.

SANTOS, H. Toxicologia: a garantia de cosméticos seguros. **Cosmetics & Toiletries**, v.20, n. 2, pp. 20-24. 2008. www.cosmeticsonline.com.br

SARON, C. **Estudo da degradação térmica e fotoquímica das blendas PPO/HIPS.** Dissertação (Mestrado em Química), 109f. 2001. Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP-Instituto de Química-Departamento de Físico-Química, Campinas, SP.

SATYANARAYANA, A. *et al.* Chemistry, processing and toxicology of annatto (*Bixa orellana* L.). **Journal of Food Science Technology**, v.40, n.2, pp.131-141, 2003. DOI: 10.1111/j.1745-4506.2006.000.00014.x.

SCELZA, M.F. *et al.* Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an *in vitro* analysis. **J Endod**, v. 27, n. 12, pp. 741-743. 2001.

SCHMALZ, G.; SCHWEIK, H. Characterization of an *in vitro* dentin barrier test using standard toxicant. **J Endod**. v. 20, n. 12, p. 592-594.1994.

SCHUH, J.C.L. Medical Device Regulations and Testing for Toxicologic Pathologists.**Toxicol Pathol**. v.36, pp.63-69. 2008.

SCOTT, G. "Green" polymers. **Polym. Degrad. Stab.** Londres, v. 68, pp. 1-7, 2000.

SCOTTER, M. J. Characterization of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation, **Food Chemistry**, v.53, n. 2, pp. 177-185,1995.

SETHI, T.; KHEUR, M. Silicon elastomers - their role in maxillofacial prosthetic rehabilitation. **International Journal of Basic and Applied Medical Sciences**, 2012

SHAH, A.A. *et al.* Biological degradation of plastics: a comprehensive review. **Biotechnol. Adv.** v.26, n.3, pp.246-265.2008.

SHARIF, A. *et al.* Maxillofacial materials reinforced with various concentrations of Polyhedral Silsesquioxanes. **J Dent Biomech**. v. 2010, Article ID 701845, 6 pages doi:10.4061/2010/701845. 2010.

SHIMAO, M. Biodegradation of plastics. **Curr. Opin. Biotechnol**. v.12, n. 3. pp. 242-247. 2001.

SHOKRGOZAR, M.A. *et al.* Healing Potential of Mesenchymal StemCells Cultured on a Collagen-Based Scaffold for Skin Regeneration. **Iranian Biomedical Journal**, v. 16, n. 2, pp. 68-76. DOI: 10.6091/ibj.1053.2012.

SHYCHUK, A.V.; WHITE, J. R. White, Analysis of Chain-Scission and Crosslinking Rates in the Photo-oxidation of Polystyrene, **J Appl Polym Sci**, v.77 pp. 3015-3023. 2000.

SIGRID, K.; BAYER, A.G. Rubber Business Group Applications Development Section. **Manual for the rubber industry**, Development Section, Leverkusen, Print book: 2nd fully rev. ed. 1993.

SILVA, D.P.; CARVALHO, J.C.M. Prótese ocular: estudo preliminar de diferentes tintas para pintura de íris. **Rev. Fac. Odontol.** São Paulo, v.8, n.1, pp. 71-76. 1994.

SILVA, J.D.C.B.K.F da. **Avaliação da influência da degradação no comportamento, na estrutura e nas propriedades físicas e mecânicas de implantes mamários de silicone.** 157 pp. 2014. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais). Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro- Rio de Janeiro.

SILVA, M. C. D. *et al.* Thermogravimetric investigations on the thermal degradation of bixin, derived from the seeds of annatto (Bixa orellana L). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.79: n 277, 2005.

SILVA, M.W.S. **Desenvolvimento de compostos biodegradáveis eva/resíduo de eva/amido.** Tese de (Doutorado em Engenharia de Materiais). Campina Grande; Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande-UFCG; 2012.

SOUZA, N.J.A. *et al.* Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. **Int Endod J.** v. 39, n. 1, pp. 40-7, 2006.

STATHI, K.; TARANTILI, P.; POLYZOIS, G. The effect of accelerated ageing on performance properties of addition type silicone biomaterials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine.** v. 21, pp. 1403-1411, 2010.

SU, Fang *et al.* The Test of the Mechanical Properties of SY-28, SY-20 and MDX-4-4210 Silicone Elastomers. **J US -Chi Med. Scien.**, v.3, n.2. 2006.

SUITS, L.D.; HSUAN, Y.G. **Assessing the photodegradation of geosynthetics by outdoor exposure and laboratory weatherometer.** Geotextiles and Geomembranes., technical note, pp. 111-122, 2003.

SWEENEY, A.B. *et al.* Evaluation of improved maxillofacial prosthetic materials. **J Prosthet Dent.**, v.27,n. 3, pp.297-305. 1972.

SWIFT, G. *et al.* **Non-medical biodegradable polymers: environmentally degradable polymers, in: Handbook of biodegradable polymers.** Amsterdam: Harwood Academic, 1997.

SZOSTAK-KOTOWA, J. Biodeterioration of textiles. **Int. Biodeter. Biodegr.** v.53, pp.165-170. 2004.

TAGER, A. **Physical chemistry of polymers**. 2a.Ed. Moscou: Mir Publishers, 1978.

TAKAMATA, T.; MOORE, B.K.; CHALIAN, V.A. Evaluation of color changes of silicone maxillofacial materials after exposure to sunlight. **Dent Mater J.** v. 8, pp. 260-270, 1989.

TARANTILI, P.A.; FRANGOU, M.J.; ANDREOPOULOS, A.G. Physical properties of a silicone prosthetic elastomer stored in simulated skin secretions. **J Prosthet Dent**, v. 83, n. 5, pp. 572-577. 2000.

TAYEL, S.B; ALAMMARI, M. R. Cellular Response to Pigmented Silicon Maxillofacial Prosthetic Material. **Life Sci J.** v. 11, n, 9, pp. 309-313. 2014. Disponível em:<<http://www.lifesciencesite.com>> Acesso em: 23 de julho de 2015.

TOLEDO, T.O., *et al.* Propriedades biológicas de los tintes naturales. **Ars Pharmaceutica**, v.45, n.1, pp.5-20. 2004.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a era do teste DL50. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, pp. 93-98. 2006.

VICENTE, A. M. M. **Efeitos adversos de contaminantes estuarinos em células humanas: avaliação da genotoxicidade e desregulação endócrina**.100f. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente).100f. Universidade de Lisboa. Lisboa-Portugal.

VIEIRA, M. S. **Emprego da citotoxicidade basal *in vitro* na redução do número de animais em ensaios de avaliação da toxicidade oral aguda: a grandisina e seu metabolito majoritário como protótipos**. 66f. 2009.Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Faculdade Federal de Goiás, Goiania-Goiás.

WAKE, M. C.; GERECHE, P. D.; LU, L.; MIKOS, A. G. Effects of biodegradable polymer particles on rat marrow-derived stromal osteoblasts in vitro. **Biomaterials**. v.19, n. 19, pp. 1255-1268. 1998.

WANG, L. *et al.* Biomechanical properties of nano-TiO₂ addition to a medical silicone elastomer: the effect of artificial ageing. **J Dent**. v. 42, n.4, pp.475-483, abr. 2014.

WATERS, M.G.J.; JAGGER, R.G.; WINTER, R.W. Effect of surface modified fillers on the water absorption of a RTV silicone denture soft lining material. **J Dent**. v.24, p.297-300,1996.

WIKIPEDIA. **Enzimas**. Disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/Enzima>>. Acesso em: 30 set. 2015.

WILES, D.M.; SCOTT, G. Polyolefins with controlled environmental degradability. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, pp. 1581-1592, 2006.

WILLIAMS, D.F. Mechanisms of biodegradation of implantable polymers. **Clinical Materials**, v.10,n. 1-2, pp. 9-12, 1992.

WOLF, B. *et al.* *In vitro* testing of the bond between soft materials used for maxillofacial prostheses and cast titanium. **J Prosthet Dent.**, v.85, pp.401-408, 2001.

WOLFAARDT, J. F.; CHANDLER, H. D.; SMITH, B. A. Mechanical properties of a new facial prosthetic material. **J Prosthet Dent.**, v.53,n. 2, pp.228-234. 1985.

WONG, J.Y.; BRONZINO, J.D. **Biomaterials**.15^a Edi. Chicago: Boca Raton: CRC Press, 2007.

YU, R.; KORAN III, A.; CRAIG, R.G. Physical properties of a pigmented silicone maxillofacial material as a function of accelerated aging. **J Dent Res**. v.59, n. 7:1141-1148. 1980.

ZARDAWI, F. M. M. Characterisation of Implant Supported Soft Tissue Prostheses Produced with 3D Colour Printing Technology. 274f. 2012. Thesi (Clinical Dentistry) School of Clinical Dentistry. The University Of Sheffield.

ZHANG, L., XIONG, C., & DENG, X. Biodegradable polyester blends for biomedical application. **J Applied Polymer Sci**, v. 56, n.1, pp.103-112,1995 . Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/app.1995.070560114>>. Acesso em: 10 maio 2013.

ZUCCO, F. *et al.* Toxicology investigations with cell culture systems: 20 years after. **Toxicol. In vitro**, v.18, pp. 153-163. 2004.

ZUCHOWSKA, D.; HLAVATA, D.; STELLER, R.; ADAMIAK, W.; MEISSNER, W. Physical structure of polyolefin– starch blends after ageing. **Polym. Degrad. Stab.** v.64, n. 2, pp. 339-346.1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS - $n=288$ Antes do envelhecimento (0 horas) $n=72$ GC $n=24$ G1 $n=24$ G2 $n=24$

Ensaio de Citotoxicidade/ Ensaio de Sorção/ Ensaio de Biodegradação Enzimática - 03 unid.		
MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.
Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.

(120 horas) $n=72$ GC $n=24$ G1 $n=24$ G2 $n=24$

Ensaio de Citotoxicidade / Ensaio de Biodegradação Enzimática - 03 unid.		
MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.
Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.

(240 horas) $n=72$ GC $n=24$ G1 $n=24$ G2 $n=24$

Ensaio de Citotoxicidade / Ensaio de Biodegradação Enzimática - 03 unid.		
MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.
Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.

(1000 horas) $n=72$ GC $n=24$ G1 $n=24$ G2 $n=24$

Ensaio de Citotoxicidade / Ensaio de Biodegradação Enzimática - 03 unid.		
MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.	MO/MEV -03 unid. FTIR – 03 unid. TGA – 03 unid.
Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.	Dureza Shore A - 05 unid. Resist. Rasgamento – 05 unid. Resist. Tração – 05 unid.

A
N
T
E
SE
N
V
E
L
H
E
C
I
M
E
N
T
O

U
V
T
U

APÊNDICE B – COLETA DE DADOS PARA OS ENSAIOS DE SORÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E ENGENHARIA DE MATERIAIS

COLETA DE DADOS PARA OS ENSAIOS DE SORÇÃO

PESQUISA : INFLUÊNCIA DE PIGMENTOS NAS PROPRIEDADES DE UM SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL SUBMETIDO AO ENVELHECIMENTO

Data: 04 /05 / 2015 Tempo: 0 Hora Registro as 07:00h




Medidas	SO(GC)			S+M(G1)			S+B(G2)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Amostras									
Diâmetro 1	14,33	14,18	13,93	14,03	14,03	14,07	13,86	13,68	14,03
Diâmetro 2	14,34	13,73	14,34	14,22	14,31	13,53	14,26	14,23	13,91
Diâmetro 3	14,34	13,75	13,68	14,05	14,32	14,03	13,68	13,84	14,08
<u>Média ϕ</u>	14,33667	13,88667	13,98333	14,1	14,22	13,87667	13,93333	13,91667	14,00667
Espessura 1	2,45	2,94	2,44	2,43	2,93	3,18	2,85	2,97	3,17
Espessura 2	2,41	2,72	2,39	2,3	2,92	3,38	2,34	2,9	3,39
Espessura 3	2,43	2,92	2,52	2,39	2,35	3,46	2,52	3,18	3,3
<u>Média ϕ</u>	2,43	2,86	2,45	2,373333	2,733333	3,34	2,57	3,016667	3,286667
Peso	0,434	0,515	0,419	0,405	0,458	0,538	0,411	0,466	0,475


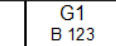
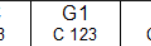
APÊNDICE C – ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS

PESQUISA : INFLUÊNCIA DE PIGMENTOS NAS PROPRIEDADES DE UM SILICONE PARA PRÓTESE FACIAL SUBMETIDO AO ENVELHECIMENTO

T (h)	Retirada Data/Hora	Dureza Shore A			Resistência ao Rasgamento			Resistência a Tração		
										
120	---/---/--- ---:---	GC 12345	G1 12345	G2 12345	GC 12345	G1 12345	G2 12345	GC 12345	G1 12345	G2 12345
240	---/---/--- ---:---	GC 678910	G1 678910	G2 678910	GC 678910	G1 678910	G2 678910	GC 678910	G1 678910	G2 678910

T (h)	Retirada Data/Hora	MO/MEV-EDS			FTIR/TGA			CITO/SORÇÃO BIODEGRADAÇÃO		
										
120	---/---/--- ---:---	GC A 123	G1 A 123	G2 A 123	GC B 123	G1 B 123	G2 B 123	GC C 123	G1 C 123	G2 C 123
240	---/---/--- ---:---	GC A 456	G1 A 456	G2 A 456	GC A 456	G1 A 456	G2 B 456	GC A 456	G1 C 456	G2 C 456
1000	---/---/--- ---:---	GC A 789	G1 A 789	G2 A 789	GC A 789	G1 B 789	G2 B 789	GC A 789	G1 C 789	G2 C 789

APÊNDICE E – II RESULTADOS DOS ENSAIOS MECÂNICOS APÓS ENVELHECIMENTO ACELERADO

1 – Ensaio mecânico de DUREZA SHORE A

– Valores médios da dureza SHORE A do silicone Silastic MDX4 4210, nos diferentes grupos, após o envelhecimento acelerado.

Amostras do Silicone-120 horas	Valores Obtidos	Média
Silicone Original(GC)	30,8 33,29 DP 1,37	30,9
Silicone com Maquiagem(G1)	34,2,30,33,4 DP 1,68	32,5
Silicone com Bixina(G2)	32,2 30,6 31,8 DP 0,62	31,5
Amostras do Silicone-240 horas	Valores Obtidos	Média
Silicone Original(GC)	35,4 27,4 31,4 DP 2,6	31,4
Silicone com Maquiagem(G1)	33,4 23,8 33,6 DP 4,3	30,2
Silicone com Bixina(G2)	30,4 31,6 33,8 DP 1,24	31,9
Amostras do Silicone-1.000 horas	Valores Obtidos	Média
Silicone Original(GC)	29,4 28,2 30,2 DP 0,71	29,2
Silicone com Maquiagem(G1)	38,4 30 32,8 DP 3,11	33,7
Silicone com Bixina(G2)	38 34,4 29,8 DP 2,84	34,1

- Médias dos valores de Dureza Shore A dos corpos de prova antes e após o envelhecimento acelerado nos diferentes períodos avaliados

Grupos Experimentais	Antes	120 horas	220 horas	1.000 horas
Silicone Original(GC)	26,8±1,44	30,9±1,37	31,4±2,6	29,2±0,71
Silicone com Maquiagem(G1)	28±0,8	32,5±1,68	30,2±4,3	33,7±3,11
Silicone com Bixina(G2)	28,6±2,72	31,5±0,62	31,9±1,24	34,1±2,84

Valores médios (em kgf/cm) da RESISTÊNCIA AO RASGAMENTO dos corpos de prova antes e após o envelhecimento acelerado

Silicone Original	E. Mpa	E Max	$\sigma\%$
0 horas	0,38±0,05	1,58±0,10	351±62
120 horas	0,320±0,010	125±0,33	349±82
240 horas	0,289±0,035	1,22±0,21	359±41
1.000 horas	0,339±0,021	1,2±0,2	327±32

Silicone+Maquiage m	E. Mpa	D Max	$\sigma\%$
0 horas	0,3432±0,03	1,362±0,35	326±65
120 horas	0,338±0,042	1,017±0,030	292,4±34,1
240 horas	0,329±0,0253	1,094±0,147	319±40
1.000 horas	0,340±0,031	1,198±0,11	329±29

Silicone+Bixina	F. Mpa	E Max	$\sigma\%$
0 horas	0,332±0,046	0,873±0,11	243±30
120 horas	0,298±0,015	0,931±0,13	200±25
240 horas	0,373±0,036	0,928±0,15	263±24
1.000 horas	0,353±0,021	1,224±0,25	309±49

Valores médios (em kgf/cm) da RESISTÊNCIA À TRAÇÃO dos corpos de prova antes e após o envelhecimento acelerado

Silicone Original	F. Mpa	E Max	$\sigma\%$
0 horas	0,308±0,050	0,528±0,10	195±23
120 horas	0,375±0,070	0,406±0,103	141±23
240 horas	0,398±0,0319	0,495±0,171	166±67
1.000 horas	0,400±0,038	0,503±0,049	160±21

Silicone+Maquiagem	E. Mpa	E Max	$\sigma\%$
0 horas	0,350±0,020	0,522±0,12	178±37
120 horas	0,358±0,034	0,444±0,073	151±32
240 horas	0,378±0,041	0,394±0,084	151±38
1.000 horas	0,413±0,055	0,383±0,041	114±11

Silicone+Bixina	E. Mpa	E Max	$\sigma\%$
0 horas	0,397±0,036	0,521±0,11	163±50
120 horas	0,345±0,033	0,414±0,10	167±40
240 horas	0,381±0,040	0,549±0,158	180±72
1.000 horas	0,410±0,065	0,439±0,291	135±35

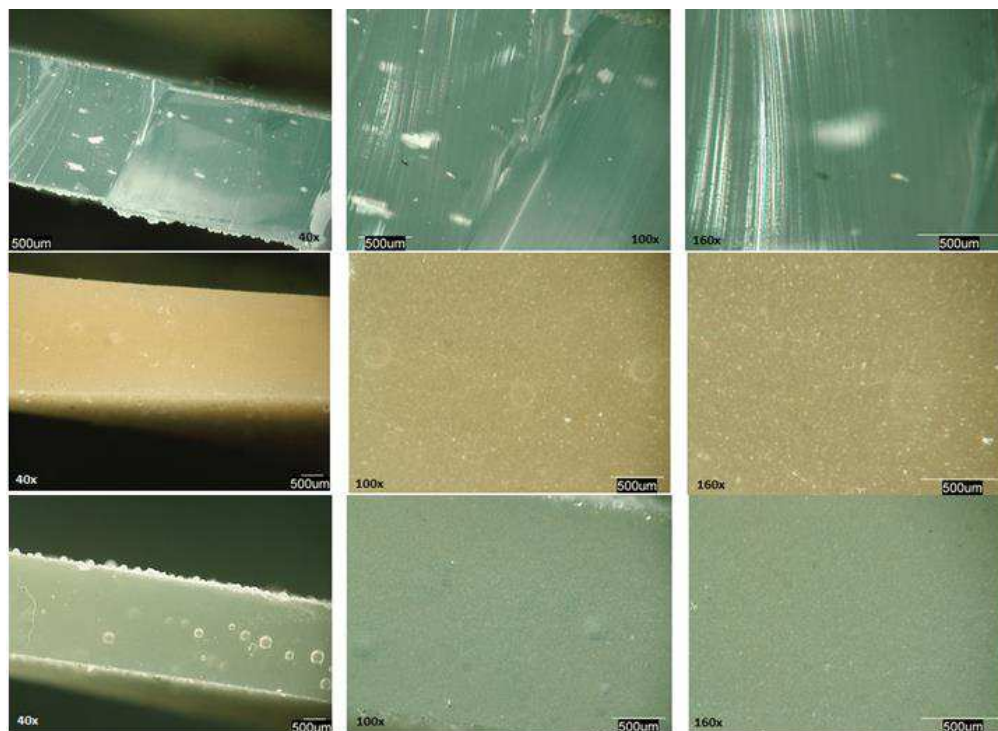
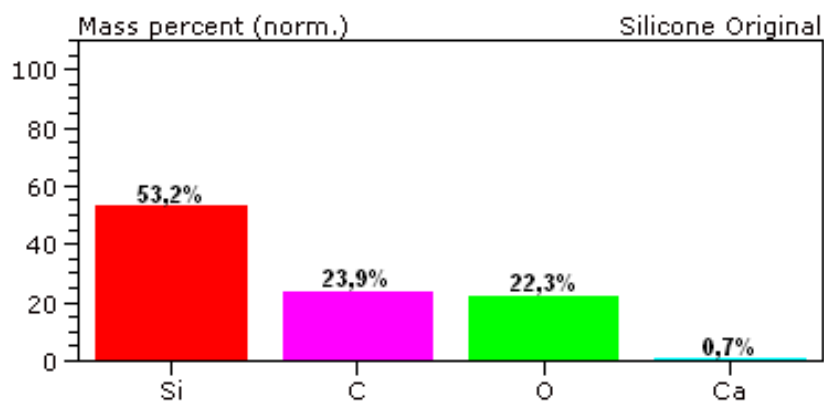
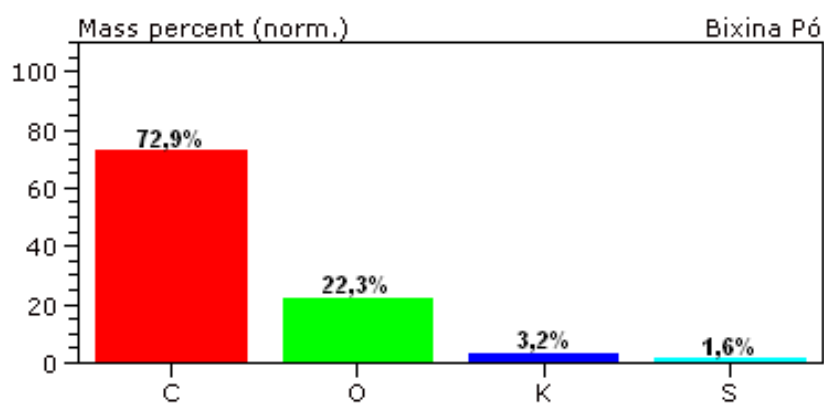


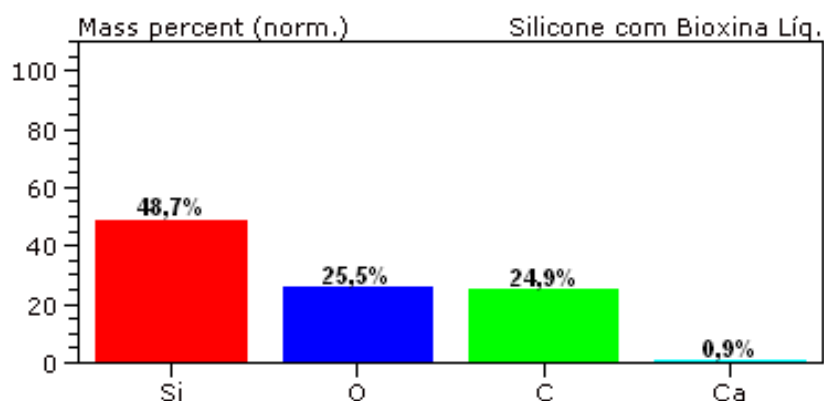
Figura 73 – Microscopia Ótica dos grupos GC, G1 e G2 com aumentos de 40x, 100x e 160x, antes do envelhecimento acelerado



EDS Silicone original

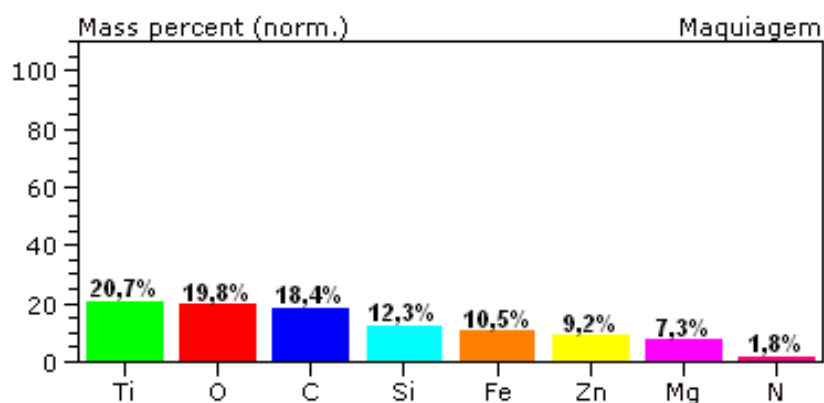


EDS bixina pó

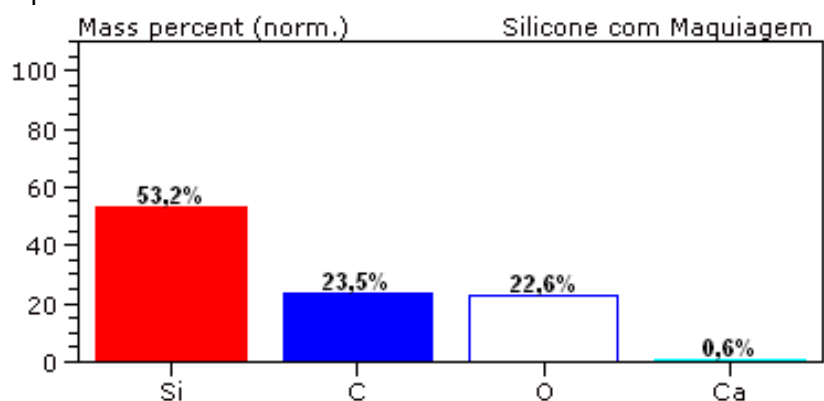


EDS Silicone com bixina

Quando da incorporação de bixina ao silicone, não foram observados picos relativos à presença de potássio (K) e enxofre (S), associados à bixina. Pressupõe-se que na região amostrada não houvesse a presença desse aditivo ou que sua concentração local seja muito baixa para ser detectada.



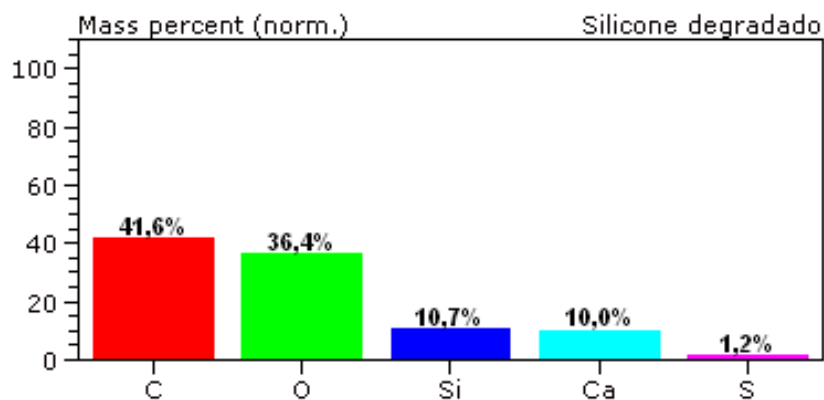
EDS maquiagem pó



EDS Silicone com maquiagem

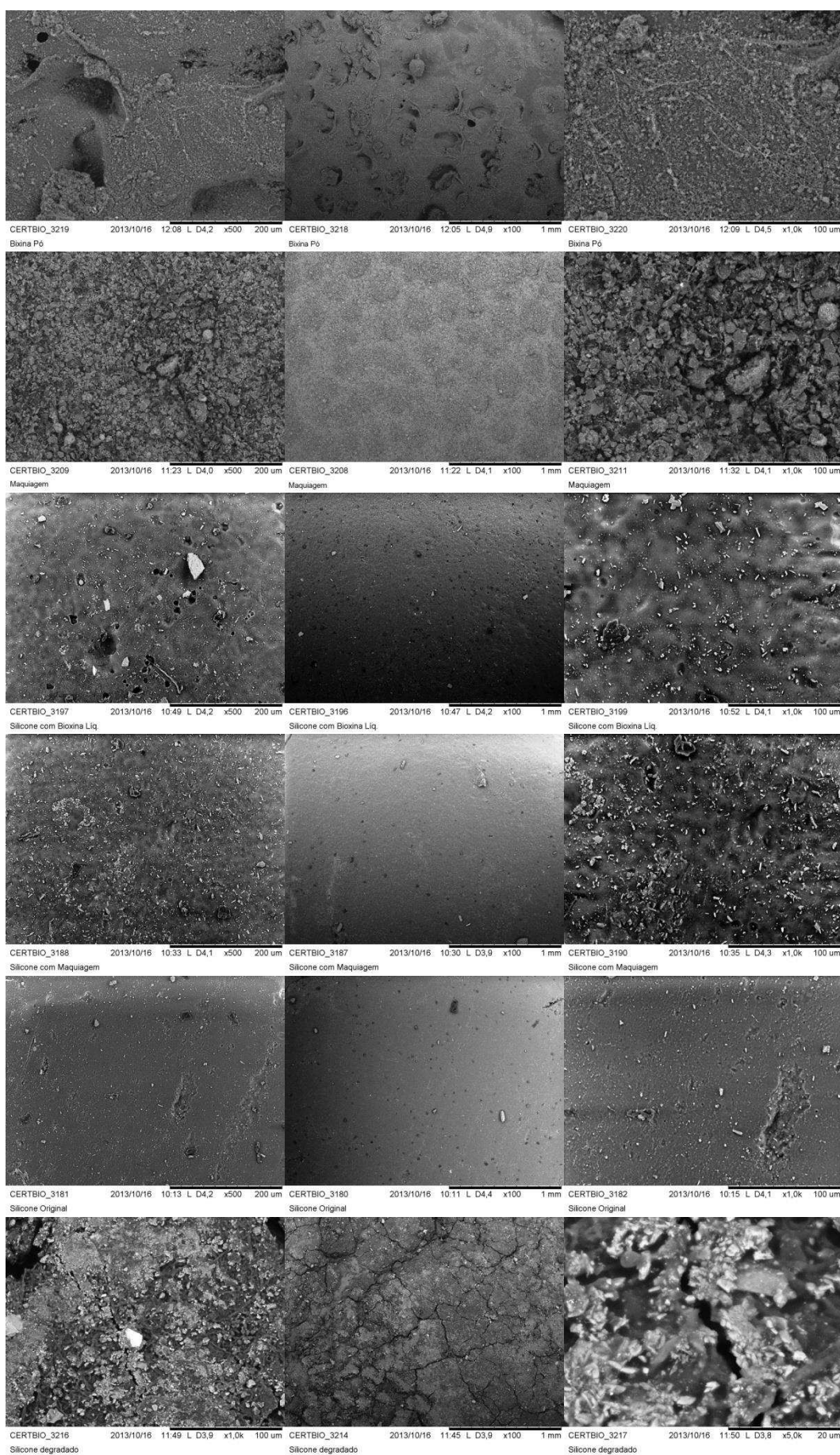
Quando da incorporação da maquiagem ao silicone, não foram observados picos relativos à presença de Titânio (Ti), Ferro (Fe), Zinco (Zn) Magnésio (MG) ou nitrogênio (N), associados à maquiagem. Pressupõe-se que, na região amostrada,

não haveria a presença desse aditivo ou que sua concentração local fosse muito baixa para ser detectada.



EDS Silicone degradado

O EDS do silicone degradado apresenta pico de enxofre, não observado em análise do silicone original. O teor de cálcio (Ca) também é bem mais elevado. Não é possível afirmar se isso decorre do envelhecimento ou da composição desse silicone, distinta da original.



APÊNDICE F – IMAGENS DO MEV ANTES E APÓS ENVELHECIMENTO ACELERADO

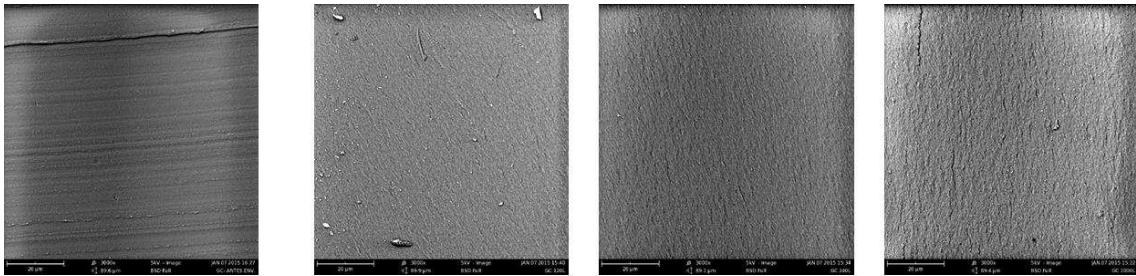


Figura 1 MEV (3.000x) do GC antes do envelhecimento e após envelhecimento (120-240 e 1000 horas)

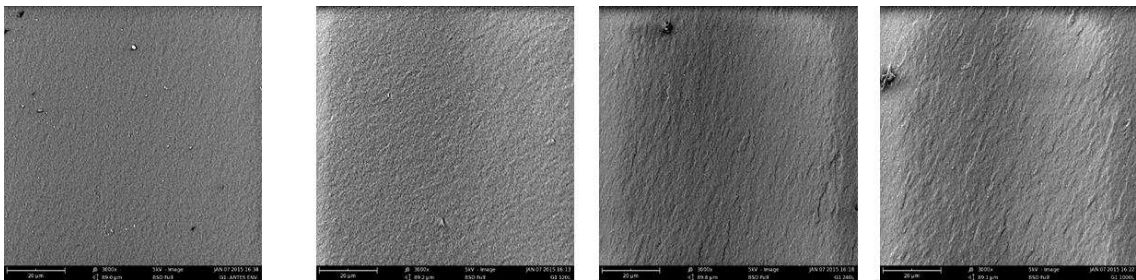


Figura 2 MEV (3.000x) do G1 antes do envelhecimento e após envelhecimento (120-240 e 1000 horas)

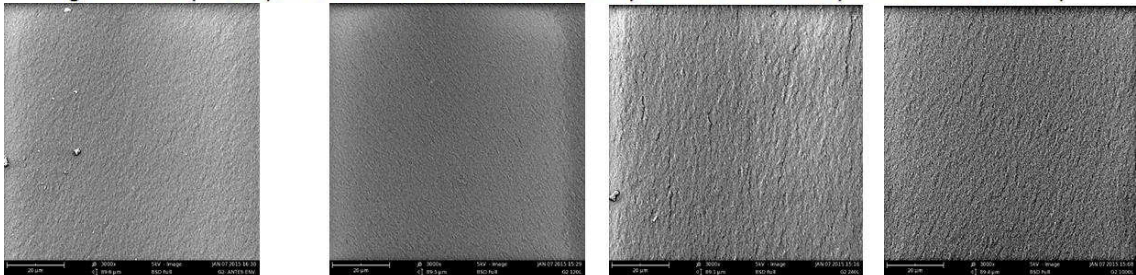
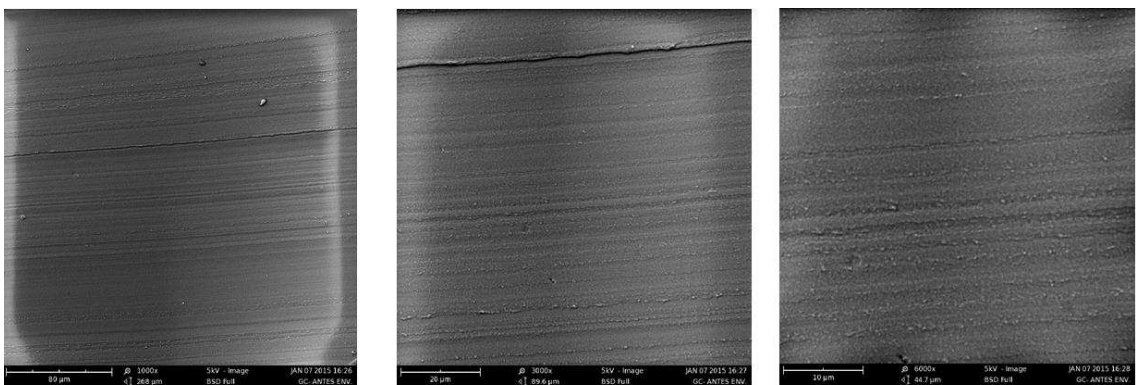
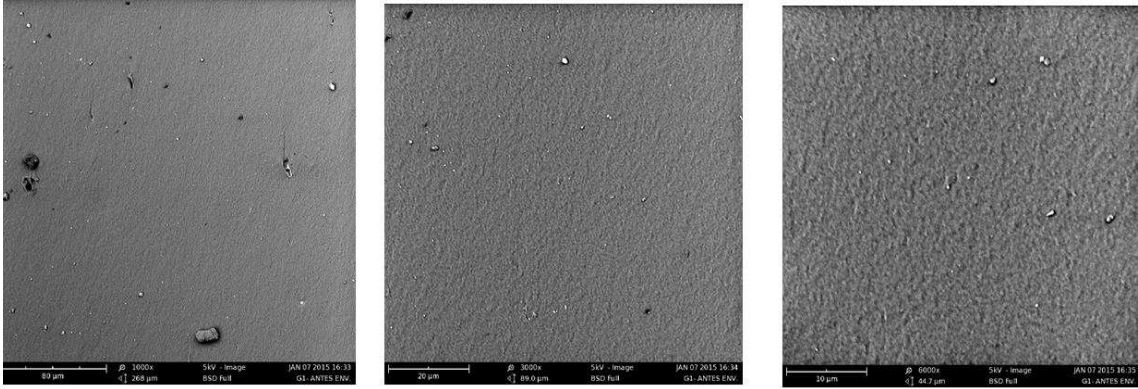


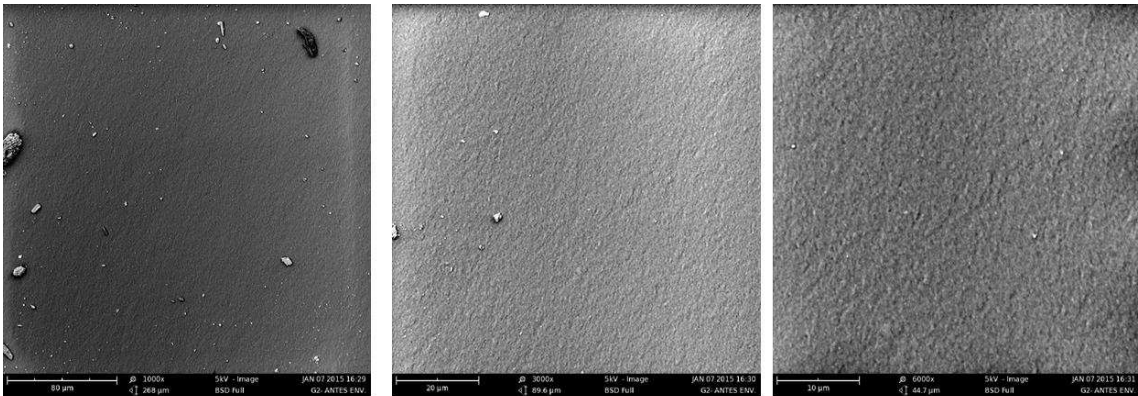
Figura 3 MEV (3.000x) do G2 antes do envelhecimento e após envelhecimento (120-240 e 1000 horas)



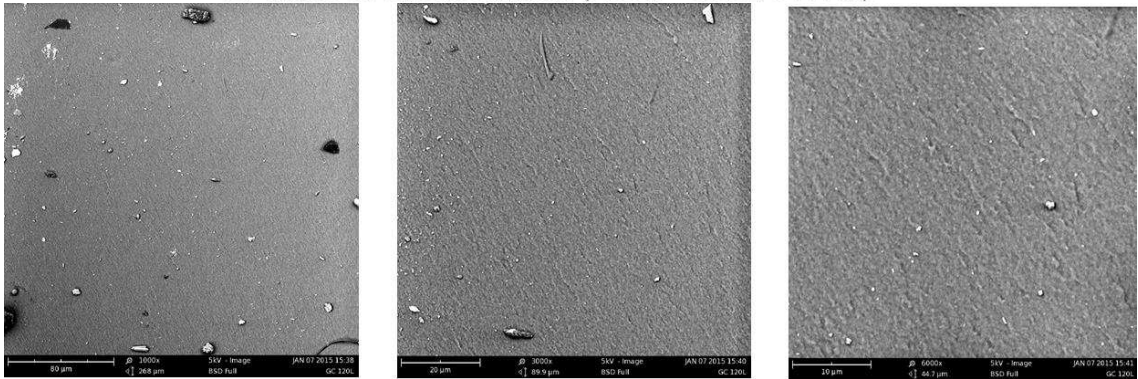
GC - Antes do envelhecimento (1000x – 3000x e 6000x)



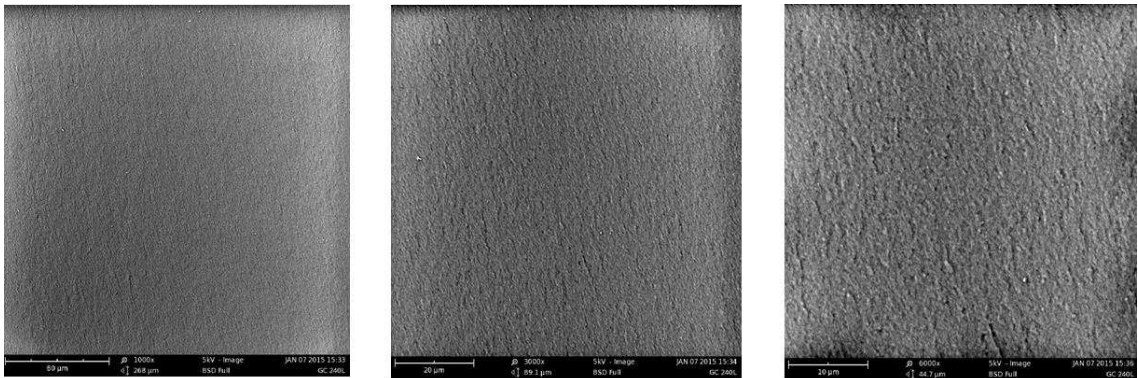
G1 - Antes do envelhecimento (1000x – 3000x e 6000x)



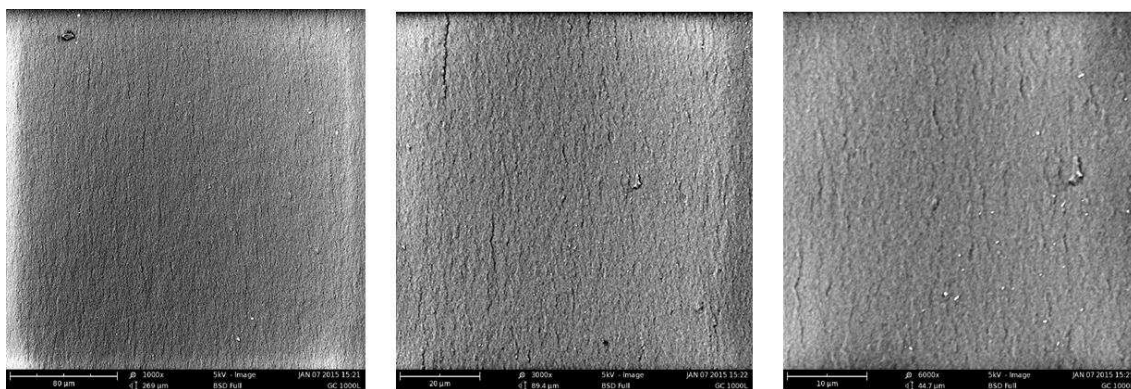
G2 - Antes do envelhecimento (1000x – 3000x e 6000x)



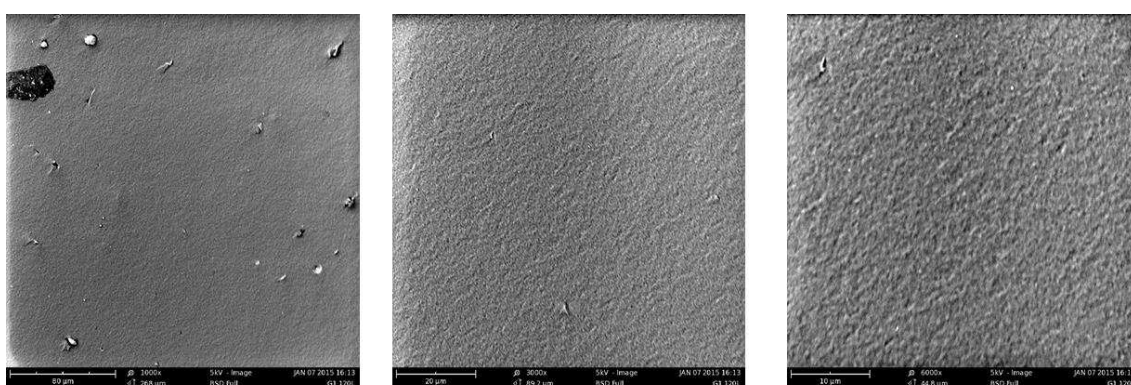
G1 - Após envelhecimento = 120 horas (1000x – 3000x e 6000x)



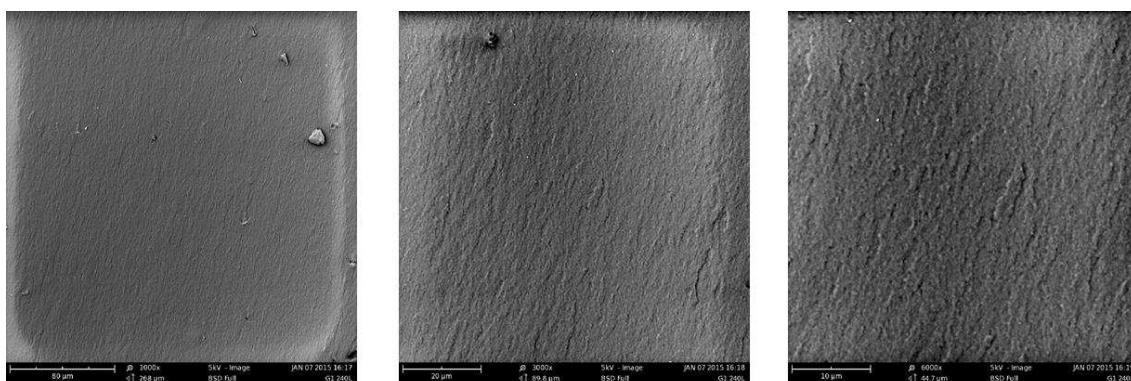
G2 - Após envelhecimento = 240 horas (1000x – 3000x e 6000x)



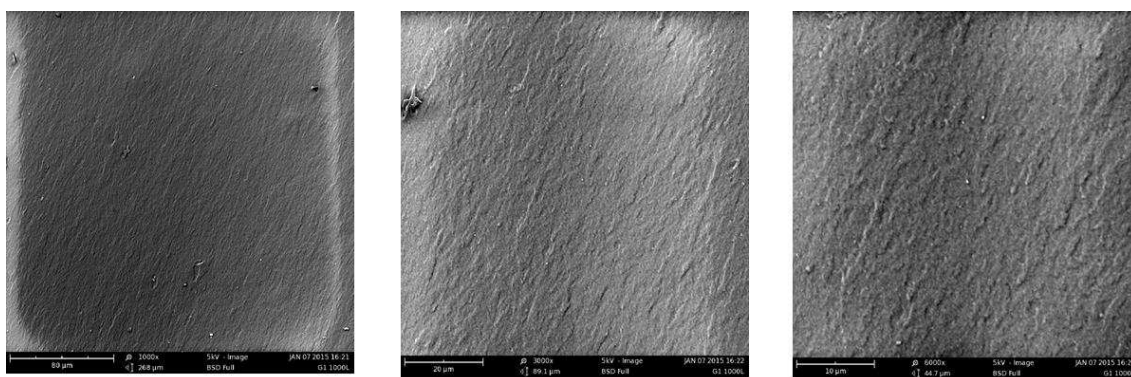
GC - Após envelhecimento = 1000 horas (1000x – 3000x e 6000x)



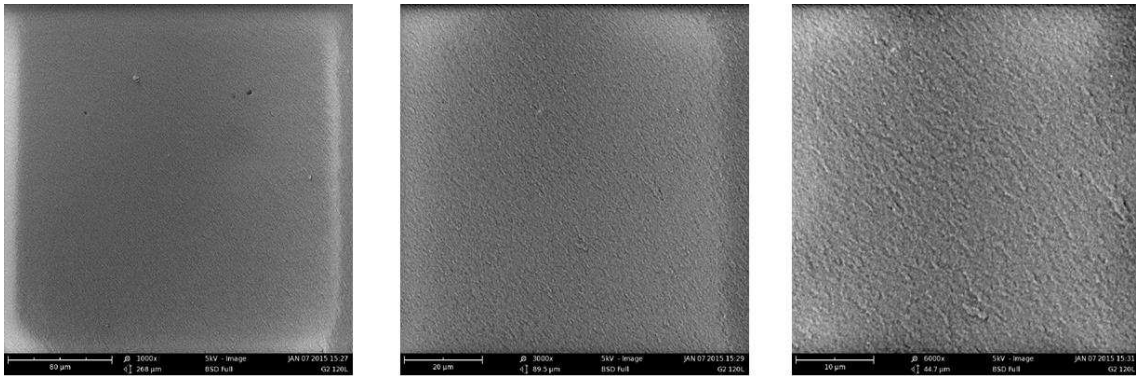
G1 - Após envelhecimento = 120 horas (1000x – 3000x e 6000x)



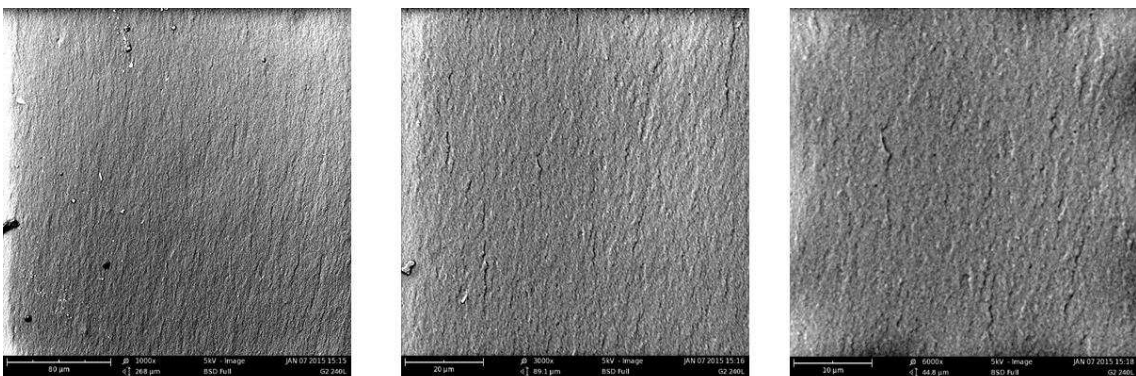
G1 - Após envelhecimento = 240 horas (1000x – 3000x e 6000x)



G1 - Após envelhecimento = 1000 horas (1000x – 3000x e 6000x)

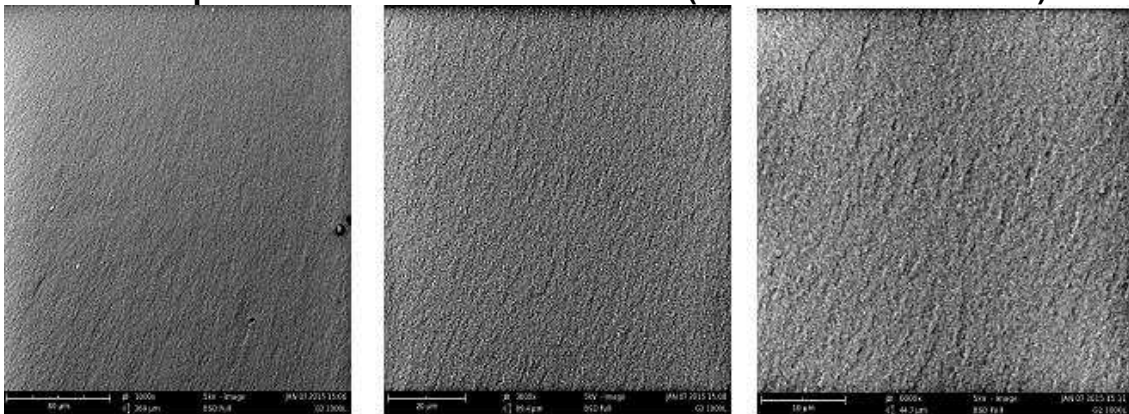


G2 - Após envelhecimento = 120 horas (1000x – 3000x e 6000x)



G2 - Após envelhecimento = 240 horas (1000x – 3000x e 6000x)

G2 – Após envelhecimento=1.000horas(1.000x-3.000x e 6.000x)



ANEXOS

ANEXO A – SUBMISSÃO DO ARTIGO A MATERIALS RESEARCH

26/01/2016

E-mail de Dentistas.com.br - Materials Research - Manuscript ID MR-2016-0051



Geraldo Sávio Alemida Holanda <holanda@dentistas.com.br>

Materials Research - Manuscript ID MR-2016-0051

1 mensagem

virz@ufscar.br <virz@ufscar.br>

23 de janeiro de 2016 15:00

Para: holanda@dentistas.com.br

Cc: holanda@dentistas.com.br, heckerdecarvalho@yahoo.com.br, marcusvinicius@dema.ufcg.edu.br, cacildachaves@hotmail.com, roberta1_oliveira@hotmail.com

23-Jan-2016

Dear Ms. Holanda:

Your manuscript entitled "Influence of pigments on the physical properties of a silicon for facial prosthesis subjected to accelerated aging" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Materials Research.

Your manuscript ID is MR-2016-0051.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/mr-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/mr-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Materials Research.

Sincerely,
Materials Research Editorial Office

23/01/2016

ScholarOne Manuscripts



Materials Research

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to
Materials Research

Manuscript ID
MR-2016-0051

Title
Influence of pigments on the physical properties of a silicon for facial prosthesis subjected to accelerated aging

Authors
Holanda, Geraldo
de Carvalho, Laura
Fook, Marcus
de Lima, Cacilda
Pinto, Maria Roberta

Date Submitted
23-Jan-2016

ANEXO B – ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DO FABRICANTE – SILASTIC MDX4-4210 - DOW CORNING CORPORATION- USA.

Descrição:

O elastômero grau médico Silastic®MDX4-4210, é um produto fluido de dois componentes, que quando combinados à temperatura ambiente ou ligeiramente elevada, cura uma borracha de silicone translúcida. O componente do elastômero consiste de um polímero de dimetilsiloxano, com carga de sílica especial e um catalisador de platina. O componente do agente de cura, consiste de um polímero de dimetilsiloxano, um inibidor e uma siloxano como elemento de ligação. O elastômero grau médico Silastic®MDX4-4210 é feito com exatas especificações para de acordo com os altos padrões de qualidade em aplicações médicas.

As vantagens deste produto incluem;

- Cura por temperatura ambiente e aceleradas pelo calor.
- Boa cura em partes espessas.
- Excelentes propriedades dielétricas.
- Praticamente não há contração quando curado a temperatura ambiente.

Aplicações:

O elastômero grau médico Silastic®MDX4-4210 é destinado para uso em aparelhos médicos, aplicações de encapsulamento ou moldagem quando a cura é feita a temperatura ambiente ou ligeiramente elevada. Por exemplo, tem sido usada como molde flexível para facilitar o encapsulamento de aparelhos biomédicos.

O cliente deve tentar rigorosamente produtos feitos parcialmente ou com a incorporação do elastômero grau médico para verificar a viabilidade e desempenho do mesmo numa aplicação específica.

Instruções de Uso:

Mistura

Misture completamente uma parte do agente da cura com 10 partes por peso do elastômero base. A viscosidade da mistura será cerca de uma metade da viscosidade da base original. Durante a mistura deve-se tomar cuidado para minimizar o acúmulo de ar.

Retirada de Ar

Se uma peça sem falhas for desejada, o ar preso deve ser removido dos materiais misturados. A exposição a um vácuo de cerca de 28 polegadas de mercúrio, por aproximadamente 30 minutos, é geralmente adequada a liberação do vácuo várias vezes durante a fase inicial ajudará a quebrar as bolhas formadas. Depois de remover o ar, se os materiais estão sendo curados a temperaturas elevadas, deixe o material permanecer por 10 minutos para permitir que escapem os traços remanescentes de gás do material. O recipiente contendo o material de ter pelo menos quatro vezes o volume da mistura permitindo assim a expansão.

Cura:

A cura de aproximadamente 24 horas a 23°C (73°F) é necessária para que o material seja suficientemente curado para o manuseio. A cura total é feita em torno de 3 dias, à temperatura ambiente. A cura pode ser acelerada com qualquer dos seguintes esquemas:

- 5 Horas 40°C (104°F)
- 2 Horas 55°C (131°F)
- 30 Minutos 75°C (167°F)
- 15 Minutos 100°C (212°F)

Peças grandes com partes cruzadas, espessas, podem exigir tempo maior para compensar o tempo necessário para aquecer a parte interna na temperatura desejada de cura.

Películas finas do elastômero grau médico Silastic®MDX4-4210 podem curar mais vagorosamente a temperatura ambiente. Ligeiro aquecimento irá acelerar a cura destas películas.

Tabela I: Compatibilidade do Silastic®MDX4-4210 Elastômero Grau Médico

Teste	Resultado
Pirogênicidade	Não pirogênico
Injeção Intracutânea	Não irritante
Injeção do Sistema	Não tóxico
Sensibilização da pele	Não sensibilizante
Implante Intramuscular	
10 Dias	Sem reação
30 Dias	Sem reação
90 Dias	Sem reação
Cultura do tecido da célula	Sem efeito citopático

Uso do Fluido de Silicone para modificar propriedades:

A consistência do elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210, pode ser diminuída incorporando o Fluido Dow Corning® Dimetilpolisiloxano (100cs de viscosidade). O fluido pode ser pré-misturado com a base ou o agente de cura. A incorporação do Fluido Dow Corning® Dimetilpolisiloxano (100cs de viscosidade) aumentará o tempo de trabalho e vulcanização e resulta em propriedades físicas mais reduzidas.

Cuidado: O Fluido incorporado pode ser prontamente extraído em solventes e pode produzir uma superfície ligeiramente oleosa.

Compatibilidade da Cura:

O elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210 cura em contato com vários materiais, entretanto algumas exceções tem sido observadas tais como, as borrachas clorinadas e de butil, algumas borrachas de RTV e os componentes sem reação de alguns plásticos. Frequentemente substratos difíceis que inibem a própria cura do elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210, podem tornarem-se compatíveis lavando com solvente ou aquecendo.

Ligação e Soltura:

O silicone adesivo médico Tipo A, pode ser usado para ligar o elastômero Grau

Médico Silastic®MDX4-4210 a outros elastômeros de silicone e muitos outros materiais.

Propriedades Típicas:

Estes valores não são destinados para uso no preparo de especificações como fornecido:

CTM	ASTM	TESTE	VALOR
0050	D1084	Viscosidade da base, estabilidade	1150
		Viscosidade ² , estabilidade	
0050	D1084	Inicial ³	600
0050	D1084	Após 2 horas	1100

Quando 100 partes do elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210, e 10 partes do agente de cura são misturados, removido o ar, cura prensada por três minutos a 150°C (302°F), pós curado por uma hora a 150°C (302°F) e estabilizado por três horas a temperatura ambiente, as seguintes propriedades típicas serão obtidas em uma chapa de 0.075 polegadas:

Como Curado:

CTM	ASTM	TESTE	VALOR
0063		Cor	Translúcido
0022	D792	Gravidade Específica a 25°C (77°F)	1.10
0099	D2240	Dureza do Durometro, ShoreA, pontos	27
0137 ^a	D142	Força Tensil, psi	650
0137 ^a	D142	Alongamento, Percentual	500
0274		Cultura do Tecido	No CPE
0114	D149	Força dielétrica, volts per mil	575
0249	D257	Resistência específica do volume, ohm-em	2 x 10 ¹⁵

Dielétrica Contínua

0112	D150	100Hz	3.01
0112	D150	100KHz	3.00

Fator de Dissipação

0112	D150	100Hz	9 x 10 ⁴
0112	D150	100kHz	10 x 10 ⁻⁴
0249	D257	Resistência específica da superfície	>7 x 10 ¹⁶

1) CTM's (Corporate Test Methods) correspondem aos testes padrões na maioria dos casos. Cópias de CTM's estão disponíveis mediante pedido.

2) Com 10pph do agente de cura adicionado.

3) Aproximadamente 10 minutos

4) Somente curas prensadas

Elaboradores de Especificação: Favor obter uma cópia da Especificação de Vendas da Dow Corning para este produto e usá-lo como base para sua especificação. A cópia pode ser obtida em qualquer escritório de vendas da DC ou do serviço ao consumidor em Midland. MI . Tel (517)496- 6000.

Cuidado:

Inibição da cura – A cura do elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210, pode ser inibida por traços de aminas, enxofre, óxido de nitrogênio, composto de estanho-organo e monóxido de carbono. Pelo fato das borrachas orgânicas freqüentemente conterem estas substâncias, não devem entrar em contato com o elastômero não curado e o agente de cura. Resíduos catalizados do elastômero de silicone que tiverem sido catalizados por sais de estanho ou peróxidos, podem também inibir a cura.

Biocompatibilidade:

Testes de compatibilidade que vão de encontro ou excedem aos testes USP Classe VI, foram realizados no elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210 e mostrados na tabela I.

Usando o teste de cultura de tecido (método de contato direto) cada lote de produção do elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210 é testado para verificar a ausência de efeitos citopáticos. Testes para verificar níveis de traços de metais também é realizado em cada lote.

Registro no F.D.A:

O registro para o elastômero Grau Médico Silastic®MDX4-4210 foi arquivado na Administração de Alimentos e Medicamentos. Clientes interessados na autorização para consultas ao arquivo devem contatar a Dow Corning Co.