



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

YURI FAVALESSA MONTEIRO

**NOVO EPÓXI PARA PLASTINAÇÃO: ANÁLISE DE VIABILIDADE E
APLICABILIDADE NA CONSERVAÇÃO DE TECIDOS BIOLÓGICOS**

VITÓRIA, ES

2025

YURI FAVALESSA MONTEIRO

**Novo epóxi para plastinação: análise de viabilidade e aplicabilidade na
conservação de tecidos biológicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira

Coorientador: Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt.

VITÓRIA, ES

2025

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M772n Monteiro, Yuri, 1992-
Novo epóxi para plastinação : análise de viabilidade e aplicabilidade na conservação de tecidos biológicos / Yuri Monteiro. - 2025.
125 f. : il.

Orientador: Breno Nogueira.

Coorientador: Athelson Bittencourt.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Plastinação. 2. Biotecnologia. 3. Epóxi. I. Nogueira, Breno. II. Bittencourt, Athelson. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Ata da 39ª sessão de Defesa de Tese do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, do discente **Yuri Favalessa Monteiro**, realizada às treze e trinta horas do dia vinte e quatro de novembro de dois mil e vinte e cinco, tese intitulada “Novo epóxi para plastinação: análise de viabilidade e aplicabilidade na conservação de tecidos biológicos”. A sessão pública foi realizada em formato virtual. O presidente da Banca, prof. Dr. Breno Valentim Nogueira (orientador), passou a palavra para o coorientador Prof. Athelson Stefanon Bittencourt que apresentou os demais membros da comissão examinadora constituída pelos Doutores: Athelson Stefanon Bittencourt, coorientador; Marco Cesar Cunegundes Guimarães, membro titular interno; Kinglston Soares, membro titular externo; Moacir Carretta Júnior, membro titular externo; Carlos Augusto de Camargo Souza Baptista, membro titular externo; Adriana Madeira Álvares da Silva, suplente interno; Jairo Pinto de Oliveira, suplente externo. Em seguida, e em seguida para o aluno que apresentou a sua proposta de Tese. Terminada a apresentação, a banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar o doutorando **APROVADO** na defesa de Doutorado. A banca de defesa considerou por unanimidade a concessão de uma Menção Honrosa pela excelência do trabalho apresentado. Eu, Breno Valentim Nogueira em conjunto com o Prof. Athelson Stefanon Bittencourt, presidimos a Banca de defesa, assinamos a presente Ata, juntamente aos demais membros e damos fé. Vitória, 24 de novembro de 2025.

Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira - Orientador
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt – Coorientador
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Documento assinado digitalmente
gov.br ATHELSON STEFANON BITTENCOURT
Data: 24/11/2025 17:46:07-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Marco Cesar Cunegundes Guimarães – Membro titular interno
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCO CESAR CUNEGUNDES GUIMARAES
Data: 27/11/2025 10:41:52-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Kinglston Soares – Membro titular externo
Instituto Federal do Espírito Santo - IFES

Documento assinado digitalmente
gov.br KINGLSTON SOARES
Data: 27/11/2025 14:54:29-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Moacir Carretta Júnior – Membro titular externo
Centro Universitário Newton Paiva - MG

Documento assinado digitalmente
gov.br MOACIR CARRETTA JUNIOR
Data: 25/11/2025 15:32:08-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Augusto de Camargo Souza Baptista – Membro titular externo
University Of Toledo, Ohio – EUA

Documento assinado digitalmente
gov.br CARLOS AUGUSTO DE CAMARGO SOUZA BAPTI
Data: 25/11/2025 10:05:49-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
BRENO VALENTIM NOGUEIRA - SIAPE 2499820
Departamento de Morfologia - DM/CCS
Em 24/11/2025 às 18:38

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link: <https://api-lepisma.prod.uks.ufes.br/arquivos-assinados/1245488?tipoArquivo=O>

YURI FAVALESSA MONTEIRO

**Novo epóxi para plastinação: análise de viabilidade e aplicabilidade na
conservação de tecidos biológicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Apresentada em 24 de novembro de 2025.

Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Orientador

Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Coorientador

Prof. Dr. Carlos Augusto de Camargo Souza Baptista
University of Toledo, Ohio – EUA
Membro Titular Externo

Prof. Dr. Kinglston Soares
Instituto Federal do Espírito Santo (IFES)
Membro Titular Externo

Prof. Dr. Moacir Carretta Júnior
Centro Universitário Newton Paiva – MG
Membro Titular Externo

Prof. Dr. Marco César Cunegundes Guimarães
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Membro Titular Interno

Vitória, ES

2025

Dedicado à minha esposa, meus pais e minhas avós.

AGRADECIMENTOS

A UFES, por proporcionar minha formação acadêmica, de forma gratuita e com qualidade.

Agradeço a minha esposa Débora Ramos por todo apoio emocional, intelectual e logístico, sem os quais não seria possível finalizar a tese.

Agradeço a mãe e avós por todo amor, carinho e ensinamentos que me fizeram ser quem eu sou.

Agradeço ao meu coorientador Athelson pelo apoio, conselhos e por sempre querer e ajudar a alcançar o melhor para o meu futuro profissional. Além disso, não hesitou em me dar ótimas oportunidades de crescimento pessoal e profissional e depositar confiança em mim. Também ao meu orientador Breno, que aceitou o desafio da orientação da minha pesquisa.

Ao Professor Kinglston Soares por ter cedido equipamentos para as análises físico-químicas e dado suporte na interpretação dos dados.

Aos Professores Rafael Latorre e Octavio Albors por terem me recebido durante o meu doutorado na Universidad de Múrcia – Espanha e terem me ensinado detalhes da técnica de plastinação com epóxi. E também aos técnicos Mariano Martínez, Isabel López e Marina pela atenção dispendida e por terem me passado seus conhecimentos na área. Ao professor Carlos Baptista pelo aceite da participação na banca, por ter me recebido 2018 na University of Toledo e pela parceria de longa data nas nossas pesquisas.

Aos alunos do Laboratório de Plastinação: Marcos Vinícius Freitas, Renan Pavesi, Kiara Margarida, Lorryne Eugênia e Ester Patrício que me ajudaram nos experimentos e análises dos resultados. Ao restante da equipe do laboratório que me ajudou direta ou indiretamente.

Ao Ruam Salaroli pela ajuda nas análises estatísticas.

Agradeço aos Laboratórios do IFES/Vitória, de Petroleômica e Forense (Labpetro/Ufes) e de Processamento e Caracterização (LabPetro/Ufes) pela realização dos testes químicos e reológicos presentes nessa pesquisa.

À CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa concedida, e FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo), pelo apoio financeiro para o estágio internacional. E aos outros financiadores FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos) e o CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

RESUMO

A plastinação é uma técnica de preservação de tecidos biológicos, cujo princípio é a substituição dos fluidos corporais por um polímero curável. As classes de polímeros mais empregadas na plastinação são o silicone, as resinas poliéster e epóxi. O epóxi é utilizado em secções de 2 a 5 milímetros de espessura de tecidos biológicos ou segmentos anatômicos, sendo a resina alemã Biodur® E12 a mais conhecida e utilizada mundialmente. Existem poucos epóxios alternativos ao E12 para o uso na técnica. O objetivo do trabalho foi aplicar uma formulação de resina epóxi comercial com potencial alternativo ao E12 e seu sistema de cura no processo de plastinação de secções finas de tecidos biológicos. A metodologia foi dividida em prospecção da resina de comercialização nacional, adaptação da formulação, aplicação da formulação na plastinação de secções de ratos Wistar, caracterização da resina e avaliação dos espécimes finais. A partir de uma pesquisa de mercado, foi encontrado o epóxi E48 (marca sob sigilo) que preencheu os pré-requisitos iniciais para testagem e sua formulação foi alterada com a adição de um plastificante para uso na etapa de impregnação forçada. Um total de 200 secções transversais de rato Wistar foram plastinadas com os polímeros controle (E12) e teste (E48) em 4 repetições distintas. Os resultados da análise de retração não mostram diferenças estatísticas entre as resinas e, em geral, as imagens realizadas com o microscópio confocal apresentaram maior nitidez e contraste para as secções da formulação com o E48P (modificado com adição de plastificante). Referente à caracterização das resinas, na formulação E48P destaca-se uma viscosidade menor do que a E12, resultante da presença de 35% de plastificante em sua formulação. Além disso, apresentou uma maior flexibilidade, maior velocidade de amarelamento e menor índice de refração. A partir dos resultados da análise de retração, da microscopia confocal e estereoscópica e de caracterização físico-química, concluiu-se que o epóxi E48P é uma alternativa viável ao E12.

Palavras-Chave: epóxi; caracterização; resina alternativa; Biodur; plastificante.

ABSTRACT

Plastination is a technique for preserving biological tissues, the principle of which is the replacement of bodily fluids with a curable polymer. The polymer classes most commonly used in plastination are silicone and polyester and epoxy resins. Epoxy is utilized in 2- to 5-millimeter-thick sections of biological tissues or anatomical segments, with the German resin Biodur® E12 being the most well-known and globally used. There are few alternative epoxies to the reference one (E12) for use in the technique. The objective of this work was to apply a commercial epoxy resin formulation with potential as an alternative to E12 and its curing system in the plastination process of thin sections of biological tissues. The methodology was divided into prospecting for a nationally available resin, adapting the formulation, applying the formulation in the plastination of Wistar rat sections, characterizing the resin, and evaluating the final specimens. From a market search, the E48 epoxy (brand not disclosed) was found, which met the initial prerequisites for testing, and its formulation was altered with the addition of a plasticizer for use in the forced impregnation step. A total of 200 Wistar rat transverse sections were plastinated with the control (E12) and test (E48) polymers in 4 distinct replicates. The results of the shrinkage analysis show no statistical differences between the E12 and E48P resins (with plasticizer, developed in this research). In general, images taken with a confocal microscope showed greater sharpness and contrast for the sections of the E48P formulation. Regarding the characterization of the resins, the E48P formulation stands out for a much lower viscosity compared to the other epoxies tested, resulting from the presence of 35% of plasticizer in its formulation. Additionally, it showed greater flexibility, a faster yellowing rate, and a lower refractive index. Based on the results of the shrinkage analysis, confocal and stereoscopic microscopy, and characterization, it was concluded that the E48P epoxy is a viable alternative to E12.

Keywords: epoxy; characterization; alternative resin; Biodur; plasticizer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da resina DGEBA.....	28
Figura 2. Ilustração esquemática do mecanismo de reação de cura da polimerização epóxi-amina via polimerização de rearranjo.....	29
Figura 3. Processo de limpeza das fatias de rato recém-seccionadas com acetona resfriada (-25 °C) e pincel com cerdas macias.....	40
Figura 4. Secções imersas nas misturas reativas dentro da câmara de vácuo durante a impregnação forçada, evidenciando o borbulhamento da acetona volatilizada.....	42
Figura 5. Fatias de rato Wistar impregnadas com epóxi sendo posicionadas na montagem pelo método sanduiche para a cura.....	43
Figura 6. Medição da área (cm ²) do tecido cardíaco na face superior do corte, antes da impregnação forçada (A) e após a cura (B), pelo programa ImageJ. A demarcação amarela foi destacada para melhor visualização.....	44
Figura 7. Microscópio confocal de fluorescência ZEISS LSM 880 Airyscan.....	46
Figura 8. Sistema de análise reológica. (A) Reômetro rotacional, modelo RheolabQC, fabricado pela Anton Paar; (B) Vaso cilíndrico para conter a amostra a ser analisada no reômetro e (C) haste cilíndrica de metal responsável por gerar cisalhamento no fluido durante o teste reológico.....	47
Figura 9. Espectrômetro de IV AGILENT TECHNOLOGIES®, modelo Cary 630 FTIR utilizado para a caracterização dos epóxios E12 e E48 por espectroscopia no infravermelho.....	48
Figura 10. Equipamento NETZSCH Instrument STA 449 F3 Jupiter utilizado para as análises termogravimétricas.....	49
Figura 11. Refratômetro ABBÉ Kruss AR 2008, fabricante Kruss Scientific GMBH.....	50
Figura 12. Mini estúdio com fundo e iluminação padronizada para fotografia das placas de epóxi do teste de amarelamento.....	51
Figura 13. Dimensões dos corpos de prova de epóxi curado utilizados nos ensaios de tração. A = vista superior; B = vista lateral.....	52

Figura 14. Figura X. Variação do tempo de gel da resina E48 em função da proporção de endurecedor E5.....	55
Figura 15. Esquema da reação de cura de resina epóxi com endurecedores aminas.....	57
Figura 16. Etapa de desmontagem do sanduíche de cura do 1° teste com a resina de comercialização nacional, evidenciando a adesão de epóxi não curado nas folhas de acetato.....	16
Figura 17. Fatias de cabeça, tórax e abdome de ratos Wistar plastinados com o epóxi Biodur E12 e E48P (resina com 35% de plastificante).....	61
Figura 18. Antes (A) e depois (B) da plastinação de secções de abdome de rato Wistar com epóxi (E12).....	61
Figura 19. Secções de rato Wistar plastinadas com o epóxi E12 (A) e o E48P (B) sob leve tensionamento, evidenciando a maleabilidade do epóxi E48 com o plastificante.....	63
Figura 20. Secções impregnadas e curadas com a mistura reativa contendo o plastificante recém-curada (A) e após um mês de cura (B), evidenciando o amarelamento da resina epóxi.....	64
Figura 21. Secções transversais de tórax de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D) vistas em estereomicroscopia com aumento de 8x (A e C) e microscopia confocal (B e D) com aumento de 10x.....	70
Figura 22. Secções transversais de abdome de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D) vistas em estereomicroscopia (A e C) e microscopia confocal (B e D).....	71
Figura 23. Secções transversais de abdome de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D), contendo tecido intestinal, vistas em estereomicroscopia (A e C) e microscopia confocal (B e D).....	72
Figura 24. Imagens Z-stack de intestino de rato Wistar plastinado com o epóxi E12 (A) e E48 (B), evidenciando a profundidade das regiões analisadas em micrômetros (µm).....	74
Figura 25. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi Biodur E12.....	76
Figura 26. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi E48.....	77

Figura 27. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi E48P.....	77
Figura 28. Curva de viscosidade <i>versus</i> temperatura dos epóxios E12, E48 e E48P (proporção resina e endurecedor de 65:35, respectivamente), incluindo a equação da curva (y) e o coeficiente de determinação (R ²).....	79
Figura 29. Espectros de absorção no infravermelho dos endurecedores E1 e E5.....	81
Figura 30. Estrutura química do 2,2'-Dimetil-4,4'-metileno bis(ciclohexilamina) (DMMB-CHA), principal constituinte do E1.....	83
Figura 31. Espectros de absorção no infravermelho das resinas epóxi E12, E48 e E48P não curadas.....	84
Figura 32. Espectros de absorção no infravermelho das resinas epóxi E12, E48 e E48P curadas.....	85
Figura 33. Estrutura química da resina DGEBA.....	86
Figura 34. Ilustração esquemática do mecanismo de reação de cura da polimerização epóxi-amina.....	87
Figura 35. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E12 não curada e curada.....	88
Figura 36. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E48 não curada e curada.....	89
Figura 37. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E48P não curada e curada.....	90
Figura 38. Curva termogravimétrica do endurecedor E1.....	92
Figura 39. Curva termogravimétrica do endurecedor E5.....	92
Figura 40. Curva termogravimétrica da resina E12 não curada.....	94
Figura 41. Curva termogravimétrica da resina E48 não curada.....	94
Figura 42. Curva termogravimétrica da resina E12 curada.....	96
Figura 43. Curva termogravimétrica da resina E48 curada.....	96
Figura 44. Curvas termogravimétricas dos endurecedores E1 e E5 e das resinas E12 e E48 não curadas e curadas.....	98
Figura 45. Placas curadas do teste de amarelamento, evidenciando a ausência de “blush” na resina E12 (A) e presença de “blush” na superfície da placa de E48 (B).....	100

Figura 46. Amostras dos epóxis E12, E48 e E48P mantidas ao abrigo de radiação UV ao longo de 6 meses.....	101
Figura 47. Amostras dos epóxis E12, E48 e E48P mantidas à exposição direta (8 horas/dia) e indireta de radiação UV solar ao longo de 6 meses.....	102
Figura 48. Índices de amarelamento das amostras de resina epóxi sem exposição à radiação UV ao longo de 6 meses.....	103
Figura 49. Índices de amarelamento das amostras de resina epóxi expostas à radiação UV natural ao longo de 6 meses.....	103
Figura 50. Curva de Tensão <i>versus</i> Deformação das resinas curadas E12 e E48.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características básicas dos componentes E12 e E1 da Biodur® utilizadas como parâmetro para escolha da resina teste.....	36
Tabela 2. Amostragem seriada para o teste de tempo de gel da resina E48 e endurecedor E5 com as diferentes proporções de resina/plastificante e as concentrações de endurecedor utilizadas.....	38
Tabela 3. Grupos experimentais (E12 e E48), quantidade de amostras e proporções das misturas reativas de impregnação.....	41
Tabela 4. Características básicas das resinas e endurecedores da Biodur® e nacionais, obtidas das fichas técnicas dos produtos.....	53
Tabela 5. Primeiro Teste de Tempo de gel e de cura da resina E48 com diferentes proporções de endurecedor para o estabelecimento dos tempos de gel e cura completa.....	54
Tabela 6. Segundo Teste de Tempo de gel e de cura da resina E48 com diferentes proporções de endurecedor.....	55
Tabela 7. Teste de Tempo de gel e de cura da mistura resina E48 e o endurecedor E5 com diferentes proporções do plastificante (amostras 1 ao 6) e da mistura E12 e E1 conforme preconizado pelo fabricante Biodur (amostra 7).....	58
Tabela 8. Valores médios das áreas (cm ²) antes da impregnação (APre) e após a cura (APost), retração média percentual (RM) e desvio padrão da média (DPM) dos diferentes tecidos plastinados com E12 e E48P.....	67
Tabela 9. Valores médios das viscosidades dinâmicas (VD) (Pa.s) e os desvios-padrão (DP) dos epóxis E12 e E48 para cada temperatura pré-definida.....	78
Tabela 10. Principais bandas observadas nos espectros dos endurecedores E1 e E5, seus prováveis grupos químicos e modos vibracionais correspondentes.....	82
Tabela 11. Principais bandas observadas nos espectros das resinas epóxis E12, E48 e E48P, seus prováveis grupos químicos e modos vibracionais correspondentes.....	85
Tabela 12. Índices de refração médios e desvios-padrão das resinas não curadas.....	99
Tabela 13. Valores médios ± desvio-padrão das propriedades mecânicas analisadas das resinas E12 e E48.....	106

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DGEBA: Bisfenol A diglicidil éter

DMDC: 2,2'-Dimetil-4,4'-metilenobis(ciclohexilamina)

TA: temperatura ambiente

m/m: massa/massa

v/v: volume/volume

mPa.s: milipascal segundo

Pa.s: pascal segundo

DMM: distribuição de massa molar

FTIR-ATR: reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier

MIR: Infravermelho médio

IV: infravermelho

cm: centímetro

mL: mililitros

L: litros

TG: análise termogravimétrica

IR: índice de refração

°C: graus celsius

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	20
2.	REVISÃO BIBLIOGRAFICA	22
2.1.	O contexto das técnicas anatômicas	18
2.2.	A plastinação	24
2.3.	Pesquisas com secções plastinadas em epóxi	27
2.4.	Resina epóxi	29
2.5.	Caracterização de polímeros	33
3.	JUSTIFICATIVA	37
4.	OBJETIVOS	38
4.1.	Objetivo Geral	38
4.2.	Objetivos Específicos	38
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	39
5.1.	Prospecção do epóxi alternativo e verificação inicial	39
5.2.	Plastinação de tecidos biológicos com os epóxios e avaliação dos produtos finais	42
5.2.1.	Plastinação das amostras com o epóxi nacional	42
5.2.2.	Avaliação das secções finas com as resinas epóxi	46
5.2.3.	Análise de retração tecidual	47
5.2.4.	Análise Microscópica estereoscópica e confocal de fluorescência	48
5.3.	Análise das resinas e dos endurecedores	49
5.3.1.	Caracterização reológica	50
5.3.2.	Caracterização por Espectroscopia de Absorbância no Infravermelho	51
5.3.3.	Análise Termogravimétrica	52
5.3.4.	Índice de Refração	53
5.3.5.	Ensaio de Mudança de coloração das resinas curadas	54
5.3.6.	Ensaio de resistência à tração	56
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
6.1.	Prospecção do epóxi alternativo e verificação inicial	57
6.2.	Plastinação de tecidos biológicos com os epóxios e avaliação dos produtos finais	62
6.2.1.	Avaliação das secções finas com as resinas epóxi	62

6.2.2	Análise de retração tecidual.....	69
6.2.3.	Análise Microscópica estereoscópica e confocal de fluorescência.....	72
6.3.	Análise das resinas e dos endurecedores.....	78
6.3.1.	Caracterização reológica.....	78
6.3.2.	Caracterização por Espectroscopia de Absorbância no Infravermelho.....	84
6.3.3.	Análise Termogravimétrica.....	95
6.3.4.	Índice de Refração.....	103
6.3.5.	Ensaio de Mudança de coloração da resina curada.....	104
6.3.6.	Ensaio de resistência à Tração.....	109
7.	CONCLUSÃO.....	112
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	113

1. INTRODUÇÃO

A plastinação é uma técnica de preservação de tecidos biológicos, criada em 1977 pelo médico Gunther von Hagens, cujo princípio básico é a substituição dos fluidos corporais por um polímero reativo. Após a plastinação, os espécimes biológicos se mantêm inertes, sem toxicidade, secos, resistentes e duráveis, podendo ser utilizados em diversas áreas, como ensino, pesquisa e extensão (HORST et al., 2019).

As principais classes de polímeros utilizadas no processo são o silicone, o poliéster ou o epóxi (HENRY; LATORRE et al., 2007), sendo que as propriedades mecânicas e óticas do espécime final são determinadas pelo polímero de escolha (HORST et al., 2019). A resina epóxi é usada principalmente para secções de 2-5 milímetros de espessura de qualquer parte do corpo ou de tecido biológico, resultando em um espécime final mais rígido e semitransparente (SARGON; TATAR, 2014).

O componente principal das resinas epóxi utilizadas na plastinação é o éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA), obtido pela reação entre bisfenol A e epicloridrina. As resinas epóxi DGEBA tornam-se materiais termorrígidos por meio da reação de cura com várias classes de compostos químicos, sendo os compostos amínicos os mais comuns. As resinas epóxi possuem baixa contração volumétrica durante o processo de cura ou polimerização e tem boa resistência ao calor e aos ataques químicos (PHAM; MARKS, 2005).

As resinas epóxi comerciais mais utilizadas na plastinação são o E12 e o E13, ambas comercializadas pela empresa Biodur®, sendo o E12 mais utilizado devido a sua maior aplicabilidade e por ser um produto há mais tempo no mercado. Já o E13 possui uma resistência maior ao amarelamento da resina pós cura, segundo o fabricante. Estas resinas também possuem diferenças quanto às aplicações e características óticas e mecânicas.

A empresa alemã Biodur®, criada pelo inventor da plastinação, comercializa os polímeros mais utilizados e conhecidos para emprego na técnica. Estes produtos são de alta qualidade, foram especialmente desenvolvidos e testados para essa finalidade (WEBER et al., 2007) e, por isso, possuem um alto valor agregado. Na

América Latina, por exemplo, o preço das taxas aduaneiras e de frete pode duplicar ou triplicar o valor dos produtos comprados via importação da Alemanha.

Além da Biodur®, poucas empresas e laboratórios em nível global investigam o desenvolvimento de novos polímeros e resinas aplicáveis ao processo de plastinação. Uma maior variedade de insumos disponíveis para uso na técnica facilitaria e reduziria o custo de aquisição para os plastinadores ao redor do mundo. Além disso, o avanço de pesquisas na área poderia resultar em polímeros com diferentes características químicas, óticas e mecânicas, destinados a diferentes finalidades na plastinação (JUVENATO *et al.*, 2023).

Para que haja uma compreensão clara das aplicações, possibilidades e do comportamento dos polímeros na plastinação é importante o conhecimento químico, mecânico e reológico dos produtos empregados na técnica. Esse conhecimento possibilita a escolha ou o desenvolvimento de um polímero ou de uma resina com as características ideais para a produção de espécimes de qualidade alta e com um objetivo específico (MONTEIRO *et al.*, 2022). Entretanto, a literatura carece de trabalhos sobre caracterização dos polímeros utilizados na plastinação.

Sendo assim, uma investigação que avalie as características químicas, reológicas e mecânicas, bem como o emprego de uma resina epóxi com potencial alternativo ao de referência (Biodur® E12) na técnica de plastinação de fatias de tecidos biológicos (2-3 mm) poderá propor uma opção menos burocrática e mais barata na América Latina e outros países para a plastinação de fatias finas em epóxi. Adicionalmente, o epóxi alternativo pode apresentar características distintas do epóxi de referência, criando novas utilizações e proposições na técnica. Com isso, espera-se que os resultados encontrados promovam maior difusão da técnica no Brasil e nos países vizinhos, além de servir como um guia detalhado para pesquisadores que buscam novos epóxios em outras nacionalidades.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O Contexto das Técnicas Anatômicas

Seja movido pela fé, pela alimentação ou pelo conhecimento, desde os primórdios o homem busca meios de preservar tecidos biológicos. Remontando milhares de anos, a exsicação é o método de preservação mais antigo que se tem registro e se baseia na premissa de que a água é fundamental na proliferação de agentes decompositores. O simples fato de se diminuir a quantidade de água nos tecidos, com ou sem intencionalidade, mantendo-os em um ambiente muito seco, com boa ventilação e/ou quente já originou corpos com ótima preservação que perduraram até hoje (SAEED *et al.*, 2001). O povo Chinchorro, que viveu em regiões do Chile e Peru, produziu múmias a partir da desidratação de corpos com fogo ou cinzas quentes há mais de 7 mil anos (AUFDERHEIDE *et al.*, 1993). Já as múmias egípcias, as mais famosas e com métodos mais complexos, passavam por processos mais elaborados de secagem com utilização de sais ou calor, associado ao uso de algumas substâncias, há aproximadamente 5 mil anos (ABDEL-MAKSOUND; EL-AMIN, 2002). Durante este período, os povos persas, sírios e babilônios empregaram mel e cera para preservar tecidos humanos. Alexandre, “o Grande” teve seu corpo preservado em mel após sua morte na Babilônia em 323 d.C. (PATIL *et al.*, 2013). Ainda nos dias de hoje, inspirado no princípio do processo de mumificação, o conceito de desidratar espécimes em condições de baixa umidade e altas temperaturas, com adição opcional de substâncias para ajudar na preservação, é bastante aplicado em alguns órgãos, como pulmões, intestinos e estômagos inflados e secos ao ar (MARKARIAN, 1975).

Entre a era das mumificações e a Renascença (séculos XV e XVI) pouco se avançou nas técnicas de preservação. No século XVI, novos protocolos de embalsamamento foram desenvolvidos por motivos artísticos e de dissecação, como injeções vasculares de soluções contendo água quente, álcool, cera, tinta, mercúrio e/ou arsênico (TROMPETTE *et al.*, 2009; AJAYI *et al.*, 2011).

Durante a Guerra Civil Americana (ou Guerra da Secessão), de 1861 a 1865, emanou a necessidade de processos de embalsamamento eficazes para conservar os corpos dos soldados mortos nos campos de batalha para longos traslados até a

família. Embora já se conhecesse a toxicidade dos metais pesados, o arsênio e o mercúrio eram utilizados para manter a integridade tecidual dos cadáveres, adicionando-se também alguns sais e ácidos (MAYOR, 2000).

O maior avanço na preservação de tecidos biológicos ocorreu mediante o descobrimento acidental do formaldeído pelo russo Aleksandr Mikhaylovich Butlerov em 1859. Mas somente quatro anos depois, com o químico alemão August von Hofmann foi completamente elucidada a estrutura química e a via de síntese do formaldeído (DE PAULA *et al.*, 2018). Já para uso em tecidos biológicos, o primeiro a testar a capacidade fixadora do aldeído fórmico foi o pesquisador Ferdinand Blum em 1891, a partir da observação do enrugamento e da rigidez de seus dedos ao manipular a substância. Logo, os zoólogos e os anatomistas encontraram um método eficiente para conservar e fixar de espécimes anatômicos (VON HORST *et al.*, 2019). A formalina, solução aquosa comercial de formaldeído à 37%, é um bom fixador para análise macroscópica, cujo mecanismo é a formação de ligações cruzadas metilênicas entre aminoácidos. As ligações formadas enrijecem os tecidos biológicos e os estabilizam, evitando a autólise natural e, além disso, é um agente esterilizante e inibitório do crescimento de bactérias e fungos (BITTENCOURT; MONTEIRO, 2020). Porém, a principal desvantagem do formol é a sua alta toxicidade, uma vez que é reconhecidamente cancerígeno, teratogênico, irritante de mucosas e causador de dermatites de contato (TANG *et al.*, 2009).

No intervalo de tempo entre a descoberta e a aplicação do formol para fixação de tecidos, outra substância também foi utilizada pela primeira vez para a conservação de tecidos, a glicerina ou o glicerol. O químico Karl Wilhelm Sheele descobriu a glicerina em 1779, porém somente em 1884 o italiano Carlo Giacomini propôs sua utilização em peças anatômicas. O trabalho de Laskowski, publicado em 1886, mostrou a eficácia da combinação da glicerina com outras substâncias conservantes, como o álcool e o fenol, favorecendo o processamento de cadáveres e de espécimes de grande porte (RODRIGUES, 1998). Por isso, a técnica de glicerinação também é conhecida como método de Giacomini-Laskowski. A glicerinação promove a desidratação do espaço intersticial dos tecidos e cria uma barreira que evita a desidratação intracelular. Nesse sentido, a desidratação causada pela glicerina não altera a concentração iônica dentro das células, o que

mantém a integridade celular e reduz a antigenicidade dos tecidos conservados (SILVA *et al.*, 2011).

Depois do avanço proporcionado pela descoberta do formaldeído, séculos se passaram até que outra técnica de grande potencial fosse criada para preservar tecidos biológicos. No contexto da segunda metade do século XX, o avanço da tecnologia e as pesquisas voltadas ao desenvolvimento de novos materiais proporcionaram a criação e produção em larga escala de polímeros sintéticos transparentes, como os metacrilatos, as resinas de poliéster e os silicones (SÁ *et al.*, 2020). As pesquisas aplicadas com estes materiais resultaram em várias tentativas de incorporar espécimes anatômicos em blocos poliméricos transparentes para preservação, porém o tempo de cura dos polímeros e as dimensões dos espécimes eram fatores limitantes. A partir deste momento, as técnicas de incorporação desencadearam a invenção posterior da plastinação (VON HORST *et al.*, 2019).

2.2. Plastinação

A inspiração da plastinação surgiu quando o alemão Gunther von Hagens viu tecidos biológicos incluídos em blocos de polímeros e em parafina. Ele se perguntou o motivo de ser necessário que o polímero esteja ao redor do tecido e não no seu interior (VON HORST *et al.*, 2019). As primeiras tentativas de impregnação foram restritas a amostras muito pequenas utilizando-se o silicone, uma vez que os polímeros utilizados curavam em curto tempo, limitando a etapa de impregnação. Anos depois, com a criação da cura do silicone por meio da volatilização do reticulante TEOS (Tetraetil ortosilicato) foi possível ter um tempo de impregnação quase que ilimitado e, assim, processar espécimes maiores (WEIGLEIN; HENRY, 1993). A idealização da cura com o gás não foi realizada com base em considerações teóricas e testes planejados, mas pelo acaso. Um espécime impregnado e não curado, que seria submerso em um recipiente contendo o reticulante para cura, foi colocado perto de uma vidraria com o composto, em ambiente fechado. No dia seguinte, observou-se que o espécime estava curado apenas com o contato com o gás volatilizado (WHALLEY, 2007).

Desde a sua criação, a plastinação passou por aprimoramentos a fim de facilitar a técnica e melhorar a qualidade final dos produtos (WHALLEY, 2007). Novas resinas também foram incorporadas para aplicação na técnica de secções finas, como o epóxi e poliéster. Mundialmente, os produtos e insumos mais utilizados na plastinação são vendidos pela Biodur®. Trata-se de uma empresa alemã, especializada e pioneira na área da plastinação, fundada pelo inventor da técnica (PASHAEI, 2010). A Biodur® comercializa polímeros de alta qualidade, desenvolvidos e amplamente testados especificamente para a técnica, o que lhes confere alto valor agregado. Além disso, o câmbio do euro, as taxas alfandegárias e os valores de frete encarecem significativamente os insumos, principalmente para os países da América Latina.

Ao longo dos anos, as resinas, polímeros e agentes de cura oferecidos pela Biodur® foram substituídos ou aprimorados por meio da troca de compostos ou inclusão de aditivos, o que melhorou a estabilidade das formulações e também as características dos produtos finais. Os polímeros comercializados atualmente pela Biodur® são os silicones com diferentes viscosidades (S10, S15 e S49), o poliéster P40, com cura fotoquímica, e os epóxis E12 e E13. O E12, com média viscosidade e mais flexível quando curado, e o E13, que pode ser usado em impregnações mais longas e com menor tendência ao amarelamento pós-cura. Para ambos os epóxis existem algumas combinações com diferentes endurecedores e aceleradores que permitem determinadas aplicações, como no caso de análises histológicas ou para produção de cortes ultrafinos (<1 mm) (BIODUR, 2022). Embora sejam amplamente utilizados nos laboratórios de plastinação ao redor do mundo, poucas pesquisas foram realizadas sobre as formulações dos polímeros e dos agentes de cura da Biodur e suas características físico-químicas, reológicas, térmicas e mecânicas. Pesquisas de caracterização como estas podem ajudar a elucidar os componentes das formulações dos insumos e, assim, estimular e servir de ponto de partida para o desenvolvimento ou melhoramento de novos polímeros e resinas alternativas, com características e aplicações diferentes das já existentes.

Nos moldes atuais, a técnica pode ser dividida, de forma didática, em quatro etapas básicas: fixação em formalina a 10% para estabilização dos tecidos biológicos, desidratação em acetona para retirada dos fluidos corporais,

impregnação forçada do polímero ou resina de escolha por meio de vácuo e, por fim, cura química ou fotoquímica do polímero (HENRY *et al.*, 2019).

O silicone, por exemplo, produz espécimes mais realistas, flexíveis e opacos, podendo ser utilizado para cadáveres inteiros, órgãos ou fatias de tecidos biológicos mais grossas (>1 centímetro de espessura). O poliéster é rotineiramente utilizado para preservação de fatias encefálicas, com espessura de 2-5 mm, uma vez que permite maior distinção entre as substâncias branca e cinzenta, dando origem a espécimes inflexíveis e de baixa transparência. Já o epóxi pode ser utilizado para a produção de secções de qualquer parte do corpo, segmento anatômico ou órgão (BARNETT, 1997; WEIGLEIN, 1997).

A plastinação de fatias finas de tecidos biológicos com os polímeros epóxi ou poliéster é conhecida como “sheet plastination” (ou plastinação em fatias, tradução livre). A principal diferença metodológica entre a plastinação com o silicone e o “sheet plastination” é o processo de seccionamento das fatias com auxílio de uma serra para espécimes com ossos ou de uma fatiadora de frios para tecidos moles. Comparativamente, o processo de plastinação com epóxi Biodur E12 requer mais atenção e experiência do plastinador do que a técnica com poliéster P40. Com o epóxi, as etapas de impregnação forçada e cura devem ocorrer num espaço de tempo reduzido (até 12-24 horas), uma vez que a mistura reativa de impregnação é composta pela resina e endurecedor, o que limita o tempo de trabalho até se atingir o estado de gel. Já a cura do poliéster se dá somente com exposição à radiação UV, permitindo um maior tempo de impregnação e cura (24-48 horas) em ambientes com controle de incidência de luz (JUVENATO *et al.*, 2023; LATORRE *et al.*, 2019; OTTONE *et al.*, 2017). Secções biológicas podem ser plastinadas com epóxi sem a necessidade de fixação química prévia para uma melhor manutenção da cor, o que não é possível com a resina poliéster. Uma característica importante que diferencia as secções plastinadas em epóxi e poliéster é o aspecto ótico/visual dos tecidos: os espécimes impregnados com epóxi adquirem uma semitransparência, enquanto o poliéster mantém os tecidos opacos. Além disso, as placas de epóxi tendem a amarelar ao longo de meses, diferentemente do poliéster que permanece visualmente inalterado por anos.

Como já descrito, embora a plastinação com poliéster possa ser realizada com cortes de qualquer tecido biológico ou parte do corpo, sua principal utilização

é com sistema nervoso. A principal limitação da plastinação com poliéster é a alta retração causada em sua cura química (com adição de um iniciador químico) ou fotoquímica (com aplicação de radiação UV), e que, por conseguinte, impossibilita obtenção de resultados precisos em alguns estudos de morfometria e análises microscópicas quantitativas (BAPTISTA *et al.*, 2019; JUVENATO *et al.*, 2023). Para as aplicações em estudos descritivos e quantitativos, recomenda-se o uso de espécimes plastinados com resina epóxi.

A técnica de epóxi tem suas principais aplicações nos campos de ensino e pesquisa. Para fins de ensino, principalmente no estudo de anatomia seccional, espécimes duráveis de variedade e qualidade não possíveis com outras técnicas de preservação podem ser produzidos (RIEDERER, 2014). Além disso, os espécimes são úteis em programas de treinamento preparatório (tomografia computadorizada e ressonância magnética), proporcionando, do aluno ao especialista, uma compreensão mais clara das estruturas anatômicas devido ao conhecimento mais profundo da anatomia por meio de seções em termos de reconhecimento morfológico e diagnóstico clínico. Na pesquisa, a técnica de plastinação em fatias mantém o arranjo de todos os componentes do tecido a ser estudado, em seu contexto original. Isso é de grande interesse, por exemplo, em pesquisas de descrição seccional, exames de imagem, reconstrução digital 3D e análise histológica quantitativa e qualitativa em relação aos padrões de diferentes tecidos biológicos, como o vascular, muscular e conjuntivo (OTTONE *et al.*, 2017).

2.3. Pesquisas com seções plastinadas em epóxi

O emprego da plastinação com resina epóxi como ferramenta em pesquisas científicas vem crescendo e atraindo a atenção nos últimos anos. De 1979, ano em que von Hagens publicou o primeiro artigo divulgando a técnica de plastinação, até maio de 2023, foram encontrados 470 artigos sobre plastinação na plataforma PubMed. Neste sentido, a técnica mais utilizada nestes artigos foi a plastinação com resina epóxi (E12), método muito útil para a pesquisa, graças aos benefícios que confere ao material preservado: transparência, contração praticamente nula e possibilidade de visualizar claramente trajetos de artérias, veias, nervos, músculos,

ligamentos e todo tipo de estruturas anatômicas, sem a necessidade de descalcificação (OTTONE, 2024).

Segundo Sora (2019), tecidos impregnados com epóxi mostraram-se adequados para estudos com análises morfométricas e histológicas quantitativas. Adicionalmente, a topografia das estruturas anatômicas geralmente não é alterada e a eliminação de lipídios pelo solvente acetona melhora a identificação de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e nervos. Os métodos de coloração com corantes histológicos seletivos são passíveis de serem realizados e permitem uma melhor diferenciação de estruturas, com aplicação tanto em fatias já plastinadas quanto em fatias a serem plastinadas (STEINKE, RABI, & SAITO, 2008).

A plastinação com epóxi também é uma ótima ferramenta para descrições anatômicas e de reconstrução 3D. A precisão dessas reconstruções é comparável às obtidas de imagens de Tomografia Computadorizada ou Ressonância Magnética e é caracterizado por: (a) permitir que todas as estruturas possam ser representadas individualmente ou em conjunto e giradas em qualquer plano, (b) permitir a medição de diâmetros e ângulos de qualquer estrutura e (c) permitir que os dados morfométricos sejam extrapolados diretamente para possíveis conclusões clínicas e cirúrgicas (SORA *et al.*, 2019; BHATTARAI; STAAT, 2018; XU *et al.*, 2018).

Além da menor retração tecidual promovida, em comparação à técnica de poliéster, a plastinação com epóxi exibe outras vantagens importantes, como um melhor índice de refração, o que a torna a técnica de escolha para estudar diferentes tecidos em diferentes planos de corte à níveis macroscópicos e microscópicos. Sabe-se que um dos fatores preponderantes para a semitransparência das fatias plastinadas com epóxi é a maior proximidade do índice de refração da resina E12 (1.54-1.55 em média geral) (Biodur, 2018) com os dos tecidos biológicos humanos, em detrimento ao da resina poliéster (<1.49) e ao do silicone (1.40) (HEGEDUS *et al.*, 2017; MARKS *et al.*, 2008).

A combinação de secções plastinadas em epóxi e a microscopia confocal de fluorescência tem sido cada vez mais aplicada em trabalhos de investigação de estruturas formadas por tecido conjuntivo, como fâscias, ligamentos e tendões. As pesquisas englobam as descrições anatômicas de tecidos típicos e de diagnóstico clínicos de patologias. O tecido conjuntivo possui autofluorescência no

comprimento de onda de 488 nm, principalmente por causa do colágeno e da elastina (PHILLIPS *et al.*, 2002). Ademais, pode-se utilizar fluorocromos para produzir a imagem fluorescente de uma estrutura específica, que é detectada eletronicamente.

Embora a técnica padrão de plastinação com epóxi (E12) seja amplamente estabelecida e conhecida, há limitações à sua aplicação em pesquisa: o fatiamento, precedido pelo congelamento, é limitado a cortes com uma espessura em milímetros (FASEL, MOHLER, & LEHMANN, 1988). Fatias plastinadas feitas com espessura de um milímetro mostram artefatos ou deslocamentos da própria preparação, se estes possuem uma topografia particularmente complexa ou frágil. Tentativas para cortar materiais muito duros, como osso compacto, frequentemente provocam desvios da lâmina da serra de corte, e assim, muitas das vezes, resulta em fatias que não são completamente paralelas. Amostras que contêm materiais ainda mais duros, como dentes ou mesmo metais, não são adequados para corte com serra fitas convencionais após congelamento, precisando ser removidos para adequado processamento ou seccionados com uma lâmina diamantada (OTTONE, 2024).

Embora a plastinação com epóxi como ferramenta de ensino e pesquisa esteja bem estabelecida na literatura, existem poucas pesquisas de caracterização das resinas epóxi utilizadas na técnica.

2.3. Resina Epóxi

Por definição, as resinas epóxi referem-se apenas a monômeros ou oligômeros não reticulados que contêm grupamentos epóxido. Mas, na prática, o termo resina epóxi é também usado para incluir sistemas epóxi curados. O epóxido, também denominado grupo oxirano, é considerado como a unidade representativa do polímero epóxi e a maioria das resinas epóxi disponíveis no comércio são oligômeros de éter diglicidílico de bisfenol A (DGEBA) (PASCAULT; WILLIAMS, 2010) (Figura 1), incluindo os utilizados na técnica de plastinação.

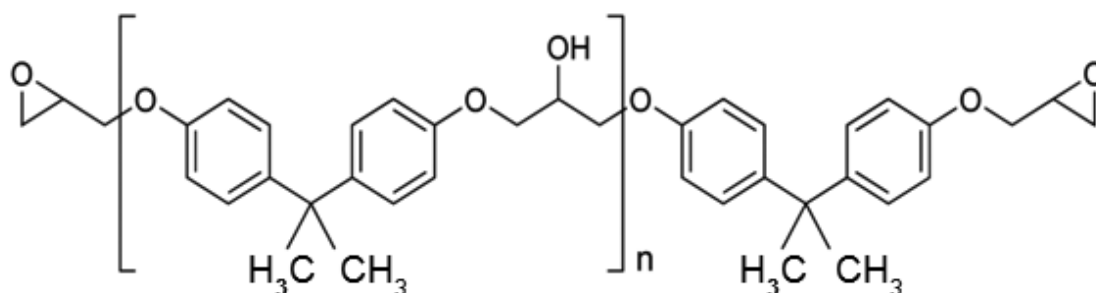


Figura 1. Estrutura química da resina DGEBA.

Fonte: JILANI *et al.*, 2015.

Os epóxis são uma das classes mais versáteis de polímeros, com diversas aplicações, como revestimentos de diversos materiais, primer automotivo, circuito impresso de placas, encapsulantes de semicondutores, adesivos e compósitos aeroespaciais. Resinas epóxi curadas são termofixos amorfos com excelente resistência mecânica e tenacidade, grande resistência química à umidade e à corrosão, boas propriedades térmicas, adesivas e elétricas, sem emissão de voláteis, baixo retração na cura e estabilidade dimensional (PHAM; MARKS, 2005; MITTAL *et al.*, 2016).

Os compostos que contêm funções químicas que reagem com os grupos epóxi da resina levando ao seu endurecimento são denominados agentes de cura ou endurecedores. O epóxi geralmente requer maior proporção de agente de cura na mistura resina e endurecedor (1:1 ou 2:1, respectivamente), em comparação com resinas de poliéster insaturado ou éster vinílico, onde a resina é curada com uma concentração bem menor (1–3%) do agente de cura. Catalisadores podem ser adicionados de forma facultativa para acelerar a reação da resina epóxi com o agente de cura ou promover tais reações em condições de temperaturas mais baixas (LICARI; SWANSON, 2011). Após o processo de cura, a resina não pode mais ser remoldada pelo calor, caracterizando-a como um polímero termofixo. A condição necessária para gerar um polímero termofixo é que um ou mais dos monômeros devem possuir três ou mais grupos reativos por molécula, produzindo uma estrutura reticulada tridimensional que ocupa todo o volume de reação (RAQUEZ *et al.*, 2010).

As resinas epóxi contêm dois grupos funcionais quimicamente reativos: epóxido e hidroxila. Resinas epóxi líquidas, de baixa massa molar, são

consideradas monômeros ou pré-polímeros bifuncionais e são curadas principalmente por meio do grupo epóxi. No entanto, conforme a massa molar das resinas epóxi sólidas aumenta, o conteúdo de epóxido diminui e a quantidade de grupos hidroxila aumenta. A reação de cura envolve a abertura do anel oxirano e a formação de ligações C-O, formando cadeias mais longas e lineares (Figura 2). Tais reações permitem a extensão da cadeia e/ou reticulação ocorrer sem a eliminação de moléculas pequenas, como a água. Sendo assim, estes materiais reagem por um tipo de reação de polimerização de rearranjo, o que resulta em uma contração na cura menor quando comparado com outros tipos de plásticos termofixos. Esta característica é responsável pela baixa contração e boa estabilidade dimensional dos epóxidos curados. Já a cura por policondensação via grupos hidroxila, que normalmente ocorre a partir da adição de ácidos ou anidridos ácidos, é normalmente seguida pela formação de subprodutos voláteis, como água ou álcool, demandando aquecimento para a cura adequada e remoção dos voláteis (PHAM; MARKS, 2005; BRYDSON, 1999).

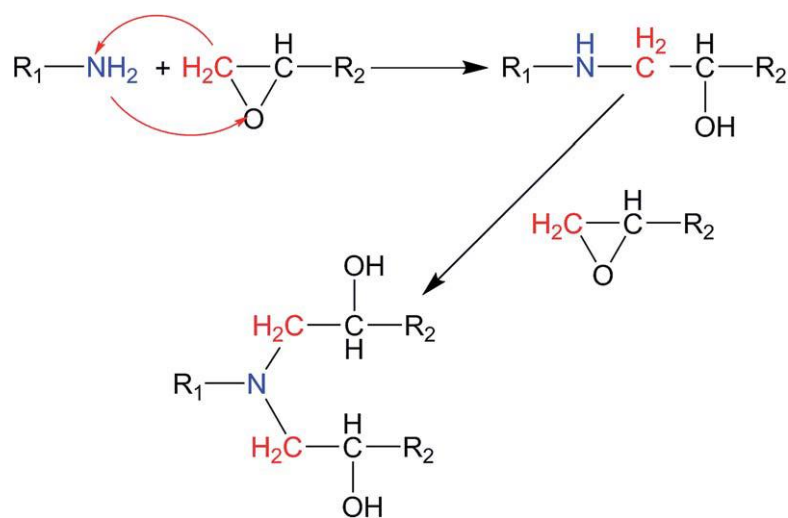


Figura 2. Ilustração esquemática do mecanismo de reação de cura da polimerização epóxi-amina via polimerização de rearranjo.

Fonte: Li *et al.*, 2016.

Além das escolhas de resinas epóxi e agentes de cura, a proporção estequiométrica de epóxi/agente de cura é outro fator que tem efeitos significativos na estrutura e desempenho da rede polimérica. Teoricamente, uma estrutura de

polímero termofixo reticulado é obtida quando quantidades equimolares de resina e endurecedor são combinadas. No entanto, em aplicações práticas, as formulações de epóxi e suas proporções são otimizadas para melhorar o desempenho, em detrimento de curas estequiométricas (PHAM; MARKS, 2005; FOUCHAL *et al.*, 2006).

Em sistemas de cura de epóxi com aminas primárias e secundárias, normalmente o endurecedor é usado em proporção próxima à estequiométrica. Como a amina terciária formada na reação tem um efeito catalítico em reações de epóxi com álcoois secundários coproduzidos, um pouco menos do que as quantidades teóricas devem ser usadas. No entanto, se muito menos do que a quantidade estequiométrica de amina for usada, a resina epóxi não curará completamente. Por outro lado, o uso de excesso de amina resultará em extremidades de cadeia com grupamentos amina não reagida e reticulação reduzida, produzindo um polímero mais suscetível a ataques por umidade e produtos químicos (BRYDSON, 1999; LI *et al.*, 2016).

A “cristalização” da resina líquida e o amarelamento progressivo da resina curada são características importantes dessa classe de polímeros. A resina diglicidil éter de bisfenol A tem uma tendência natural para formar cristais (solidificar), particularmente em temperaturas muito baixas ou em contaminações com corpos estranhos (DWYER *et al.*, 2024). Por isso, a temperatura da mistura de impregnação deve ser monitorada durante a plastinação, evitando-se que diminua de 0 °C. Porém, a cristalização ocasional pode ser revertida em temperaturas superiores a 42 °C, sem que haja perda das propriedades da resina. Já o amarelamento é inevitável, progressivo e lento, a depender do mecanismo de degradação, podendo ser causado pela exposição prolongada à água ou umidade, fotooxidação, termodegradação ou excesso de endurecedor (KRAUKLIS; ECHTERMEYER, 2018).

Vale ressaltar que a composição e características de uma resina epóxi comercial podem variar para cada fornecedor, por exemplo, no principal constituinte da resina e seus grupos funcionais, na presença e proporção de diluentes/aditivos, na viscosidade ou no agente de cura. As fichas técnicas disponibilizadas pelos fabricantes podem não ser suficientes para elucidar informações mais

aprofundadas sobre os polímeros, sendo necessário recorrer às análises de caracterização físico-químicas, mecânica, térmica, ótica e reológica.

2.4. Caracterização de polímeros

A caracterização de resinas comerciais, como a epóxi, é fundamental devido às variações em sua composição e pureza, muitas vezes não especificadas integralmente nas fichas técnicas. A análise dessas resinas é essencial para elucidar as suas propriedades físico-químicas, térmicas e reológicas, que estão intrinsecamente ligadas à sua estrutura e desempenho final (ZARBIN, 2007). Para isso, empregam-se diversas técnicas analíticas, como a espectroscopia no infravermelho para a caracterização química, a termogravimetria para avaliação da estabilidade térmica, ensaios de tração para avaliação das propriedades mecânicas e a reometria rotacional para a avaliação do comportamento reológico. Os resultados dessas análises permitem uma compreensão mais aprofundada da estrutura molecular e dos grupamentos químicos presentes, fornecendo dados cruciais para a aplicação e processamento desses materiais.

A técnica de espectroscopia no infravermelho (IV) é amplamente utilizada para a caracterização de materiais, pois explora a absorção de radiação infravermelha por ligações químicas. Cada grupo funcional em uma molécula absorve a radiação em uma faixa de frequência específica, o que permite a identificação desses grupos e a elucidação da estrutura molecular. Essa capacidade de correlacionar espectros de absorção com a estrutura química torna a espectroscopia IV uma ferramenta útil para a identificação de compostos e para o acompanhamento de modificações estruturais em moléculas durante reações químicas (NG; SIMMONS, 1999).

A radiação infravermelha abrange uma seção do espectro eletromagnético com números de onda de aproximadamente 13.000 a 10 cm^{-1} ou comprimentos de onda de $0,78$ a $1.000\text{ }\mu\text{m}$. A região do infravermelho é comumente dividida em três áreas menores: infravermelho próximo, infravermelho médio e infravermelho distante, compreendendo os comprimentos de onda de 12.500 a 4000 , 4000 a 400 e menores que 400 cm^{-1} , respectivamente. As informações de absorção de infravermelho medidas por espectroscopia são geralmente apresentadas na forma

de um espectro (gráfico) com comprimento de onda ou número de onda como eixo X e intensidade de absorção ou porcentagem de transmitância como eixo Y (HSU, 1997).

A análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR) tem grande importância na identificação e caracterização de substâncias e apresenta vantagens como não ser destrutiva e não necessitar de um preparo prévio da amostra (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1991). A espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier opera com o interferômetro de Michelson, no qual o equipamento promove a manipulação da energia emitida da fonte até o divisor de feixe que separa o feixe em duas porções perpendiculares, uma refletida e outra transmitida. Então, as duas porções são direcionadas a dois espelhos e, após serem refletidos novamente, esses dois feixes encontram-se construtivamente e passam pela amostra. Com isso, a amostra absorve comprimentos de onda específicos e o que é transmitido será detectado pelo aparelho, fornecendo o sinal em forma de banda no interferograma (um espectro de domínio de tempo exibindo intensidade *versus* tempo dentro da varredura do espelho). Em vez de visualizar cada frequência sequencialmente, como em um espectrômetro IR dispersivo, todas as frequências são examinadas simultaneamente na espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (GOMES, 2015). O interferograma contém informações sobre toda a região de IR à qual o detector é responsivo e, com uma operação matemática conhecida como transformação de Fourier, o interferograma é convertido no espectro de IV final (HSU, 1997).

Reologia é a ciência que estuda a deformação e o escoamento ou fluxo da matéria, ou seja, o comportamento dos materiais frente a uma tensão ou deformação aplicada. Na reologia há uma técnica experimental chamada reometria, que estuda as propriedades reológicas de um fluido e mede o seu escoamento, sendo de extrema importância nos processos de controle de qualidade e na modelagem de processos industriais (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989). As propriedades reológicas são encontradas em todos os materiais e seus estados: gases, líquido e sólidos (TONELI; MURR; PARK, 2004). Os equipamentos mais usados na reometria são os viscosímetros capilares e os reômetros. O reômetro rotacional funciona, simplificadamente, pelo princípio da resistência que o líquido

analisado produz quando cisalhado por uma haste móvel rotacional do equipamento, sendo a viscosidade uma das propriedades mais importantes estudadas na reologia (SHIROMA, 2012).

A viscosidade é uma propriedade dos líquidos que descreve a sua resistência ao fluxo. Quanto mais viscoso for um líquido, maior é a dificuldade desse líquido fluir ou escorrer. Um dos principais fatores externos que influenciam a viscosidade, por exemplo, de um polímero, é a temperatura (SZEWCZAK; SZELAG, 2019; ROBERTS *et al.*, 2017; OLIVEIRA; BARROS; ROSSI, 2009; BIRESAW; CARRIERE; SAMMLER, 2003), uma vez que a viscosidade é diretamente proporcional ao atrito interno originado da força de atração das próprias moléculas do composto. Sendo assim, com o aumento da temperatura, há também o aumento das distâncias intermoleculares, causado pela maior energia cinética (provocada pelo aquecimento), reduzindo as forças de atração e, por consequência, o atrito será menor, permitindo um escoamento mais rápido. A diminuição da temperatura promove o contrário (WILHELM; STRAUS; KRONSEDER, 2020). Além disso, fatores moleculares também são importantes para determinar a viscosidade, tais como grau de polimerização, grupos laterais da molécula, distribuição da massa molar, dentre outros. Em geral, quanto maior a cadeia de um polímero, mais interações intermoleculares são existentes e, conseqüentemente, maior a viscosidade (CHEN; LI, 2006).

A Análise Termogravimétrica (TG) é uma técnica de análise térmica que monitora a variação de massa de uma amostra em função da temperatura ou do tempo. O processo ocorre sob uma atmosfera controlada e em um gradiente de temperatura, permitindo avaliar a estabilidade térmica do material e a composição em etapas de decomposição. A partir da derivada da curva de TG em relação ao tempo (dm/dt) é obtida a Termogravimetria Derivada (DTG), o que ressalta os pontos de máxima velocidade de perda de massa. A curva de DTG é particularmente útil para a separação de eventos de decomposição que ocorrem em faixas de temperatura próximas (BOTTOM, 2008).

O equipamento da análise termogravimétrica é composto basicamente por uma balança de alta precisão e um forno. O equipamento pode sofrer alterações de configuração de um fabricante para outro, mas os fundamentos básicos são sempre os mesmos. Durante a análise, a amostra permanece em uma atmosfera

com um gás de purga, e este pode ser inerte ou reativo, a depender da análise a ser realizada. O gráfico resultante da massa ou do percentual da massa em função do tempo é chamado de termograma ou curva de decomposição térmica (SAADATKHAH *et al.*, 2019).

A TG pode ser usada principalmente para investigar a estabilidade térmica (a resistência do material a uma determinada temperatura), a estabilidade oxidativa (a taxa de absorção de oxigênio no material), bem como as propriedades composicionais (por exemplo, cargas, resina polimérica, solventes) das amostras. Além disso, o ganho ou a perda de massa das amostras poliméricas corresponde a diferentes fatores. Geralmente, o ganho de peso é atribuído à adsorção ou oxidação, enquanto a perda de peso é atribuída à decomposição, dessorção, desidratação, dessolvatação ou volatilização. É especialmente útil para o estudo de materiais poliméricos, incluindo termoplásticos, termofixos, elastômeros, compósitos, filmes, fibras, revestimentos e tintas. As medições de TG fornecem informações valiosas que podem ser usadas para selecionar materiais para determinadas aplicações de uso final, prever o desempenho do produto e melhorar a qualidade do produto (PRIME *et al.*, 2008).

Os ensaios mecânicos são vastamente empregados nos estudos de polímeros e avaliam a resistência, deformabilidade e comportamento mecânico de diferentes tipos de polímeros sob diversas condições de carga. Existem vários tipos de ensaios para caracterizar as propriedades mecânicas de polímeros. Nesse sentido, o ensaio de tração é um dos mais utilizados, no qual uma amostra de dimensões padronizadas é submetida a uma carga uniaxial progressiva até a ruptura. Os dados de tensão e deformação são registrados, permitindo determinar propriedades como: tensão máxima (limite de resistência à tração), módulo de elasticidade (rigidez), tensão de escoamento (valor de tensão no qual o material começa a se deformar de forma permanente e irreversível) e alongamento na ruptura (ductilidade).

3. JUSTIFICATIVA

A técnica de plastinação representa um avanço no campo da Anatomia e das Ciências Biológicas, provendo espécimes biológicos duráveis, seguros e realísticos para o ensino e a pesquisa. Contudo, a efetivação e a expansão global desta metodologia enfrentam um obstáculo de natureza econômica e logística: a dependência quase exclusiva dos polímeros de referência da empresa alemã Biodur®. Tais insumos, de alta qualidade e especificamente desenvolvidos para a técnica, apresentam um valor agregado substancial, que é dramaticamente majorado por taxas aduaneiras e custos de frete, podendo duplicar ou triplicar o preço final, particularmente na América Latina.

A dependência quase exclusiva de um único fornecedor global impõe uma restrição de acesso à tecnologia, sendo um empecilho na democratização da plastinação em países com recursos limitados ou instituições com uma burocrática estrutura de importação. Paralelamente, constata-se uma lacuna na literatura científica quanto à caracterização físico-química detalhada dos polímeros empregados. A carência de estudos sobre as propriedades químicas, reológicas e mecânicas dos insumos atuais impede tanto a otimização e aperfeiçoamento da técnica quanto o desenvolvimento racional de materiais alternativos.

Diante deste cenário, a presente tese de doutorado se justifica pela proposição de uma solução técnica e economicamente viável. A investigação proposta visa a avaliação detalhada de um potencial polímero epóxi alternativo, em contraposição ao Biodur® E12, para a plastinação de fatias finas de tecidos biológicos (2-3 mm). O estudo também focou na caracterização química, reológica e mecânica do material alternativo, estabelecendo um perfil comparativo com o padrão de referência.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAL

Aplicar uma formulação de resina epóxi nacional e seu sistema de cura no processo de plastinação como potencial alternativo ao Biodur E12, o epóxi de referência mundial para a plastinação.

4.2. ESPECÍFICOS

- Prospectar no mercado nacional uma nova resina e seus componentes de cura com potencial de aplicação na técnica de plastinação;
- Modificar as formulações dos produtos encontrados para adequação à plastinação;
- Identificar a estrutura química do polímero de referência (E12) e do novo polímero por meio da espectroscopia no Infravermelho;
- Identificar a estrutura química dos compostos presentes nos sistemas de cura da resina controle (E1) e do alternativo por meio da espectroscopia no Infravermelho;
- Avaliar a viscosidade dos polímeros a serem testados;
- Avaliar as temperaturas de degradação térmica dos insumos de referência e alternativos;
- Avaliar comparativamente as características mecânicas (resistência à tração axial) dos polímeros curados;
- Mensurar comparativamente o grau de amarelamento do epóxi de referência e o alternativo ao longo de 6 meses;
- Desenvolver um protocolo de impregnação forçada e cura específico para a nova resina para aplicação na plastinação;
- Avaliar, de forma comparativa e visual, as fatias produzidas com as resinas de referência e alternativa e mensurar a retração média por diferença de área dos diferentes tecidos biológicos presentes nas fatias produzidas;
- Avaliar a arquitetura dos tecidos plastinados com as resinas.

5. MATERIAS E MÉTODOS

Com intuito de facilitar a descrição da pesquisa, dividiu-se os materiais e métodos em três etapas: 1) Prospecção de uma resina epóxi de fabricação ou distribuição nacional compatível com a de referência (Biodur® E12) para uso na plastinação; 2) Aplicação das resinas na plastinação de tecidos biológicos e avaliação dos produtos finais produzidos; 3) Caracterização estrutural química, das propriedades reológicas e mecânicas dos epóxios E12 (resina de referência), o novo epóxi (resina teste) e os componentes de cura das resinas.

5.1. PROSPECÇÃO DO EPÓXI ALTERNATIVO E VERIFICAÇÃO INICIAL

Inicialmente foi prospectado no mercado nacional de polímeros uma resina epóxi e seu agente de cura com características físico-químicas e reacionais compatíveis com a aplicação na plastinação de cortes finos (2-3 mm) plastinados, tendo como referência os produtos da Biodur® (resina E12 e endurecedor E1). Para avaliação das características iniciais foram analisados os componentes químicos a partir de suas fichas técnicas, sendo os principais parâmetros observados: o componente principal, a transparência, a proporção resina/endurecedor sugerida para a cura, o tempo de gel e a viscosidade, conforme observado na Tabela 1.

Tabela 1. Características básicas dos componentes E12 e E1 da Biodur® utilizadas como parâmetro para escolha da resina teste.

Característica avaliada	Produtos Analisados	
	Epóxi E12	Endurecedor E1
Componente principal	Bisfenol A – epicloridrina	2,2'-Dimetil-4,4'-metilenobis(ciclohexilamina)
Aparência	Líquido incolor viscoso	Líquido incolor
Viscosidade (25 °C)	3000 – 4000 mPa.s	140 - 150 mPa.s
Proporção resina/endurecedor	100:28	
Tempo de gel (20 °C)	Aproximadamente 16 horas	

Fonte: Do próprio autor, com adaptação da ficha técnica dos produtos.

A partir da verificação das características descritas na Tabela 1 foi realizada a aquisição de uma resina de comercialização nacional que mais se assemelhou com os produtos de referência, a resina e o endurecedor designados, respectivamente, como E48 e E5. O nome comercial real e o fabricante da E48 e E5 foram mantidos em sigilo para efeito de registro de patente.

Por conseguinte, foi testado o tempo de gel e cura em função da concentração de endurecedor para a resina nacional. Este teste foi fundamental, uma vez que após a adição do endurecedor da resina, é necessário um tempo superior a 10-12 horas de trabalho para permitir a impregnação das amostras antes que a mistura entre em estado de gel (WEGMANN *et al.*, 2012; OTTONE *et al.*, 2017).

O teste de análise do tempo de gel e de cura foi seriado, utilizando-se 5 concentrações do endurecedor em relação à resina nacional: 43; 21,50; 10,75; 5,37 e 2,68% m/m. A concentração de 43% é a preconizada pelo fabricante dos insumos nacionais para a cura do E48. Diante dos resultados obtidos na primeira bateria de testes, verificaram-se também as concentrações 18,85; 16,15 e 13,45% m/m, intermediárias às concentrações já realizadas de 21,5 e 10,75%, totalizando 8 formulações. Para isso, foram separadas massas de 40 gramas da resina E48 e adicionada a quantidade correspondente do endurecedor E5. Após isso, utilizou-se um bastão de vidro para homogeneizar cada mistura durante um minuto e cronometrou-se o tempo necessário para que a resina entrasse em ponto de gel e para que curasse por completo. O ponto de gel foi verificado a partir do momento em que a mistura não escorria mais do bastão de vidro quando retirado da formulação e o ponto de cura quando a mistura se tornou completamente rígida e sem aderência no toque e na parede do recipiente. Seguindo este mesmo protocolo experimental, para a resina E12 foi medido o tempo de gel e de cura com a proporção preconizada pelo fabricante para uso na plastinação, que é de 100:28. Todos os testes de estado de gel/cura das resinas foram realizados em duplicata para cada amostra e calculada a média do tempo encontrado.

Diante do resultado insatisfatório de análise da aplicação do tempo de gel e de cura *versus* concentração de endurecedor na plastinação, foi realizado também um teste do tempo de gel e de cura *versus* concentração de um

plastificante/diluyente ftálico na resina teste. O composto exato do plastificante foi omitido por motivos de registro de patente. Neste teste foram utilizadas 6 proporções do diluyente em relação à resina nacional, respectivamente: 0, 5, 15, 25, 30 e 35% m/m, respeitando-se a concentração de endurecedor sugerida pela fabricante (43% em relação à resina somente). Para isso, foram separadas as 6 alíquotas de 40 gramas da resina E48 com o plastificante, misturadas de forma homogênea, e adicionada a quantidade correspondente do endurecedor E5. Com isso, as concentrações de endurecedor utilizadas para as misturas com proporções resina/plastificante 100:0, 95:5, 85:15, 75:25 70:30 e 65:35 m/m foram de 43; 40,8; 36,6; 32; 30 e 28%, respectivamente (Tabela 2). Após isso, utilizou-se um bastão de vidro para homogeneizar cada mistura durante um minuto e cronometrou-se o tempo em que a resina entrou em estado de gel e cura completa (rígido e seco ao toque). A partir dos resultados foram avaliadas quais concentrações seriam viáveis para utilização na plastinação.

Tabela 2. Amostragem seriada para o teste de tempo de gel da resina E48 e endurecedor E5 com as diferentes proporções de resina/plastificante e as concentrações de endurecedor utilizadas.

Amostra	Proporção resina/plastificante (m/m)	Endurecedor/resina (%)	Endurecedor/resina final (%)
1	100:0	43%	43
2	95:5		40,8
3	85:15		36,6
4	75:25		32
5	70:30		30
6	65:35		28

Legenda: resina final = mistura da resina com o plastificante.

Fonte: do próprio autor.

5.2. PLASTINAÇÃO DE TECIDOS BIOLÓGICOS COM OS EPÓXIS E AVALIAÇÃO DOS PRODUTOS FINAIS

5.2.1. Plastinação das amostras com o epóxi nacional

Nesta parte do estudo foi avaliada a aplicação do epóxi nacional na técnica de plastinação de fatias finas de diferentes tecidos biológicos. Para isso, foram utilizados um total de 10 ratos Wistar que seriam destinados ao descarte pelo Biotério Central da Ufes. A execução do projeto foi aprovada pela Comissão de Ética em Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA/UFES) sob o número 31/2019.

Inicialmente, os 10 ratos Wistar recém eutanasiados pelo biotério e frescos foram congelados em freezer (-30 °C) em posição anatômica por 2 dias, completamente emblocados em espuma de poliuretano e mantidos novamente no freezer por mais 5 dias para um congelamento pleno e uniforme. Depois disso, secções transversais de 2-3 mm de espessura dos espécimes emblocados foram sequencialmente realizadas com uma serra fita grande (Skymesen SSI, N° 1974) e transferidas para um banho de acetona pura (-25 ° C), onde a limpeza das sujidades superficiais das fatias provenientes do processo de seccionamento foi feita com pinceis de cerdas macias (Figura 3). Em seguida, para facilitar a manipulação das fatias, manter a sequência dos cortes identificados e aumentar a superfície de contato/troca dos tecidos, foram utilizadas grades plásticas perfuradas e tecidos de algodão entre cada fatia, evitando que as fatias ficassem em contato direto umas nas outras, o que poderia dificultar a troca de água por acetona na próxima etapa.



Figura 3. Processo de limpeza das fatias de rato recém-seccionadas com acetona resfriada (-25 °C) e pincel com cerdas macias.

Fonte: do próprio autor.

A desidratação das fatias foi realizada com 3 banhos semanais sucessivos e imersivos de acetona pura resfriada em freezers (-25 °C). O volume de solvente usado foi pelo menos 20 vezes maior que dos espécimes. A concentração da acetona do último banho foi mantida acima de 99,5% após o tempo de 7 dias, sendo este o requisito necessário para a etapa de desidratação ser considerada finalizada. A aferição da pureza da acetona foi realizada com um acetonômetro (densímetro) calibrado à 20°C.

Após a desidratação, as 200 fatias produzidas foram divididas nos grupos experimentais E12 e E48 (100 fatias em cada) e a impregnação forçada foi realizada em quatro repetições, ou seja, 25 fatias de cada grupo por repetição. Todos os grupos das repetições apresentavam secções de todos os tecidos biológicos avaliados. Os cortes foram imersos nas misturas reativas recém preparadas, sendo a mistura da resina Biodur E12 composta por resina E12 + endurecedor E1 na proporção 100:28 m/m, respectivamente, no grupo controle (Biodur®) e a do epóxi E48 (teste) que variou em cada repetição da impregnação

de acordo com os resultados obtidos nos testes tempo de gel e na impregnação anterior, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Grupos experimentais (E12 e E48), quantidade de amostras e proporções das misturas reativas de impregnação.

Fonte: do autor.

Testagem	Resina	N amostral	Mistura de impregnação (m/m)	Mistura de cura (m/m)
1º	E12	25	E12 + E1 (100:28)	
	E48	25	E48 + E5 (100:16)	E48 + E5 (100:43)
2º	E12	25	E12 + E1 (100:28)	
	E48	25	E48 + plastificante + E5 (65:35:28)	
3º	E12	25	E12 + E1 (100:28)	
	E48	25	E48 + plastificante + E5 (65:35:28)	E48 + E5 (100:43)
4º	E12	25	E12 + E1 (100:28)	
	E48	25	E48 + plastificante + E5 (65:35:28)	E48 + E5 (100:43)

Fonte: do próprio autor.

Em cada testagem de impregnação forçada foram colocadas uma amostra do epóxi de controle (E12) e uma do teste (de comercialização nacional) dentro de uma câmara de vácuo circular média (Biodur®, capacidade de 100 litros), conforme a Tabela 3. Aplicou-se o vácuo progressivamente e, conforme a acetona foi sendo volatizada da amostra, um rápido borbulhamento no epóxi foi visualizado (Figura 4). O ajuste do vácuo foi realizado de forma uniforme e constante na qual a impregnação durou 8 horas, tendo-se um padrão intenso de bolhas de acetona. A impregnação dos grupos experimentais iniciou na pressão de 200 mmHg e, na primeira hora de impregnação, a pressão foi reduzida uniformemente até 100 mmHg. Nas 6 horas e 40 minutos seguintes, a cada 20 minutos foi reduzido aproximadamente 5 mmHg de pressão. Com isso, faltando aproximadamente 1

hora e 20 minutos para o fim da impregnação, as válvulas de entrada de ar da câmara (utilizadas no controle do vácuo) foram completamente fechadas, atingindo-se o vácuo máximo da bomba (2 mmHg). A etapa foi concluída quando finalizado o tempo de impregnação total, notando-se uma redução drástica da formação de bolhas.

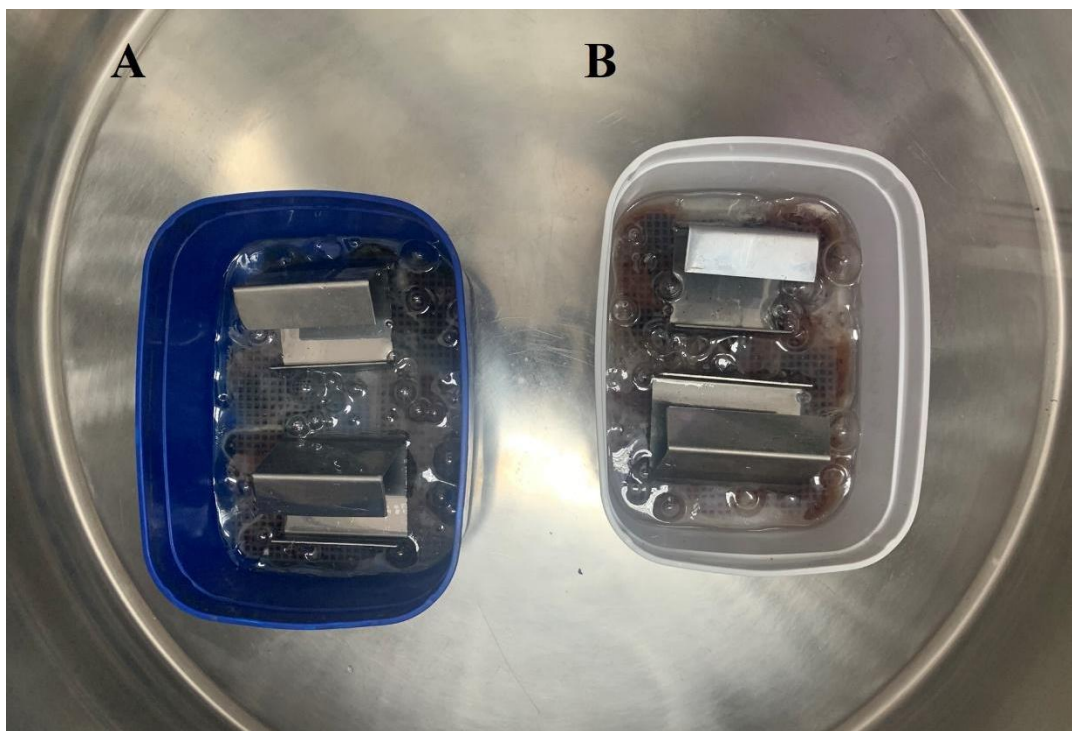


Figura 4. Secções imersas nas misturas reativas dentro da câmara de vácuo durante a impregnação forçada, evidenciando o borbulhamento da acetona volatilizada. Legenda: E48 (A) e E12 (B).

Fonte: do próprio autor.

A etapa de cura foi realizada a partir do método sanduíche, no qual espalhou-se uma pequena quantidade da mistura de cura de cada epóxi (conforme Tabela 3) em uma folha de acetato (50x50 cm) sobre uma lâmina de vidro (50x50x0,5 cm) e as fatias foram posicionadas sobre a mistura de forma espaçada (Figura 5). Após isso, mais uma quantidade da mistura de cura foi colocada sobre as fatias, de forma suficiente a cobri-las e, posicionou-se mais uma folha de acetato acima das secções. Com auxílio de uma espátula pode-se afastar as bolhas de ar formadas sob e sobre os cortes devido a montagem do sanduíche. Para finalizar,

sobre o acetato foi colocada mais uma lâmina de vidro e um peso de aproximadamente 5 kg para manter o sanduíche alinhado. Uma vez pronta, a montagem permaneceu em temperatura ambiente por 72 horas e mais 48 horas em estufa a 45 °C e foi, posteriormente, desmontada.



Figura 5. Fatias de rato Wistar impregnadas com epóxi E12 sendo posicionadas na montagem pelo método sanduíche para a cura.

Fonte: do próprio autor.

5.2.2. Avaliação das secções finas com as resinas epóxi

Para a avaliação das secções com o epóxi teste (E48) no comparativo ao grupo controle (E12) foi verificada a compatibilidade da resina alternativa com as etapas da técnica e a qualidade dos produtos finais. O principal parâmetro para verificação da viabilidade da resina E48 foi a comparação de seu comportamento com o E12 nas diferentes etapas: impregnação forçada, cura química e desmonte do sanduíche.

Já para avaliação dos produtos finais foram observados os aspectos gerais das placas de epóxi, como a cura completa dos polímeros, maleabilidade, a semitransparência pretendida dos diferentes tipos de tecido presentes nas fatias e o amarelamento das placas com as secções biológicas.

5.2.3. Análise de retração tecidual

Embora se saiba que a melhor forma para cálculo de retração se dá pela medição da diferença de volume, esta medida não é viável para a plastinação em epóxi, uma vez que as secções ficam inseridas nas placas de resina. Portanto, foi empregado como critério para a medida de retração tecidual média a diferença da área (cm²) de antes da impregnação e depois da cura dos tecidos biológicos das secções, como se segue na equação 1.

$$\text{Retração (\%)} = \frac{(\text{área antes da impregnação (cm}^2\text{)} - \text{área após a cura (cm}^2\text{)}) \times 100}{\text{área antes da impregnação (cm}^2\text{)}} \quad (1)$$

Nesta análise foram avaliados os tecidos nervoso, renal, hepático, esplênico, cardíaco e pulmonar. Para a padronização da análise, todos os cortes foram fotografados sobre uma prancha com escala (régua), a partir de um mesmo ângulo e distância focal, sob as mesmas condições antes da impregnação (após desidratação) e depois da cura. A medição da área dos tecidos foi feita com o *software* livre *ImageJ*, medindo-se a área superficial dos diferentes tecidos de somente uma face do corte. O *software* calcula a área a partir da contagem de pixels das fotografias, tendo como parâmetro uma escala que é calibrada (Figura 6).

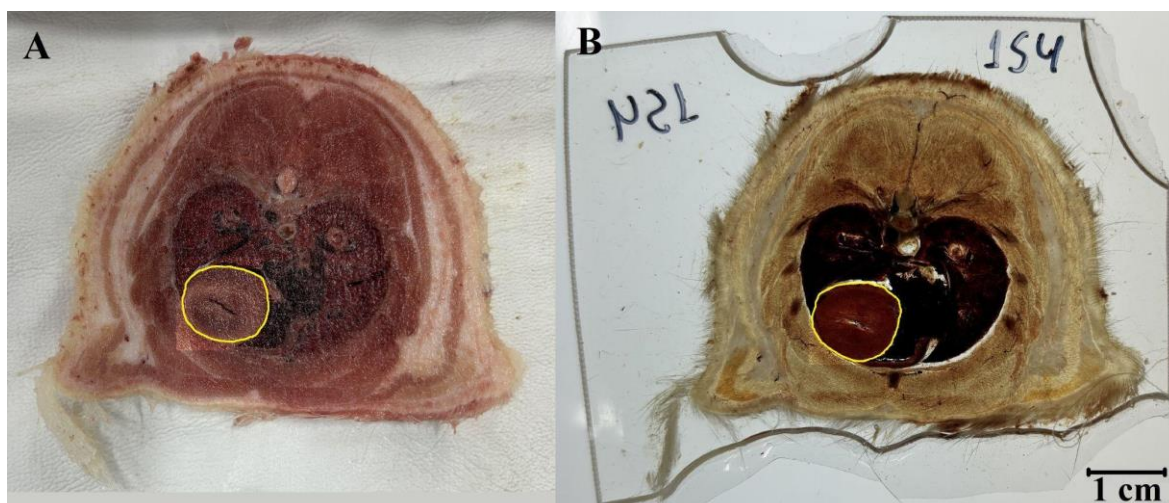


Figura 6. Medição da área (cm^2) do tecido cardíaco na face superior do corte, antes da impregnação forçada (A) e após a cura (B), pelo programa ImageJ. A demarcação amarela foi destacada para melhor visualização.

Fonte: do próprio autor.

No caso de órgãos lobulados/segmentados, foram consideradas para a medição as partes com delimitação bem definida nas fotografias do antes e do depois, como foi o caso do tecido pulmonar e hepático.

Os critérios utilizados para a exclusão de fatias para análise da retração tecidual foram: 1) secções que não apresentavam nenhum dos tecidos a serem analisados; 2) fatias que possuíam dano tecidual considerável; 3) fatias em que a alteração na coloração (escurecimento) nas regiões de interesse dificultava a observação inequívoca dos limites teciduais; 4) fatias em que não havia uma delimitação nítida no contorno dos tecidos sob análise devido à falta de contraste.

Para a análise estatística dos dados foram utilizados os testes de Shapiro-Wilk e Levene para avaliar a normalidade e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Os dados de retração média percentual dos grupos experimentais foram analisados no teste t de Student pareado e no teste de Análise de Variância (ANOVA) de uma via. O nível de significância adotado foi de 5%.

5.2.4. Análise Microscópica estereoscópica e confocal de fluorescência

Para comparação geral entre os tecidos plastinados com os epóxios E12 e E48P (com plastificante), as secções utilizadas na análise de retração tecidual

foram examinadas com um estereomicroscópio Leica EZ4 HD com ampliação de 8 vezes e as imagens foram gravadas eletronicamente. Posteriormente, foi utilizado o microscópio confocal ZEISS LSM 880 Airyscan (Figura 7), com o laser ajustado no comprimento de onda de 488 nm e sob objetiva de aumento de 10 vezes, sendo as imagens gravadas eletronicamente. Foram utilizados os equipamentos do Laboratório de Estudos em Morfologia Aplicada (LEMA)/UFES e no Centro de Aquisição e Processamento de Imagens/UFMG.



Figura 7. Microscópio confocal de fluorescência ZEISS LSM 880 Airyscan.

Fonte: do próprio autor.

5.3. ANÁLISE DAS RESINAS E DOS ENDURECEDORES

A terceira parte da pesquisa foi caracterizar os epóxis E12, E48 e E48P (resina e plastificante na proporção 65:35, respectivamente) e os endurecedores E1 e E5 quanto às suas estruturas químicas, térmicas, propriedades reológicas e mecânicas. As resinas comerciais normalmente não são produtos puros, uma vez que podem conter retardantes, plastificantes, diluentes e outros aditivos

importantes para as características físico-químicas, óticas e mecânicas da resina líquida ou curada. Diante disso e da ausência de informações descritivas dos componentes e quantidades das formulações nas fichas técnicas dos produtos, fez-se necessária a realização de testes experimentais de caracterização para se tentar elucidar tais informações. Para isso, foram empregadas as técnicas de espectrometria de absorção na região do infravermelho (FTIR), reometria rotacional, análise termogravimétrica (TG), índice de refração, ensaio de mudança de coloração e ensaio de resistência à tração.

5.3.1. Caracterização reológica

De forma a aprofundar o conhecimento da viscosidade dos epóxis E12, E48 e E48P puros testados em temperaturas de trabalho da plastinação, foi utilizado o reômetro rotacional da marca Anton Paar, modelo ReolabQC, do Laboratório de Processamento e Caracterização/LabPetro, situado na Universidade Federal do Espírito Santo (Figura 8). O equipamento contou com um sistema de medição de cilindro coaxial e possui um sistema de resfriamento e aquecimento acoplado para as amostras. As viscosidades dinâmicas dos polímeros foram medidas nas seguintes temperaturas pré-programadas: 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5 e 35 °C, definidas a partir da média das 100 medidas de viscosidades para cada temperatura com as taxas de cisalhamento variando entre 100 e 600 s⁻¹. As amostras de epóxi foram transferidas uma a uma para um recipiente específico, cerca de 10 mL cada, no reômetro e uma haste cilíndrica rotativa no interior da amostra, foi fixada à cabeça de medição do reômetro, gerando assim um cisalhamento no fluido. Além da viscosidade dinâmica e temperatura, o aparelho também mediu a taxa e a tensão de cisalhamento.

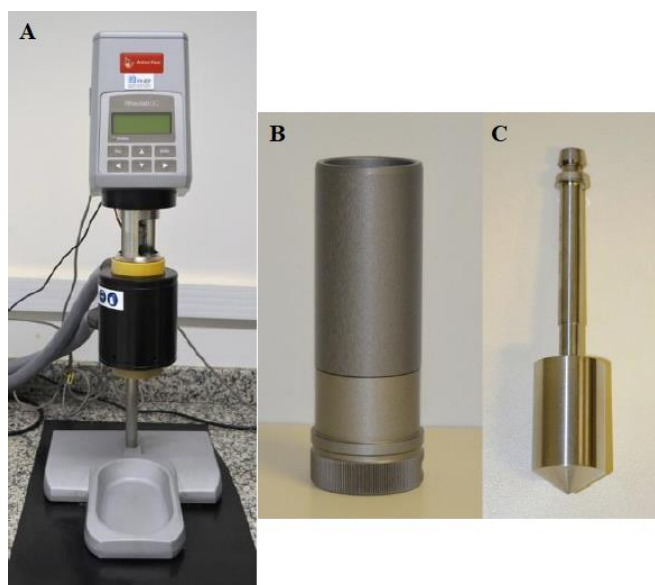


Figura 8. Sistema de análise reológica. (A) Reômetro rotacional, modelo RheolabQC, fabricado pela Anton Paar; (B) Vaso cilíndrico para conter a amostra a ser analisada no reômetro e (C) haste cilíndrica de metal responsável por gerar cisalhamento no fluido durante o teste reológico..

Fonte: Do próprio autor.

5.3.2. Caracterização por Espectroscopia de Absorbância no Infravermelho

Para as análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, do inglês “Fourier transform infrared”) com os epóxis E12, E48 e E48P (líquidos e curados) e os seus endurecedores foi utilizado o espectrômetro AGILENT TECHNOLOGIES®, modelo Cary 630 FTIR (Figura 9), do Laboratório Multiusuário da Coordenadoria de Química e Biologia, do Instituto Federal do Espírito Santo – IFES, Campus Vitória, que possui um acessório de cristal de seleneto de zinco (ZnSe). As análises foram realizadas a temperatura ambiente pela técnica de refletância total atenuada (ATR, do inglês “attenuated total reflectance”). A faixa utilizada para as análises foi de 4.000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , 16 scan, com 4 cm^{-1} de resolução. Os espectros foram plotados utilizando-se o programa Origin Pro 8.5.

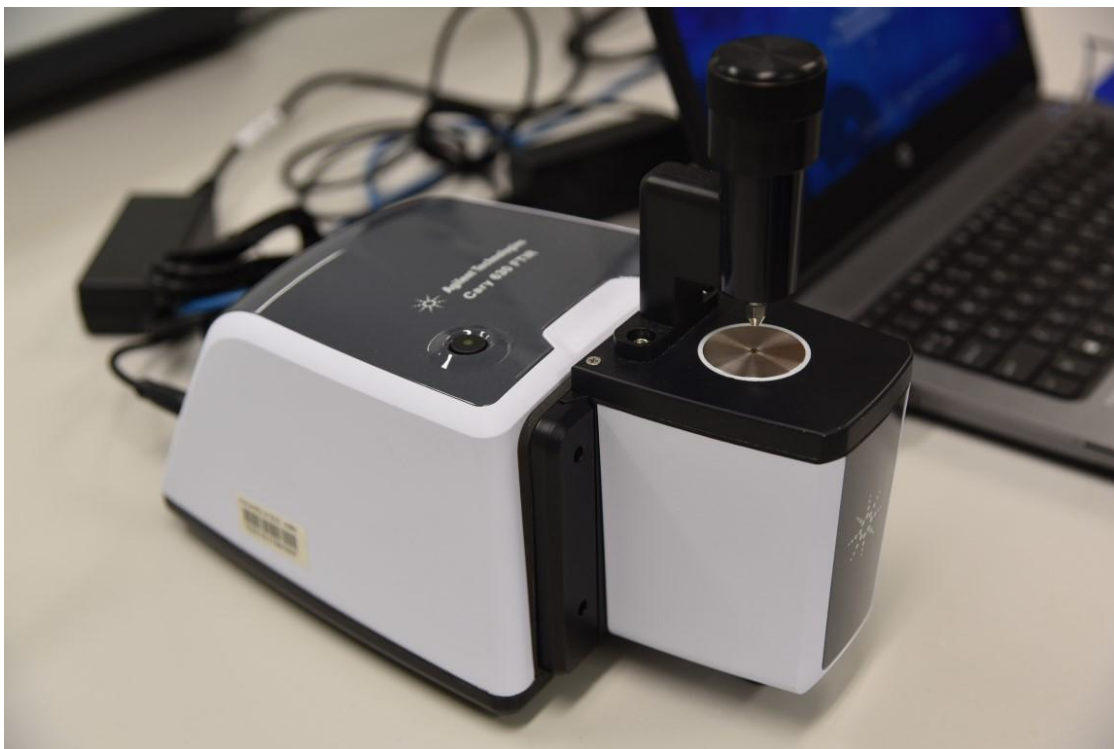


Figura 9. Espectrômetro de IV AGILENT TECHNOLOGIES®, modelo Cary 630 FTIR utilizado para a caracterização dos epóxis E12 e E48 por espectroscopia no infravermelho.

Fonte: do próprio autor.

5.3.3. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG-DTG) foi realizada utilizando o equipamento NETZSCH Instrument STA 449 F3 Jupiter, em atmosfera de argônio e com taxa de aquecimento de 10°C/min, variando a temperatura de 20°C a 700°C (Figura 10). Foram realizados em cadinho de alumina e a massa utilizada foi de 15 ± 1 mg para cada amostra, mantendo-se um fluxo de gás de 60 ml/minuto no forno e 20 ml/min na proteção. Foram testadas 6 amostras, sendo os três grupos de epóxi (E12 e E48) curados e não curados e os dois endurecedores (E1 e E5).

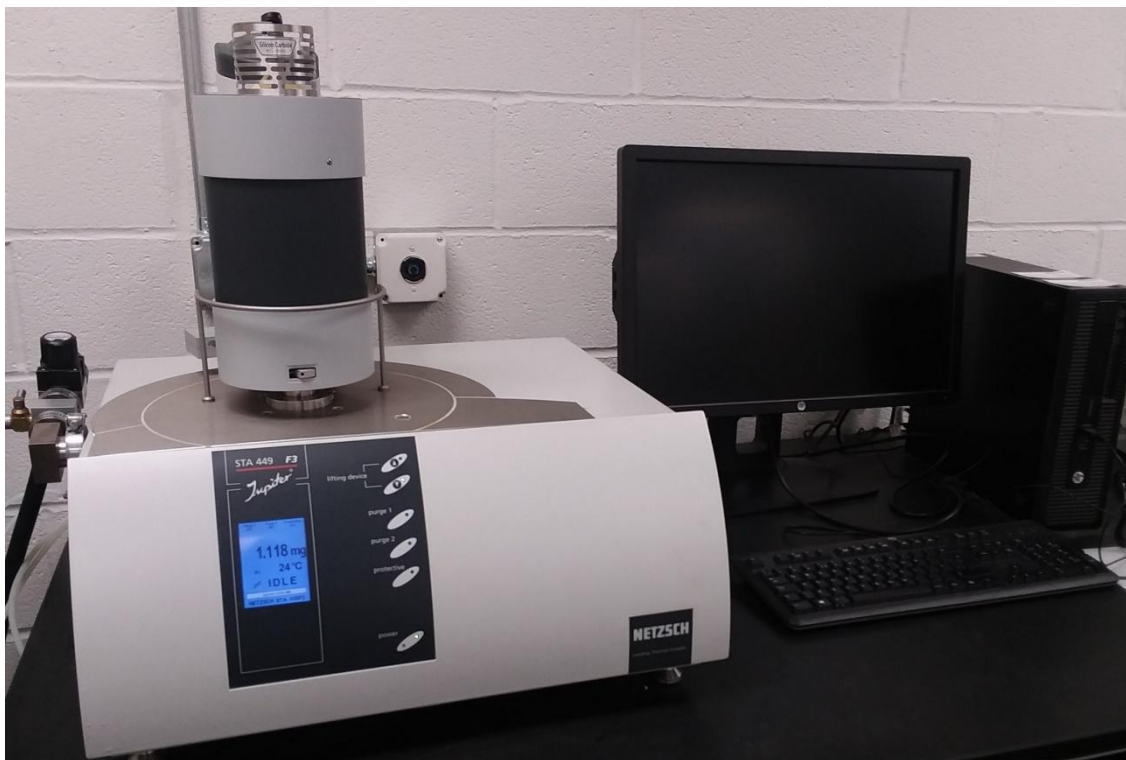


Figura 10. Equipamento NETZSCH Instrument STA 449 F3 Jupiter utilizado para as análises termogravimétricas.

Fonte: do próprio autor.

5.3.4. Índice de Refração

Os índices de refração (RI) das amostras de epóxi E12, E48 e E48P (resina e plastificante na proporção 65:35, respectivamente) não curadas foi lido no refratômetro ABBÉ Kruss AR 2008 (fabricante Kruss Scientific GMBH, Hamburgo, Alemanha) a 20 °C (Figura 11). As mensurações foram feitas em triplicata e o resultado expresso como média e desvio padrão.



Figura 11. Refratômetro ABBÉ Kruss AR 2008, fabricante Kruss Scientific GMBH.
Fonte: do próprio autor.

5.3.5. Ensaio de Mudança de coloração das resinas curadas

Para o ensaio de alteração de coloração ao longo do tempo, as resinas E12, E48 e E48P curadas foram avaliadas em duas condições de exposição: submetidas à luz solar (UV direta) e ao abrigo da luz solar.

Nos testes foram utilizadas as proporções preconizadas pelos fabricantes ou proveniente de testes anteriores: 100:28 (m/m) para E12:E1, 100:43 (m/m) para E48:E5 e 65:35:28 (m/m/m) para o E48:plastificante:E5 (ou E48P:E5). O tempo de cura utilizado foi de 48 horas. Ao total foram produzidas 12 placas circulares de 4 mm de espessura e 9 cm de diâmetro, sendo 4 de cada grupo experimental (2 com exposição UV e 2 sem exposição UV).

O acompanhamento do amarelamento foi realizado a partir das fotografias das placas obtidas ao longo de 6 meses com auxílio de um mini estúdio fotográfico (marca Puluz) com iluminação e posicionamentos padronizados (Figura 12). A coloração amarela das placas foi analisada pelo *software* Color Detector (iOS) e os

resultados foram expressos com a média e desvio-padrão de uma medida em cada uma das duas placas do mesmo subgrupo. A testagem ocorreu mensalmente entre agosto de 2024 a janeiro de 2025 para as duas condições citadas.



Figura 12. Mini estúdio com fundo e iluminação padronizada para fotografia das placas de epóxi do teste de amarelamento.

Fonte: do próprio autor.

A exposição aos raios UV foi realizada no pavimento superior do prédio do Laboratório de Plastinação, localizado no Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde da Ufes, em Vitória, Espírito Santo. As amostras foram alocadas sobre uma placa de fundo branco, em um ambiente aberto, arejado, protegidas da chuva e sob incidência direta (aproximadamente 8 horas/dia) e indireta da luz solar.

Na avaliação ao abrigo da luz UV, as 2 placas de cada grupo experimental (resinas E12, E48 e E48P) foram mantidas ao abrigo de qualquer iluminação em um recipiente de madeira fechado. Para a avaliação, as 2 placas de cada grupo experimental foram fotografadas a cada mês e analisadas com o *software* ColorDetector.

5.3.6. Ensaio de resistência a tração

O ensaio de resistência à tração foi conduzido seguindo a norma ASTM D 3039. As medições foram realizadas a temperatura controlada de 25 °C, utilizando um equipamento universal de ensaios INSTRON, modelo 3369. O equipamento possui uma célula de carga de 100 kN de capacidade máxima, uma distância entre garras de 175 mm e uma velocidade de translação de 2,5 mm/min.

Os corpos de prova foram preparados com a proporção sugerida pelos fabricantes (28 e 43% de endurecedor, respectivamente). Estas foram seccionadas nas dimensões padronizadas de 220 mm de comprimento, 26 mm de largura e 3 mm de espessura (Figura 13) e tiveram as arestas tratadas com lixas d'água n° 120, 220 e 600 e polimento com suspensão de alumina 0,5 µm. Foram ensaiadas cinco amostras para cada resina e os resultados expressos em média. O ensaio não foi realizado para as amostras de E48P devido à alta flexibilidade apresentada pelos corpos de prova.

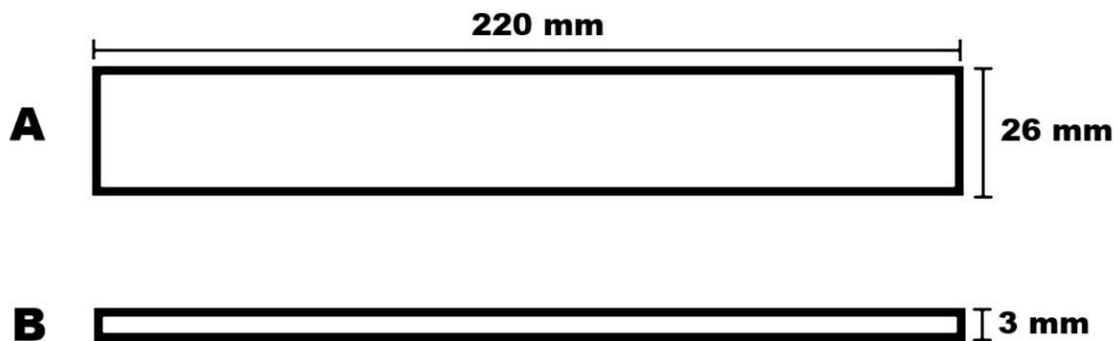


Figura 13. Dimensões dos corpos de prova de epóxi curado utilizados nos ensaios de tração. A = vista superior; B = vista lateral.

Fonte: do próprio autor.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. PROSPECÇÃO DO EPÓXI ALTERNATIVO E VERIFICAÇÃO INICIAL

A Tabela 4 mostra as características iniciais da resina E48 (teste) e do endurecedor E5, insumos encontrados no mercado nacional a partir das características pré-determinadas, e dos insumos de referência epóxi E12 e endurecedor E1 (para referência) obtidas a partir da ficha técnica cedida pelos fabricantes.

Tabela 4. Características básicas das resinas e endurecedores da Biodur e nacionais, obtidas das fichas técnicas dos produtos.

Características avaliadas	Produtos Analisados			
	Epóxi E12	Endurecedor E1	Epóxi E48	Endurecedor E5
Componente principal	Bisfenol A - epicloridrina	DMDC*	Bisfenol A - epicloridrina	Amina cicloalifática modificada
Aparência	Líquido incolor viscoso	Líquido incolor	Líquido incolor viscoso	Líquido incolor
Viscosidade (25 °C)	3000 – 4000 mPa.s	140 – 150 mPa.s	500 – 1600 mPa.s	60 – 80 mPa.s
Proporção resina/ endurecedor	100:28		100:43	
Tempo de gel	≅ 16 horas		≅ 1 hora	

* Legenda: DMDC - 2,2'-Dimetil-4,4'-metilenobis(ciclohexilamina).

Fonte: adaptado pelo autor a partir das fichas técnicas fornecidas pelos fabricantes.

Os produtos encontrados têm características básicas semelhantes ao de referência, como a aparência visual e os componentes principais das formulações. As viscosidades informadas são bem distintas entre as resinas e o impacto disso foi avaliado na análise de retração tecidual. Além disso, de acordo com a ficha técnica, o E48 possui um filtro UV não especificado na formulação.

A proporção resina/endurecedor e o tempo de gel dos epóxis foram características que apresentaram divergências. As formulações do E12 e seu endurecedor E1 foram desenvolvidas e aperfeiçoadas especificamente para o tempo necessário para o protocolo de plastinação, enquanto o produto nacional tem outras aplicações e finalidades, com um tempo de gel e de cura mais rápido. O tempo de gel da mistura controle, resina Biodur E12 e endurecedor E1, foi de 12 horas e o tempo de cura completa foi de 24 horas.

Tendo em vista o tempo curto de cura do epóxi alternativo, houve a necessidade de realização do teste de tempo de gel e de cura com diferentes concentrações de endurecedor para adaptação à etapa de impregnação, cujos resultados são demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Primeiro teste de tempo de gel e de cura da resina E48 com diferentes proporções de endurecedor para o estabelecimento dos tempos de gel e cura completa.

Amostra	Endurecedor (%)	Tempo de Gel	Tempo de Cura Completa
1	43%	1 hora e 15 min	20 horas
2	21,50%	3 horas e 15 min	-
3	10,75%	22 horas e 41 min	-
4	5,37%	>15 dias	-
5	2,68%	>15 dias	-

Fonte: do próprio autor.

Por segurança, o protocolo completo de impregnação e montagem das amostras biológicas para a cura deve ser de, no mínimo, 10-12 horas e, com isso, o ponto de gel da resina deve ocorrer a partir deste tempo para possibilitar a realização completa das etapas. Já a etapa de cura completa do epóxi não é conveniente que ultrapasse 72-96 horas para que haja finalização da plastinação. Nas condições testadas, a amostra 2 entrou em estado de gel abaixo do tempo necessário para o uso na plastinação, com aproximadamente 3 horas. No caso da amostra 3 (E48 com adição de 10,75% m/m de iniciador), o tempo ideal foi

ultrapassado, uma vez que entrou em ponto de gel em aproximadamente 23 horas. Diante do grande intervalo de tempo de gel entre a amostra 2 e 3 foram realizados ensaios com as concentrações intermediárias, como mostrado na Tabela 6.

Tabela 6. Segundo Teste de Tempo de gel e de cura da resina E48 com diferentes proporções de endurecedor.

Amostra s	Endurecedor (%)	Tempo de Gel	Tempo de Cura Completa
6	18,85%	6 horas e 45 min	-
7	16,15%	10 horas e 44 min	-
8	13,45%	12 horas e 43 min	-

Fonte: do próprio autor.

A curva de tempo de gel para as diferentes concentrações de endurecedor é apresentada na Figura 14. As amostras 4 e 5 não foram apresentadas por não terem apresentado estado de gel dentro dos 15 dias avaliados.

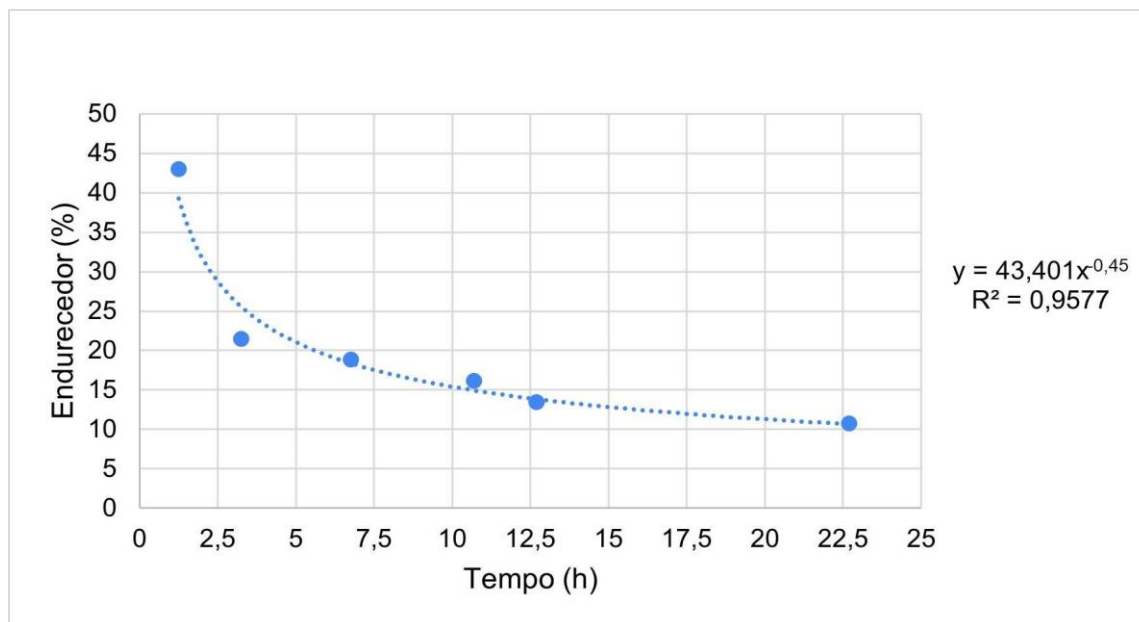


Figura 14. Variação do tempo de gel da resina E48 em função da proporção de endurecedor E5.

Fonte: do próprio autor.

Em relação ao endurecimento das 8 amostras com diferentes quantidades do E5 no teste de tempo de gel e cura, somente a amostra com 43% de endurecedor (proporção preconizada pela empresa que comercializa o produto) atingiu o endurecimento completo dentro do tempo de realização da testagem do tempo de gel. Diante disso, evidenciou-se que a proporção preconizada e ideal de resina/endurecedor é fundamental para a cura da resina, ou seja, existe uma proporção estequiométrica para que a reação da cura seja completa (LICARI; SWANSON, 2011). Quanto menor a quantidade de endurecedor, menos ligações cruzadas entre a malha polimérica são formadas e, com isso, menor a rigidez do polímero. Com isso, em algumas amostras houve uma polimerização inicial até o ponto de gel em diferentes tempos, mas sem completar a cura.

De acordo com Dagdag *et al.* (2018), a polimerização das resinas epóxi e do agente de cura é uma reação nucleofílica de abertura do anel e, dependendo do processo de cura, da proporção resina/endurecedor, tempo e temperatura de preparo, é possível obter diversos sistemas epóxi, com diferentes características térmicas, mecânicas e físicas. O número de locais reativos na estrutura e a distância entre eles também influenciam muito nas propriedades do material.

Quanto menor a quantidade e maior a distância de um local reativo do outro, mais macio e flexível será o material. Porém, com uma maior quantidade e proximidade entre eles, maior a rigidez e fragilidade (AMARAL *et al.*, 2013; MENEZES *et al.*, 2004). Na figura 15 é possível visualizar a reação de cura geral de resinas epóxi.

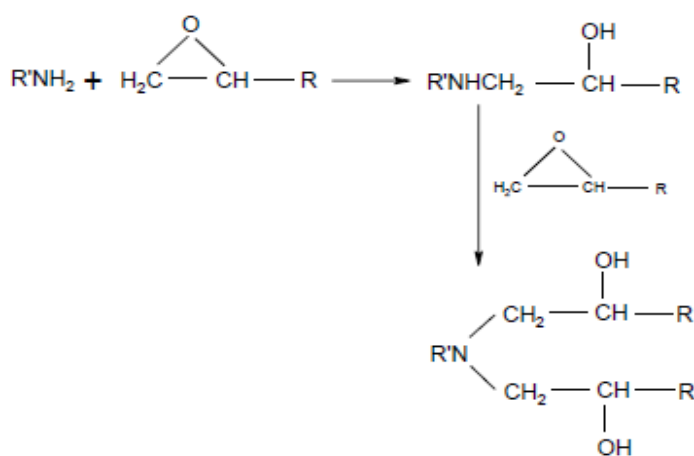


Figura 15. Esquema da reação de cura de resina epóxi com endurecedores aminas. Legenda: R – pré-polímero.

Fonte: DIXIT, VARUN, *et al.*, 2010.

No processo de cura de um termofixo, como a resina epóxi, as moléculas reagem entre si, provocando o aumento das cadeias poliméricas e, conseqüentemente, o aumento da viscosidade. Com o avanço das reações lineares e de reticulação, o material passa de um líquido viscoso para um gel elástico insolúvel (FOUCHAL *et al.*, 2004). Neste ponto de gel, a resina perde a sua fluidez e, por isso, a etapa de impregnação da plastinação (troca do solvente pela resina através do vácuo) de espécimes anatômicos deve ser feita antes deste momento.

Após a obtenção de resultados insatisfatórios no primeiro teste de plastinação das secções de ratos Wistar com a redução da proporção resina/endurecedor preconizada nas fichas técnicas dos produtos (relatado no próximo tópico), procedeu-se a testagem do uso de um diluente/plastificante, sem alteração da concentração de endurecedor em relação à resina sugerida pelo fabricante, objetivando-se estender o tempo de cura da mistura sem comprometer o endurecimento no fim da etapa. Por ser uma testagem nova e específica do produto selecionado (E48), foram selecionadas 6 concentrações crescentes de plastificante, de 0 a 35%, para a avaliação. Como já mencionado, a identificação do composto utilizado nos testes foi omitida por motivo de registro de patente. A Tabela 7 mostra os resultados do teste de tempo de gel/cura *versus* concentração do diluente para os epóxis testados. A porcentagem de endurecedor adicionado presente na Tabela 7 foi calculado a partir da nova formulação, ou seja, mistura da resina com adição do diluente (100%), respeitando-se os 43% sugeridos pelo fabricante com a proporção resina pura/endurecedor, sem contabilização do diluente.

Tabela 7. Teste de tempo de gel e de cura da mistura resina E48 e o endurecedor E5 com diferentes proporções do plastificante (amostras 1 ao 6) e da mistura E12 e E1 conforme preconizado pelo fabricante Biodur (amostra 7).

Amostras	Epóxi (%)	Plastificante (%)	Endurecedor (%)	Tempo de gel	Tempo de cura
1	100	-	43	1h	3h
2	95	5	40,8	1h 35 min	14 h
3	85	15	36,6	2h 50 min	24 h
4	75	25	32	5h 45 min	36 h
5	70	30	30	8h 30 min	48 h
6	65	35	28	11h	60 h
7	100	-	28	12h	24h

Fonte: do próprio autor.

Todas as amostras testadas com variação do diluente curaram (secos ao toque), embora houvesse variação da rigidez das amostras. Foi notado que, por meio de aplicação de pressão ao toque, quanto maior a concentração de diluente, menor a rigidez da resina curada.

A amostra 6 se mostrou promissora para uso na plastinação, tendo em vista o seu tempo hábil de impregnação antes da entrada no estado de gel e a sua cura completa em 60 horas (Tabela 7) e, por isso, definiu-se sua proporção para teste na impregnação das amostras biológicas, recebendo a denominação E48P.

6.2. PLASTINAÇÃO DE TECIDOS BIOLÓGICOS COM OS EPÓXIS E AVALIAÇÃO DOS PRODUTOS FINAIS

6.2.1. Avaliação das secções finas com as resinas epóxi

Foram plastinados um total de 200 fatias de ratos Wistar, sendo 100 para cada um dos grupos experimentais (E12 e E48) e divididas em 4 momentos (ou repetições) de impregnação. Em todas as repetições de impregnação foram processadas 25 secções de cada resina na mesma câmara de vácuo e sob as mesmas condições de temperatura e velocidade de impregnação.

No 1º teste de plastinação com o E48 foi utilizada a mesma concentração de endurecedor da amostra 7 do teste de tempo de gel (16,15% de endurecedor)

(Tabela 6), uma vez que, para a impregnação, esta concentração permitia um tempo hábil antes do estado de gel de aproximadamente 11 horas. Para a montagem do sanduíche na cura foi utilizada uma mistura recém preparada com 43% de endurecedor, para tentar “incluir” as fatias impregnadas nessa resina nova a fim de que o produto final se apresentasse totalmente curado, rígido e seco ao toque, mesmo com o uso de uma mistura do epóxi com uma concentração do endurecedor que não apresentou cura completa.

Contudo, no 1º teste não foram encontrados resultados satisfatórios, pois no momento da desmontagem, todas as fatias apresentaram pontos de resina mal curada que se aderiram fortemente às folhas de acetato. Com isso, houve perda ou deslocamento de fragmentos de tecidos biológicos e órgãos inteiros junto com a resina aderida (Figura 16). Isso ocorreu provavelmente devido à proporção não estequiométrica de resina e endurecedor necessária para uma cura completa. Como foi realizada a redução da quantidade de endurecedor para extensão do tempo de impregnação, a resina não endureceu totalmente, o que formou um gel com forte poder de adesão na folha de acetato.



Figura 16. Etapa de desmontagem do sanduíche de cura do 1º teste com a resina de comercialização nacional, evidenciando a adesão de epóxi não curado nas folhas de acetato.

Fonte: do próprio autor.

A Figura 17 mostra a comparação entre secções plastinadas com os epóxios E12 e E48P das impregnações de número 2, 3 e 4. As secções plastinadas com o E48P presentes nesta figura são representativas das impregnações citadas, uma

vez que a mistura de impregnação foi a mesma (proporção de 65:35:28 para resina, plastificante e endurecedor, respectivamente). As fatias de rato Wistar plastinadas com os epóxis E12 e E48P se apresentaram muito semelhantes no contraste e semitransparência característicos desse método. Além disso, todas se mostraram secas ao toque, indicando a cura completa das resinas. Mesmo com observação atenta das fatias de rato, não foi possível distingui-las visualmente entre os grupos experimentais.

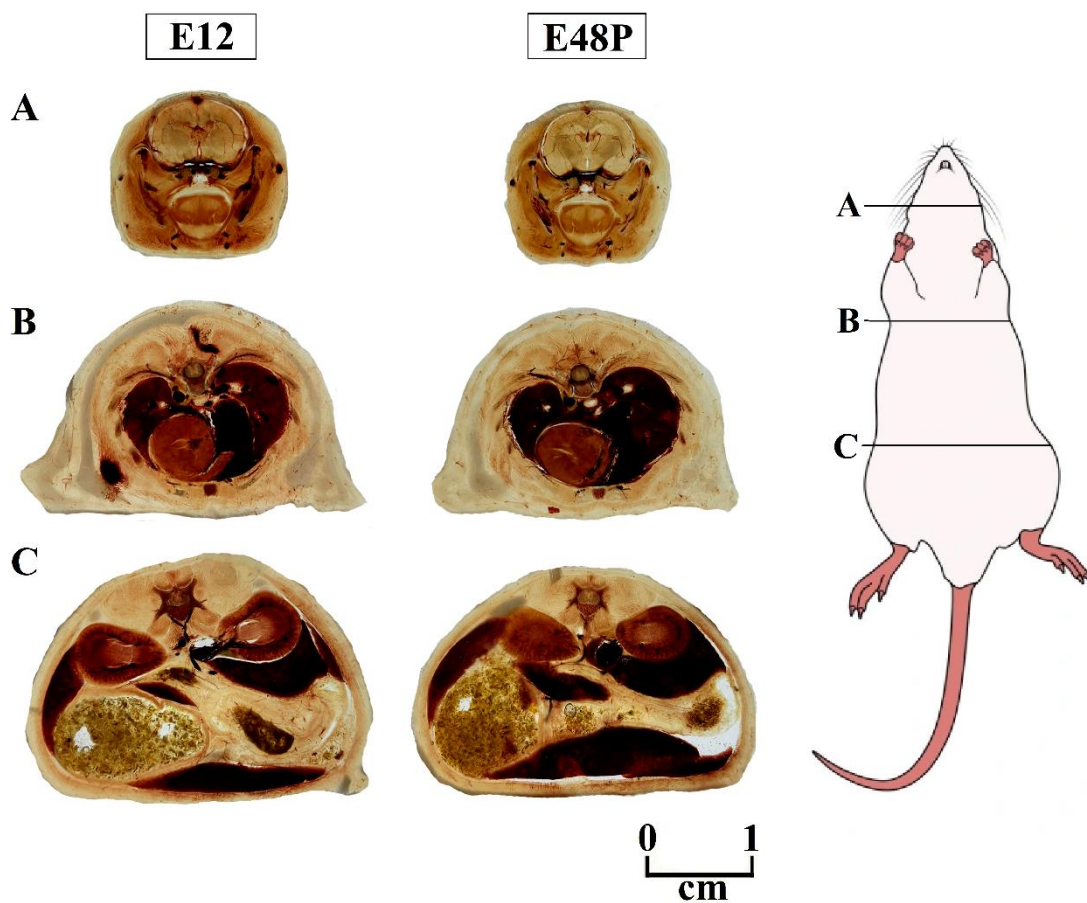


Figura 17. Fatias de cabeça, tórax e abdome de ratos Wistar plastinados com o epóxi Biodur E12 e E48P (resina com 35% de plastificante).

Fonte: do próprio autor; rato = <https://neuroscience-graphicdesign.com/portfolio/laboratory-rats/>.

A Figura 18 apresenta a comparação visual entre uma secção de abdome fresca (sem fixação) e depois da plastinação com a resina E12, evidenciando as

mudanças características de contraste e semitransparência que a técnica com epóxi proporciona.

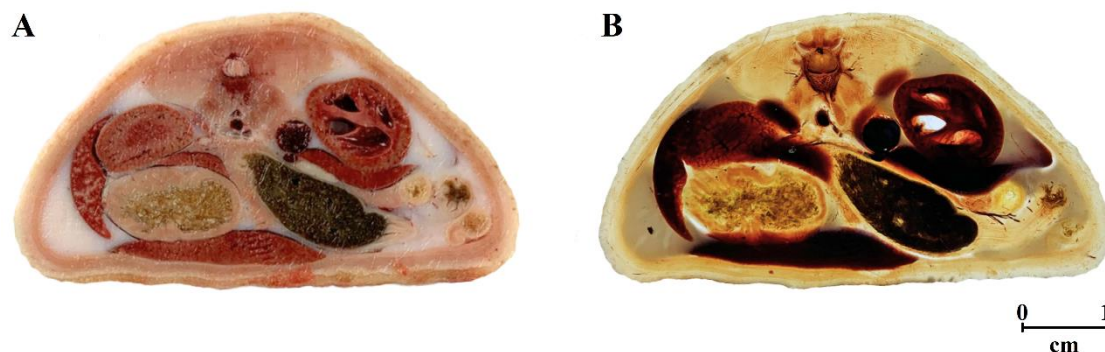


Figura 18. Antes (A) e depois (B) da plastinação de secções de abdome de rato Wistar com epóxi (E12).

Fonte: do próprio autor.

Entre as impregnações (testes) 2, 3 e 4 de plastinação com a resina nacional E48 não foram observadas diferenças visuais entre os tecidos biológicos das secções produzidas. As diferenças foram observadas nas placas de resina curada, provenientes do método de sanduíche da cura.

No 2º teste de impregnação foi utilizada a mesma proporção de resina, plastificante e endurecedor da amostra 6 do teste de tempo de gel realizado anteriormente (65:35:28 m/m, respectivamente) (Tabela 7). Na cura utilizou-se a própria mistura de impregnação para a montagem do sanduíche, na tentativa de maior aproximação do protocolo da Biodur e maior aproveitamento dos materiais. Com a adição do plastificante tentou-se prolongar o tempo hábil necessário para a impregnação e montagem da cura, mantendo a proporção de resina/endurecedor e, conseqüentemente, sem interferir na cura completa da resina impregnada nos tecidos biológicos das amostras. Esta mistura proporcionou um tempo de trabalho (sem atingir o estado de gel) de aproximadamente 11 horas e endurecimento completo em 60 horas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (Tabela 7).

Neste teste, a viscosidade da mistura reativa ao final da impregnação se apresentava visualmente bem menor, quando comparada ao grupo controle, o que ocasionou alguns extravasamentos no momento da montagem do sanduíche de cura, mas sem prejudicar a conclusão da etapa. Já a desmontagem das fatias

curadas foi realizada facilmente, sem aderência ou observação de pontos de resina sem cura completa. Com a adição do plastificante, as fatias de 2-3 mm apresentaram certa flexibilidade (ou maleabilidade) sem ocasionar fratura (Figura 19), diferentemente das fatias preparadas com o epóxi de referência que se mostraram bem rígidas. Secções flexíveis como produtos da plastinação com epóxi ainda não foram descritas na literatura, se tratando de um novo produto desenvolvido a partir desta pesquisa. A flexibilidade pode tornar as placas com secções mais resistentes a quedas e manipulação para utilização no ensino em aulas práticas, além de serem utilizadas em diferentes propostas de montagens em exposições, em que pode se desejar uma certa distorção angular ou torção nos espécimes.

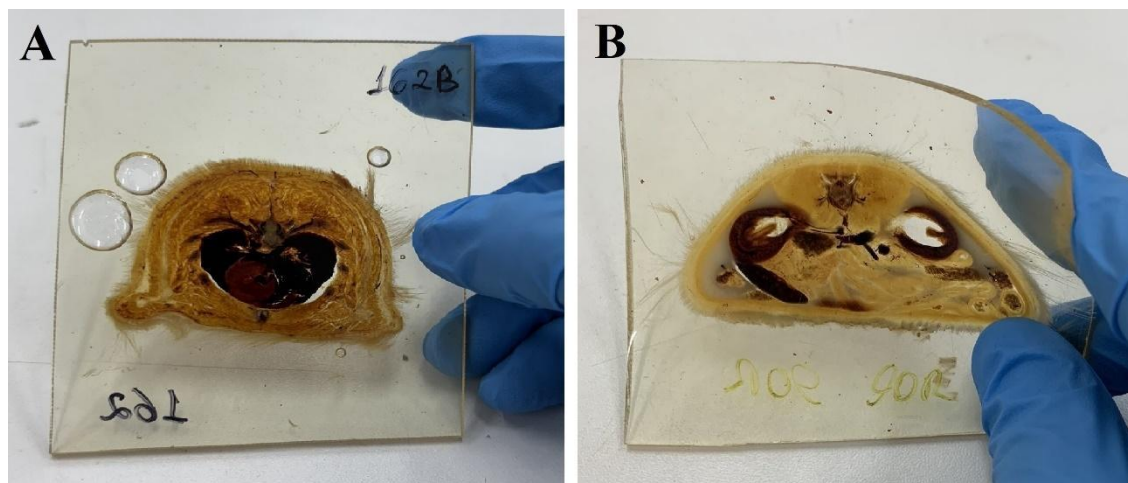


Figura 19. Secções de rato Wistar plastinadas com o epóxi E12 (A) e o E48P (B) sob leve tensionamento, evidenciando a flexibilidade do epóxi E48 com o plastificante.

Fonte: do próprio autor.

A partir do primeiro mês de cura, as fatias impregnadas e curadas com a resina E48P, seu endurecedor e o plastificante utilizado no segundo teste foram alterando sua coloração para tons de amarelo sob condições amenas de iluminação interna do Laboratório de Plastinação da Ufes (Figura 20). De acordo com a literatura, o uso de plastificante pode acelerar o amarelamento da resina epóxi (KRAUKLIS; ECHTERMEYER, 2018). Nesse mesmo prazo, não havia nenhum sinal de amarelamento dos outros grupos experimentais.

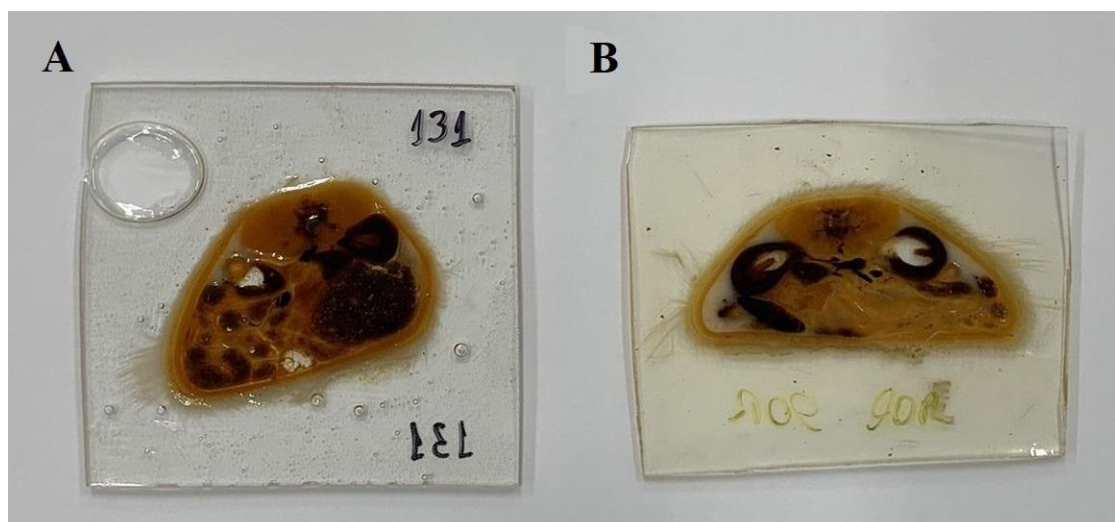


Figura 20. Secções impregnadas e curadas com a mistura reativa contendo o plastificante recém-curada (A) e após um mês de cura (B), evidenciando o amarelamento da resina epóxi.

Fonte: do próprio autor.

A fim de se produzir placas mais rígidas como as da Biodur, nos testes 3 e 4 utilizou-se a mesma composição e proporção da mistura reativa do teste anterior (resina, plastificante e endurecedor) para a etapa de impregnação forçada e, na etapa de cura, foi utilizada uma mistura recém preparada com a resina e 43% de endurecedor. O preparo do sistema reacional para a cura ocorreu 30 minutos antes da sua aplicação. Este procedimento foi adotado para se alcançar um maior controle da viscosidade e, conseqüentemente, diminuir a movimentação das fatias e o extravasamento de resina do sanduíche montado durante a cura dos espécimes.

A principal diferença entre as etapas de impregnação e cura do teste 1 para os testes 2, 3 e 4 foi a presença do plastificante na mistura reativa, permitindo a extensão do tempo de impregnação sem alterar a quantidade estequiométrica de endurecedor e, assim, promovendo um endurecimento completo da resina.

As fatias plastinadas com o epóxi E48P nos testes 3 e 4 se mostraram rígidas, secas ao toque, transparentes e com tecidos biológicos semitransparentes sem retração aparente, características bem semelhantes às fatias plastinadas com o epóxi E12 (Figura 17). Além disso, foram observadas maiores quantidades de

bolhas de ar no sistema E48P em detrimento ao da Biodur, provavelmente devido à sua maior viscosidade e, conseqüentemente, maior incorporação de bolhas durante a manipulação. Outras características relevantes do sistema E48P foram a manutenção do formato das placas ao longo do tempo, sem arqueamento, e o amarelamento para os testes 3 e 4 se deu apenas após 12 meses da sua aplicação, nas condições de exposição do laboratório. Isso se deve à presença de um filtro UV na formulação da resina.

No decorrer da impregnação com o epóxi controle notou-se o aumento gradativo da viscosidade da mistura, a partir da erupção das bolhas de acetona na superfície do líquido. A mistura mais viscosa facilitou a montagem do sanduíche de cura, evitando o seu rápido extravasamento nas bordas das folhas de acetato e mantendo uma fina camada de epóxi nas partes superior e inferior da secção impregnada.

As secções plastinadas com o epóxi E12 foram facilmente montadas e desmontadas do sanduíche de cura, como o esperado, sem pontos de adesão no acetato. As fatias curadas se apresentaram com a semitransparência característica deste método, secos ao toque e com grande rigidez. Também foi observado o início do amarelamento a partir do 6º mês de finalização, mesmo manipuladas esporadicamente sob condições amenas de iluminação e temperatura (rotineiras do laboratório).

Para todos os subgrupos experimentais, os tecidos biológicos mais vascularizados, como o pulmonar, hepático e cardíaco, apresentaram uma coloração mais escurecida e com menor semitransparência quando comparados aos outros tipos de tecidos.

A partir dos testes 2, 3 e 4 foram propostos dois métodos de plastinação com o epóxi E48P: um para produção de fatias flexíveis e outro para produção de fatias rígidas. A escolha do método mais adequado depende da finalidade dos espécimes e da escolha pela praticidade do processamento.

6.2.2. Análise da retração tecidual

Para a análise de retração dos diferentes tipos de tecidos biológicos foram avaliadas um total de 55 fatias de epóxi, sendo 27 do grupo experimental E12 e 28

do E48P. É importante salientar que, em uma mesma secção, pode ter sido mensurado mais de um tipo de tecido biológico.

Como já descrito, para a avaliação da retração causada na etapa de impregnação forçada pelos epóxis foram registradas as áreas superficiais dos tecidos (órgãos). Não há na literatura um limite “aceitável” de retração na plastinação, sendo assim, normalmente utilizam-se os valores de retração causados pelo epóxi E12.

O teste de normalidade realizado pelo método Shapiro-Wilk, demonstrou que os dados apresentaram distribuição normal para todos os grupos e tecidos ($p > 0,05$). Ademais, o teste de Levene demonstrou que todos os grupos e tecidos também apresentaram homogeneidade de variância dos dados. A normalidade e homogeneidade dos dados permitiram o uso de testes paramétricos, como o teste t de Student para a comparação entre os grupos E12 e E48P, e a ANOVA para a análise de variações entre os seis tipos de tecidos avaliados.

O teste t de Student foi utilizado para comparar os grupos E12 e E48P para cada tecido biológico. A análise revelou que, para todos os tecidos, não houve diferenças estatisticamente significativas no percentual de retração entre os grupos ($p > 0,05$), com Cardíaco = [$t(18) = 1,455$; $P = 0.163$]; Esplênico = [$t(18) = 1,497$; $P = 0.152$]; Hepático: [$t(18) = 1,121$; $P = 0.277$]; Nervoso: [$t(18) = 1,371$; $P = 0.187$]; Pulmonar: [$t(18) = 1,544$; $P = 0.140$]; Renal: [$t(18) = 2,136$; $P < 0.052$].

A Análise de Variância (ANOVA) de uma via foi utilizada para investigar diferenças entre os tecidos dentro de cada grupo. No grupo E12, o teste ANOVA revelou que não houve diferenças significativas entre os tecidos ($F = 1,248$; $p = 0,300$). Resultados semelhantes foram observados no grupo E48P ($F = 0,761$; $p = 0,582$). Os resultados indicam que, apesar das diferenças observadas entre os tecidos na média de retração, estas não foram estatisticamente significativas para ambos os grupos.

Os valores percentuais médios de retração por área \pm desvio padrão dos tecidos são apresentados na Tabela 8, sendo estes obtidos a partir da diferença percentual da área (cm^2) do antes da impregnação e depois da cura medida pelo programa ImageJ. Os valores de retração percentual e desvio padrão foram arredondados para uma casa decimal.

Tabela 8. Valores médios das áreas (cm²) antes da impregnação (APre) e após a cura (APost), retração média percentual (RM) e desvio padrão da média (DPM) dos diferentes tecidos plastinados com E12 e E48P.

	Tecido	N	APre (cm²)	APost (cm²)	RM (%)	DPM
E12	Todos	72	1,319	1,19	9,7	0,4
	Cardíaco	12	1,248	1,131	9,0	1,0
	Pulmonar	12	0,633	0,569	9,9	1,0
	Renal	12	0,603	0,541	9,9	1,2
	Hepático	12	3,793	3,422	10,0	0,8
	Esplênico	12	0,586	0,529	9,7	1,0
	Nervoso	12	1,050	0,950	9,5	1,3
E48P	Todos	72	1,179	1,084	8,8	0,4
	Cardíaco	12	0,795	0,729	8,3	1,0
	Pulmonar	12	0,905	0,820	9,4	1,1
	Renal	12	0,742	0,680	8,4	1,9
	Hepático	12	3,237	2,947	9,0	1,9
	Esplênico	12	0,362	0,330	8,8	1,3
	Nervoso	12	1,036	0,945	8,8	0,9

Fonte: do próprio autor.

As percentagens de retração médias encontradas nos tecidos em cada epóxi foram bem próximas entre si, com menos de 1% de diferença entre a maior e a menor média. Embora não tenha sido encontrada diferença significativa, a maior retração tecidual verificada foi no tecido hepático (10,0% ± 0,8) para o E12 e no hepático e pulmonar (9,2% ± 1,9 e 9,2% ± 1,1) para o E48P. Já a menor retração encontrada foi no tecido cardíaco para ambos os grupos (9,0 e 8,3 para E12 e E48P, respectivamente). Além disso, o epóxi E48P apresentou retração menor em comparação ao E12 para todos os tecidos analisados.

O trabalho de Monteiro *et al.* (2022) demonstrou que os diferentes tipos de tecidos biológicos tendem a ter diferentes níveis de retração na etapa de

impregnação forçada utilizando-se o polímero silicone. O trabalho propôs que os principais fatores que influenciam na diferença de retração entre os tecidos são a composição bioquímica dos tecidos, a estrutura extracelular e a superfície de contato de impregnação. A composição tecidual é um importante fator para o nível de retração, uma vez que a presença de maior quantidade de água tecidual normalmente causa uma maior retração, visto que a água será substituída por acetona e posteriormente pelo polímero. Além da água, parte dos lipídios também é removida dos tecidos na desidratação por serem solubilizados em acetona (SORA *et al.*, 2002). Já a estrutura ou matriz extracelular é diferente para cada tipo de tecido, contendo diferentes constituintes de tecido conjuntivo, de proteínas estruturais e macromoléculas em geral (JUDAS *et al.*, 2012), influenciando na rigidez do tecido, ou seja, suscetibilidade a uma maior ou menor retração. A superfície de contato permite uma área maior de troca entre a acetona no tecido e o polímero à sua volta na etapa de impregnação. Contudo, não se verificou diferença estatística de retração entre os tecidos analisados. Provavelmente, a superfície de contato foi tão elevada em relação ao volume tecidual nas secções finas (2-3 mm), que os outros fatores citados foram minimizados e, com isso, o epóxi permeou o tecido com muita facilidade. A retração causada pela própria cura do polímero não foi considerada relevante por ser inferior a 0,5%.

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a retração tecidual em diferentes tipos de tecidos plastinados com epóxi como aqui apresentado, mas somente estudos sobre retração de fatias como um todo (SOAL *et al.*, 2010; SORA *et al.*, 2002). Ainda assim, são escassos os trabalhos que tratam de retração na plastinação com epóxi. Sora *et al.* (2002) encontrou em seu trabalho que a retração média das secções em epóxi E12 variaram entre 2-3% na etapa de desidratação em baixas temperaturas (-25 °C) e 4-6% na etapa de impregnação forçada/cura. Contudo, a menor retração encontrada no trabalho de Sora foi atribuída ao maior tempo de impregnação (48 horas), a partir da adição do composto Biodur® AE10 e da diminuição da temperatura de impregnação (5 °C), que estendeu o tempo de cura. Existe uma relação bem estabelecida na literatura sobre o tempo ou velocidade de impregnação e a retração tecidual: quanto menor a velocidade de impregnação, mais eficiente a troca da acetona pelo polímero nos

tecidos e, conseqüentemente, menor a retração (MONTEIRO *et al.*, 2022; DELPUPO *et al.*, 2024; JUVENATO *et al.*, 2023; STARCIK; HENRY, 2015).

De acordo com von Hagens (1985), no geral as retrações teciduais da ordem de 10% são inerentes ao processo de plastinação. Valores de encolhimento menores que 10% para a técnica com E12 e outras resinas representam bons resultados para o processo de plastinação (SORA *et al.*, 2015).

Embora a literatura mostre que a viscosidade de um polímero é diretamente proporcional à retração dos tecidos biológicos na etapa de impregnação (MONTEIRO *et al.*, 2022; STARCIK; HENRY, 2015), a diferença de viscosidade dos epóxis testados (0,91 e 0,17 mPa.s para E12 e E48P em 25 °C, respectivamente, conforme seção tópico 5.3.2) não foi determinante para uma diferença de retração. Como já mencionado, provavelmente a grande superfície de contato e a pequena espessura das fatias minimizaram outros fatores que aumentariam a retração.

Diante dos resultados encontrados na comparação das retrações teciduais, o E48P se mostrou uma alternativa plausível, com taxas de retração iguais às de referência.

6.2.3. Análise Microscópica estereoscópica e confocal de fluorescência

A fim de se verificar a possível aplicação do epóxi E48P em pesquisas microscópicas, uma das principais utilizações da plastinação com epóxi (E12), foi feita a avaliação comparativa geral de tecidos presentes nas secções com o auxílio de microscopia. As Figuras 21, 22 e 23 apresentam os tecidos plastinados com o E12 e E48P cujas imagens foram obtidas via microscopia estereoscópica com aumento de 8x e no confocal com autofluorescência nos comprimentos de onda de excitação de 488 nm e aumento de 10x. As imagens A e B apresentam a mesma região da secção plastinada com E12, bem como as imagens C e D com o E48P.

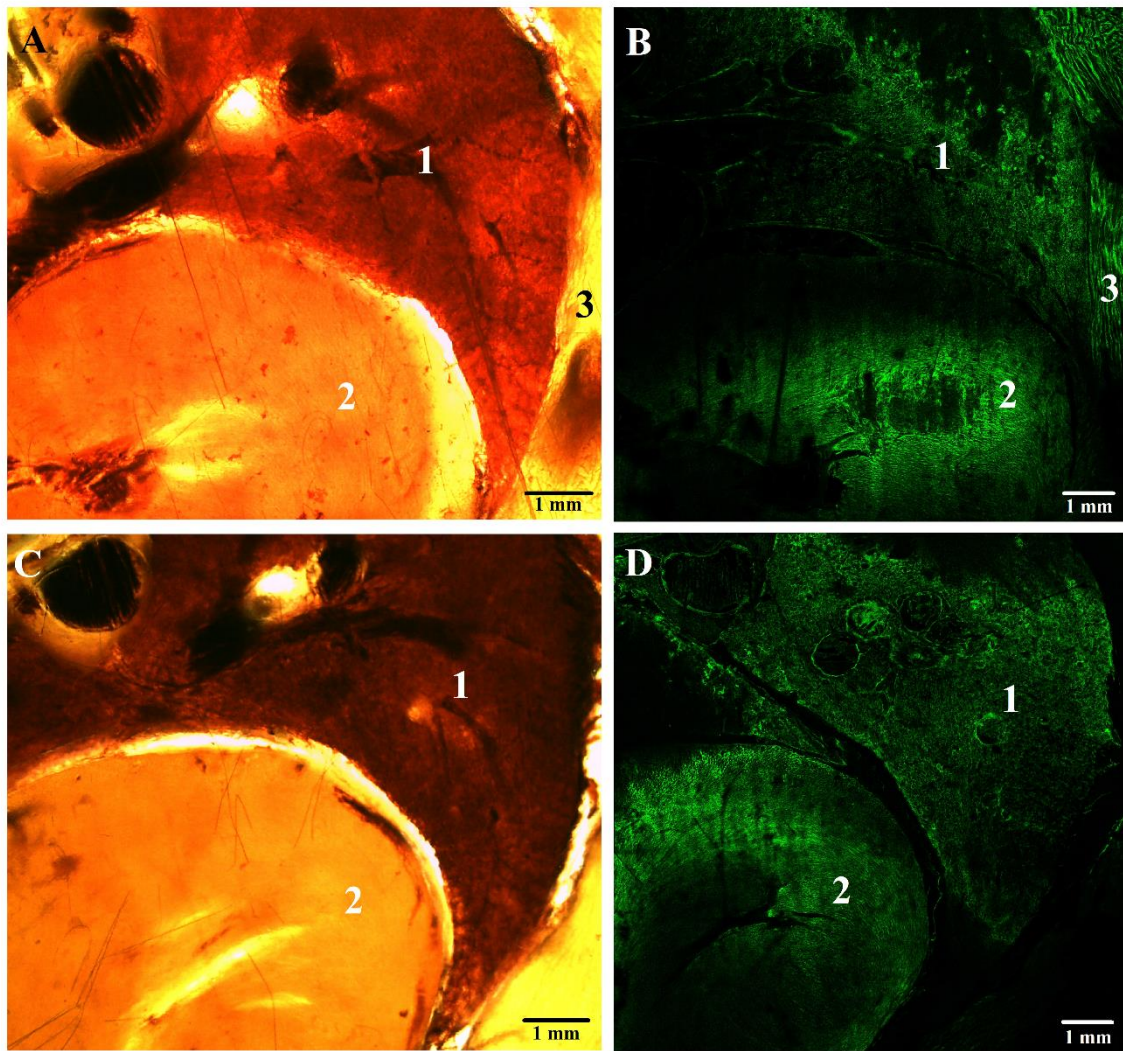


Figura 21. Secções transversais de tórax de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D) vistas em estereomicroscopia com aumento de 8x (A e C) e microscopia confocal (B e D) com aumento de 10x. Legenda: 1 = tecido pulmonar; 2 = tecido cardíaco; 3 = tecido muscular.

Fonte: do próprio autor.

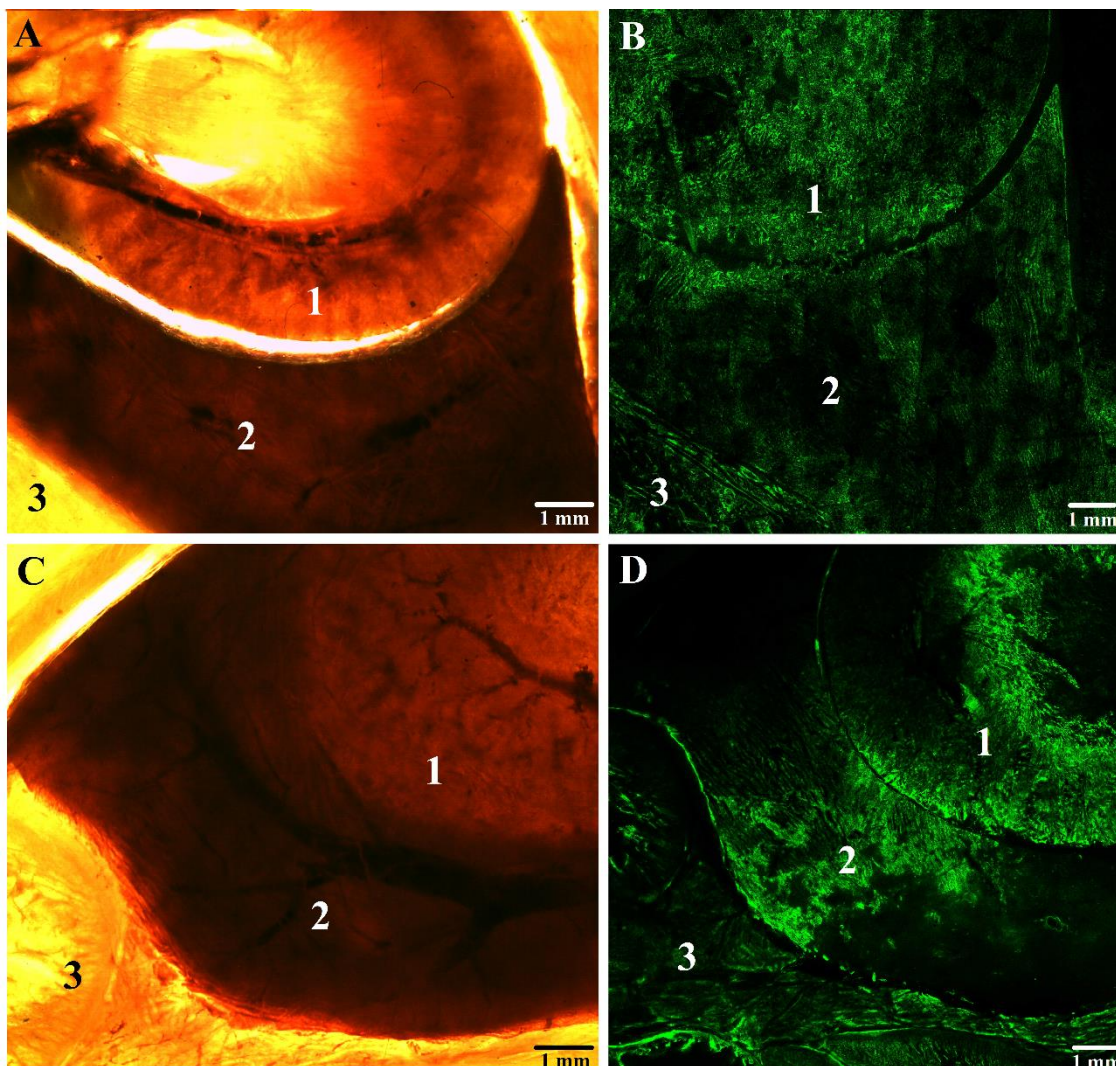


Figura 22. Secções transversais de abdome de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D) vistas em estereomicroscopia (A e C) e microscopia confocal (B e D). Legenda: 1 = tecido renal; 2 = tecido hepático; 3 = tecido do intestino.

Fonte: do próprio autor.

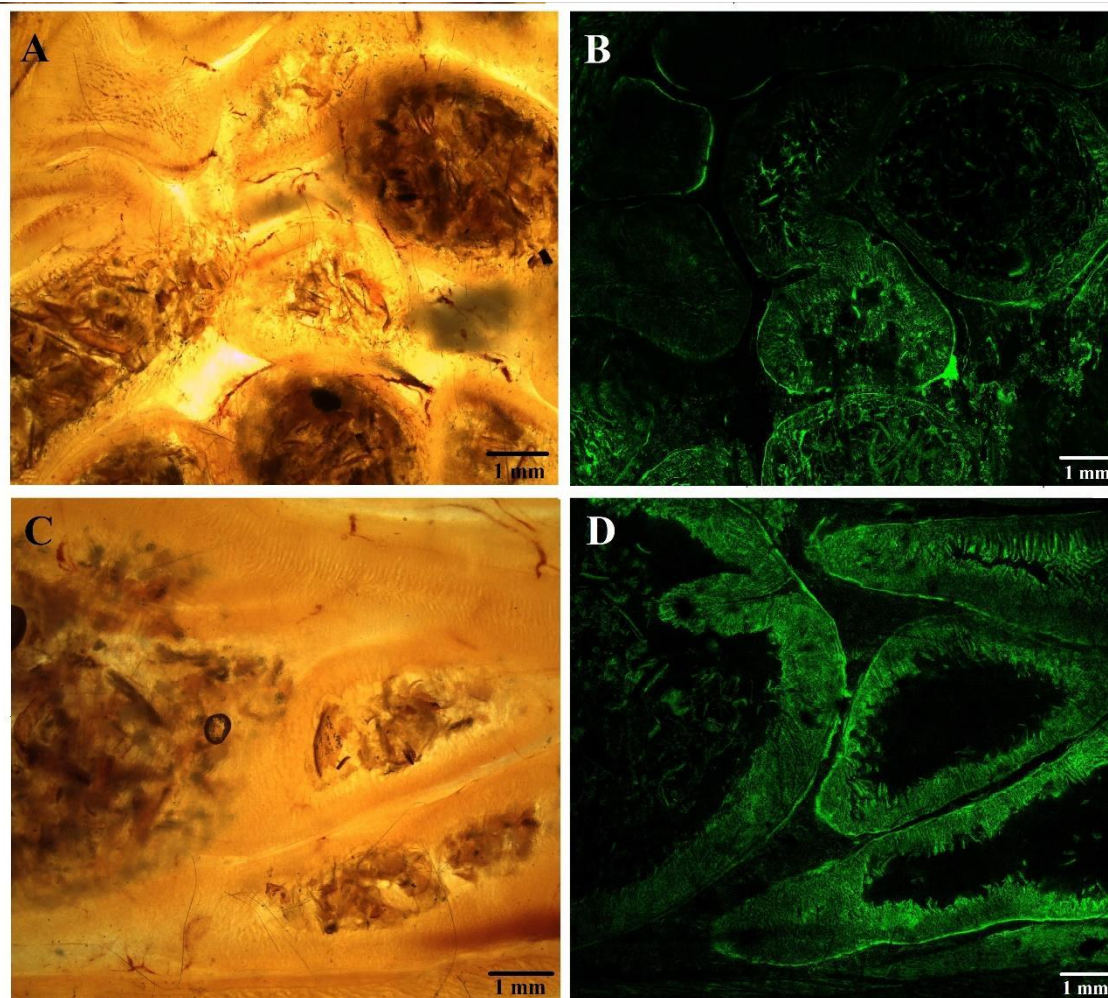


Figura 23. Secções transversais de abdome de rato Wistar plastinadas com epóxi E12 (A e B) e E48P (C e D), contendo tecido intestinal, vistas em estereomicroscopia (A e C) e microscopia confocal (B e D).

Fonte: do próprio autor.

Nas imagens de microscopia com o estereoscópio foi possível identificar claramente a organização tecidual das amostras e observar em detalhes as delimitações e estruturas macroscópicas dos tecidos, principalmente os rios em tecido conjuntivo. Estruturas cavitárias como vasos sanguíneos e bronquíolos se mostraram evidentes e de fácil visualização em determinados pontos (Figuras 21, 22 e 23).

O processo de plastinação resulta em tecido conjuntivo endogenamente autofluorescente na excitação de 488 nm, especialmente o colágeno e elastina (PHILLIPS *et al.*, 2002). A partir da análise das secções dos dois grupos de epóxi

observou-se no geral uma maior autofluorescência nos tecidos plastinados com o epóxi E48P. Nestas amostras, as estruturas histológicas e os limites entre os tecidos foram mais bem definidos. Como uma possibilidade para isso tem-se que o epóxi E48 com o plastificante possui um índice de refração (IR) menor do que o E12, aumentando o contraste entre o meio e os tecidos e influenciando menos na captação das imagens de autofluorescência (BRAGHIROLI *et al.*, 2022; RITO; PINEIRO-MACEIRA, 2009). Além disso, segundo Saify e Tiwarital (2020), para a obtenção de imagens de melhor qualidade (em termos de contraste e brilho) o IR do meio no qual a amostra está inserida deve ser o mais próximo do IR do tecido biológico, sendo que as proteínas têm um IR de 1,53 (VOROS, 2004). Ambas as ideias foram corroboradas pelo teste de índice de refração realizado, no qual o IR medido do E12 foi de 1,55 e do E48 com plastificante foi de 1,53. Estas afirmações também explicam o fato de o tecido adiposo não ter uma boa transparência nas secções plastinadas com epóxi e precisar ser desengordurado na desidratação, uma vez que o IR deste tecido tem valor de 1,467 (VON HAGENS; TIEDMANN; KRIZ, 1987) (Figura 18). Em comparação, o silicone PDMS tem um IR de 1,402 e, por isso, produz sempre espécimes opacos (MARKS *et al.*, 2008).

Em geral, na microscopia de fluorescência com o confocal não foram observadas distorções ou outras alterações morfológicas significativas nos tecidos plastinados com os epóxios, preservando-se bem a estrutura típica de cada tecido. Comparativamente, os tecidos se apresentaram bem semelhantes entre os grupos experimentais de epóxi.

A Figura 24 mostra imagens Z-stack obtidas com o microscópio confocal de tecido intestinal de rato Wistar plastinados com os epóxios E12 e E48P.

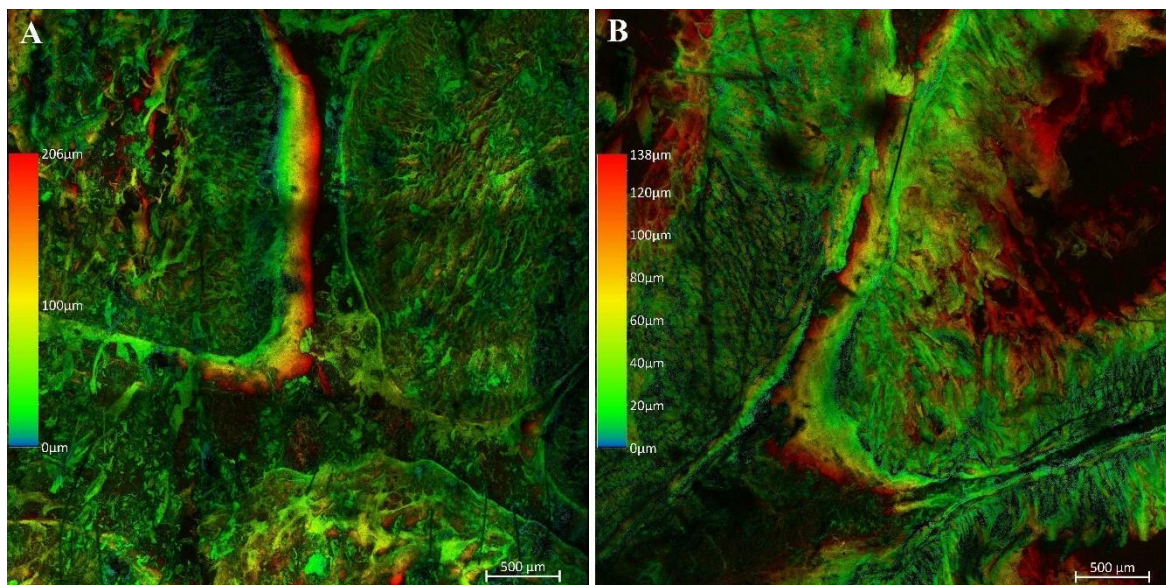


Figura 24. Imagens Z-stack de intestino de rato Wistar plastinado com o epóxi E12 (A) e E48P (B), evidenciando a profundidade das regiões analisadas em micrômetros (μm).

Fonte: do próprio autor.

As imagens Z-stack mostram em grande qualidade e detalhamento a arquitetura tecidual do intestino formada por tecido conjuntivo em diferentes níveis das secções plastinadas, não sendo possível distinguir visualmente entre os grupos. Foi possível também a reconstrução 3D da área capturada pelo microscópio.

A microscopia é uma importante ferramenta na pesquisa de tecidos biológicos a partir de secções plastinadas em epóxi (XU *et al.*, 2018; NASH *et al.*, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2002), principalmente para descrições anatômicas e de reconstrução tecidual em 3D. A precisão das reconstruções 3D a partir de material plastinado com epóxi é comparável às obtidas de imagens de Tomografia Computadorizada ou Ressonância Magnética e se apresenta como uma ótima opção para análises morfométricas (SORA *et al.*, 2019; BHATTARAI; STAAT, 2018; XU *et al.*, 2018). É possível encontrar na literatura diversos trabalhos investigativos nos quais se utiliza a microscopia confocal e estereoscópica para descrições anatômicas básicas e aplicadas à clínica de estruturas constituídas principalmente de tecido conjuntivo, como ligamentos e fâscias. O trabalho de Liugan e colaboradores (2017), por exemplo, objetivou revelar a configuração das estruturas

fibrosas dentro do canal óptico e sua relação com o nervo óptico, espaço subaracnóideo intracraniano (SAS) e artéria oftálmica para testar a hipótese de que líquido cefalorraquidiano não flui continuamente entre o SAS intracraniano e o SAS dentro da bainha do nervo óptico. Já o trabalho de Nash *et al.* (2005) tinha como objetivo investigar a organização tridimensional dos tecidos conjuntivos no triângulo anterior do pescoço a fim de responder se realmente existe a camada de revestimento da fáscia cervical profunda. Em ambos os trabalhos, a principal ferramenta de investigação foi a microscopia confocal em espécimes plastinados com resina epóxi. Portanto, diante dos achados deste trabalho, acredita-se que pesquisas aplicadas (clínicas) poderão ser feitas com o E48P.

Embora não realizada nesta pesquisa, a utilização de fluorocromos específicos podem ser usados para destacar tecidos específicos nas imagens do confocal e corantes histológicos para o estereomicroscópio para investigações básicas ou clínicas (NASH *et al.*, 2005).

As secções plastinadas examinadas não foram fixadas com formalina para melhor manutenção da cor dos tecidos e para não interferir na análise microscópica confocal. A literatura indica que o formaldeído também tem propriedades autofluorescentes (NASH *et al.*, 2005).

Diante dos resultados encontrados, o uso do epóxi E48P se mostrou efetivo na plastinação de tecidos biológicos e uma alternativa na substituição do epóxi de referência (E12) em avaliações macro e microscópicas. Outra grande vantagem do uso da resina E48P refere-se ao seu custo, uma vez que o seu sistema completo (epóxi + plastificante + endurecedor) apresentaram custo pelo menos 50% menor comparado ao da Biodur.

6.3. ANÁLISE DAS RESINAS E SEUS ENDURECEDORES

6.3.1. Caracterização Reológica

As medidas das taxas de cisalhamento e de viscosidade foram utilizadas para a construção das curvas de viscosidade dinâmica a 20 °C de cada polímero, mostrando que, as viscosidades das resinas E12 e E48 diminuíram com o aumento da taxa de cisalhamento, ou seja, não demonstram um comportamento Newtoniano

dentro dos parâmetros utilizados. As viscosidades destas resinas se mostraram constantes entre as taxas de cisalhamento de 100 a 200 s^{-1} e o desvio do comportamento Newtoniano ocorre em taxas de cisalhamento maiores (Figuras 25 e 26). A queda da viscosidade observada ocorre devido à destruição temporária e gradativa das forças de interação (van der Waals) existentes na resina não curada gerada pelo cisalhamento e, nesse sentido, quanto maior o cisalhamento, menor as forças de interação (LEVY NETO; PARDINI, 2006). Já a resina E48P (proporção resina e plastificante de 65:35, respectivamente) demonstrou um comportamento semelhante a um fluido Newtoniano, dentro dos parâmetros utilizados nos testes, provavelmente determinado pelo comportamento do plastificante adicionado. Mas, vale ressaltar que, uma expansão da taxa de cisalhamento pode demonstrar um comportamento diferente do visto (Figura 27).

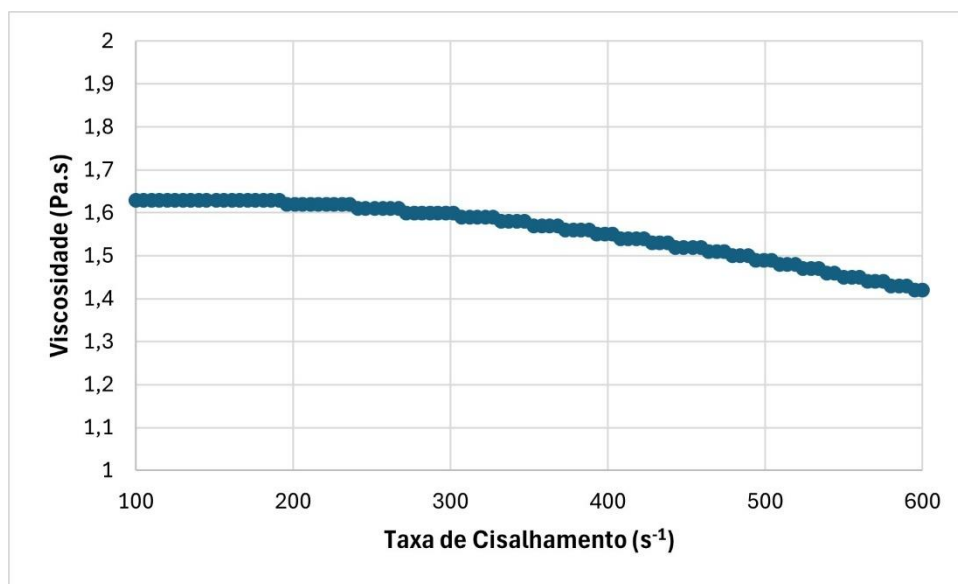


Figura 25. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi Biodur E12.

Fonte: do próprio autor.

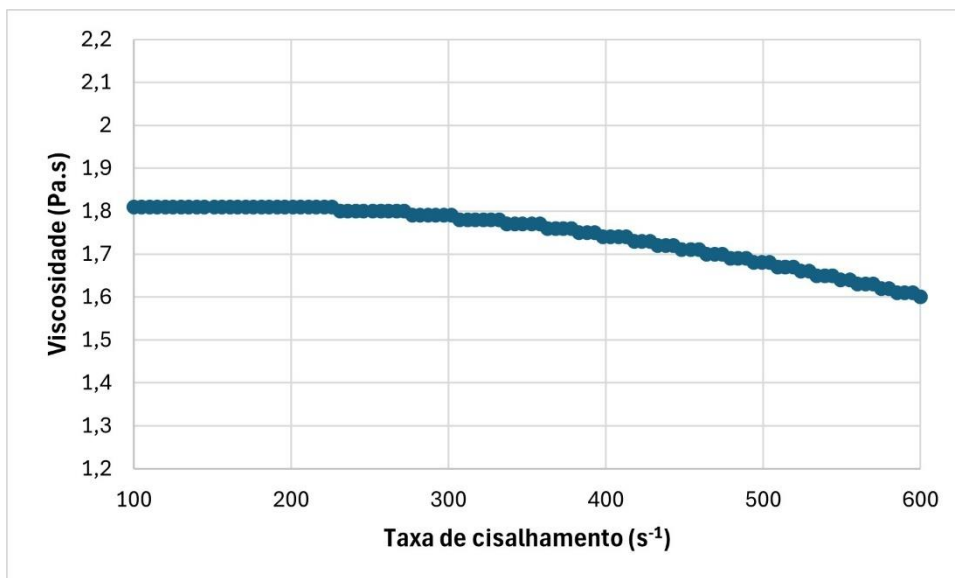


Figura 26. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi E48.

Fonte: do próprio autor.

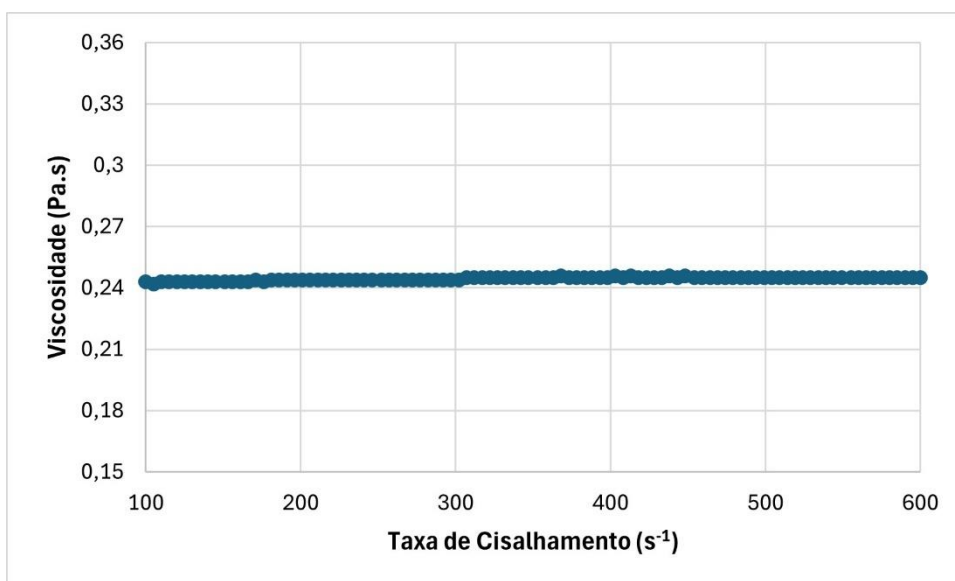


Figura 27. Viscosidade dinâmica em função da taxa de cisalhamento do epóxi E48P.

Fonte: do próprio autor.

Os valores médios das viscosidades foram calculados a partir das 100 medidas realizadas variando-se a taxa de cisalhamento para cada valor de temperatura, como demonstrados na Tabela 9. Os valores de desvio-padrão (DP)

das médias das viscosidades não foram apresentados na tabela por serem de ordem muito diminuta (menores que 0,1).

Tabela 9. Valores médios das viscosidades dinâmicas (VD) (Pa.s) e o seus desvios padrão (DP) dos epóxis E12, E48 e E48P para cada temperatura pré-definida.

Temperatura (°C)	Viscosidade (Pa.s)		
	E12	E48	E48P
20	1,56	1,75	0,24
22,5	1,21	1,41	0,21
25	0,91	1,10	0,17
27,5	0,71	0,86	0,14
30	0,56	0,68	0,12
32,5	0,45	0,55	0,10
35	0,35	0,44	0,09

Fonte: do próprio autor.

Dentre os resultados obtidos destacam-se na faixa de temperatura de 25 °C. De acordo com os dados do fabricante, a resina E48 deve apresentar viscosidade entre 0,6-1,6 Pa.s e o valor encontrado foi de 1,1 Pa.s, portanto dentro da faixa preconizada. Já para a resina E12, o valor encontrado foi de 0,91 Pa.s, sendo que o fabricante informa que a faixa de viscosidade deve ser de 3,0-4,0 Pa.s, portanto menor que o valor sugerido. A resina E48P apresentou o menor valor de viscosidade, da ordem de 0,17 Pa.s. Neste caso o baixo valor de viscosidade está associado ao uso de plastificante, como já visto, na proporção de 65:35 m/m para resina e plastificante, respectivamente. A adição do plastificante na resina E48 resultou na diminuição de sua viscosidade em 5 a 7 vezes dentro do intervalo de temperatura medido.

A Figura 28 mostra as curvas de variação da viscosidade nas diferentes temperaturas para as resinas E12, E48 e E48P.

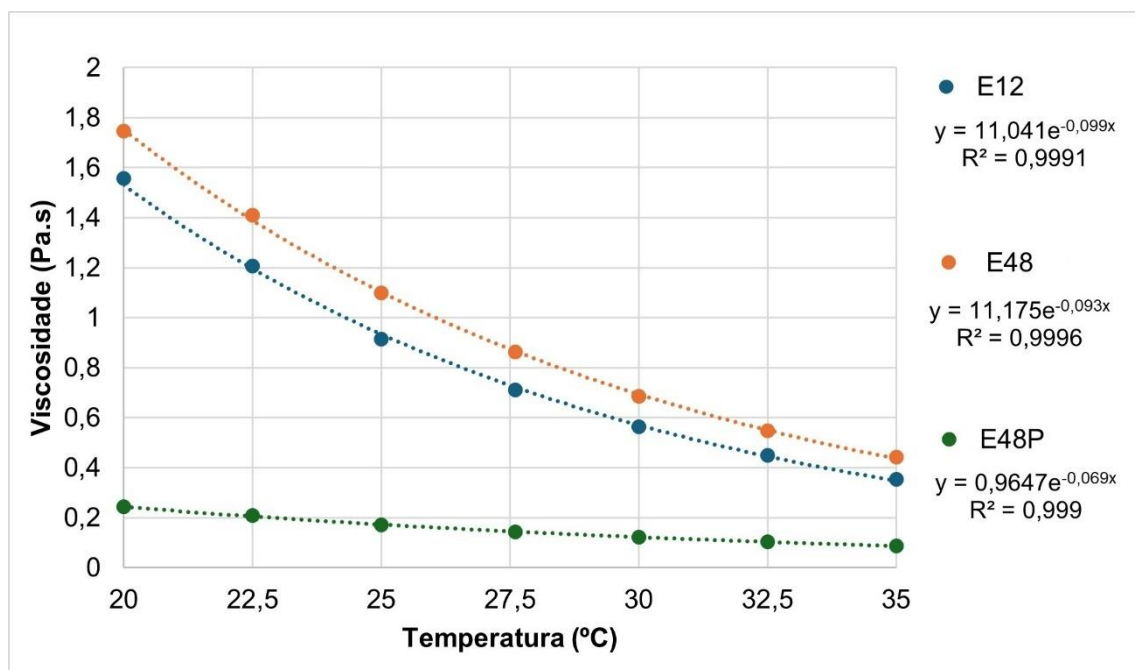


Figura 28. Curva viscosidade *versus* temperatura dos epóxis E12, E48 e E48P (proporção resina e endurecedor de 65:35, respectivamente), incluindo a equação da curva (y) e o coeficiente de determinação (R²).

Fonte: do próprio autor.

Na Figura 28 nota-se o efeito da temperatura no comportamento da viscosidade de cada epóxi e, verifica-se que o aumento da temperatura promove a diminuição da viscosidade. Esse padrão também foi observado nos trabalhos de Monteiro *et al.* (2018) e Sora (2015) para o polímero PDMS utilizado na plastinação. Portanto, quanto maior a temperatura, menos íngreme se torna a curva da viscosidade das resinas. Os valores de R² do gráfico dos epóxis são 0,9991, 0,9996 e 0,999, para o E12, o E48 e o E18P, respectivamente. Esses valores mostraram um grau de exatidão da equação superior a 99,9%, sendo um grau de associação bastante elevado (COSENTINO; MOURA JUNIOR; COSTA, 2013). O epóxi E48 possui uma viscosidade maior em todas as temperaturas analisadas quando comparado ao E12. Dentre os principais fatores que determinam a viscosidade de uma resina epóxi pode-se citar o tamanho e complexidade das moléculas poliméricas e a quantidade de diluente ou aditivos da formulação (GORNINSKI, 2002; BRYDSON, 1999). A partir da ficha técnica, sabe-se que o E12 possui um diluente adicionado à formulação, que reduz a sua viscosidade, e, além

disso, o E48 pode ter uma massa molar média (ou tamanho da cadeia polimérica) maior do que a resina da Biodur, aumentando a sua viscosidade.

Por outro lado, a resina E48P possui a menor viscosidade em todas as temperaturas, devido a menor viscosidade do plastificante (0,02 Pa.s a 25°C, conforme o fabricante) e ao aumento do distanciamento entre as moléculas da resina, com diminuição das interações intermoleculares e consequente redução da viscosidade (CANEVAROLO JR, 2002).

Nota-se que com o aumento da temperatura a diferença entre as viscosidades das resinas E12 e E48 aumentou. Para fins comparativos, na temperatura de 20 °C, a E48 apresentou viscosidade 1,12 vezes maior do que a resina E12, enquanto em 35 °C a relação de viscosidades foi de 1,25 vezes. Em contrapartida, na comparação entre a E48P e as outras resinas tem-se que o aumento da temperatura diminui a diferença das viscosidades, sendo a diferença entre o E12 e E48P na temperatura de 20 °C de 6,38 vezes e em 35 °C de 4,05 vezes. Provavelmente o plastificante apresenta uma menor variação de viscosidade no gradiente de temperatura testado comparado às resinas, por ter uma menor cadeia, influenciando na diferença de viscosidade da mistura com o E48.

Como já mencionado, estudos têm mostrado que quanto maior a viscosidade do polímero, quer seja pela massa molecular média ou pela redução da temperatura, maior a tendência à retração dos tecidos biológicos na etapa de impregnação forçada da plastinação (STARCIK; HENRY, 2015; MONTEIRO *et al.*, 2022). Entretanto, outro fator importante na retração é a dimensão ou espessura do tecido biológico, uma vez que o aumento da superfície de contato tecidual (ou espessura) tende a diminuir o efeito da diferença de viscosidade do polímero no encolhimento dos espécimes (MONTEIRO *et al.*, 2022), como já visto nesta pesquisa. Ou seja, na plastinação com epóxi em que são utilizadas fatias finas de 2-3 mm apenas, as diferenças de viscosidades entre duas resinas não acarretaram diferença de retração. Portanto, a área de contato, associado a espessura da secção, foi o fator determinante para a não diferença significativa de retração entre os epóxis.

Em tecidos mais espessos (>5 mm), o aumento da temperatura da mistura de impregnação com epóxi poderia reduzir a viscosidade e, consequentemente, a

retração tecidual. Contudo, a mistura é composta pela resina e o endurecedor e o aumento da temperatura acelera a velocidade da reação de cura, diminuindo o tempo de impregnação disponível antes do endurecimento da resina. Como já mencionado, idealmente a impregnação dos tecidos biológicos com epóxi deve demorar pelo menos entre 10-12 horas.

6.3.2. Caracterização por Espectroscopia de Absorção no Infravermelho

A Figura 29 mostra os espectros dos endurecedores E1 da Biodur e o E5 de comercialização nacional e a Tabela 10 demonstra as principais bandas observadas nos espectros e seus prováveis grupos funcionais correspondentes.

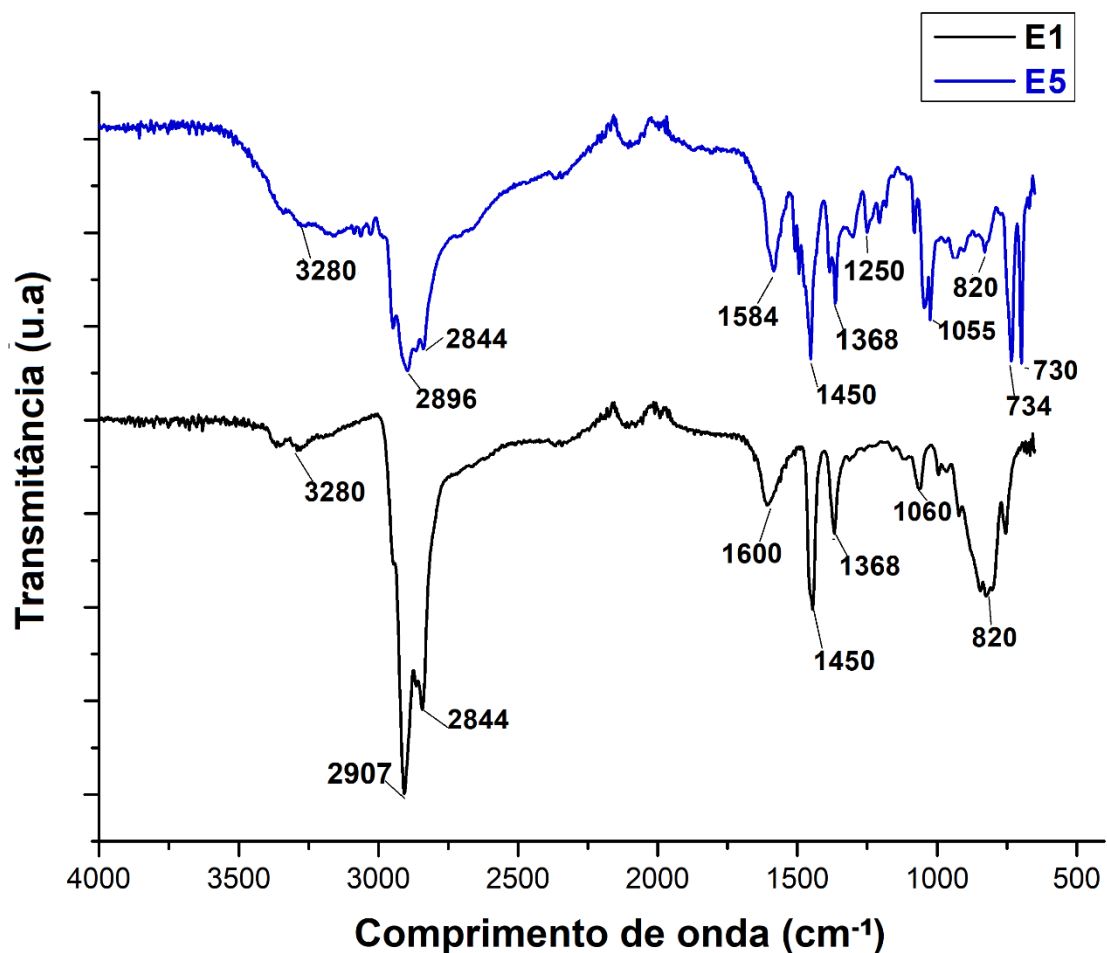


Figura 29. Espectros de absorção no infravermelho dos endurecedores E1 e E5.

Fonte: do próprio autor.

Tabela 10. Principais bandas observadas nos espectros dos endurecedores E1 e E5, seus prováveis grupos químicos e modos vibracionais correspondentes.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo/Modo Vibracional
700-600	C-H fora do plano do anel aromático
820-730	Dobramento N-H
1250-1020	Estiramento C-N alifáticas
1335-1250	Estiramento N-H aromáticas
1370-1360	Deformação CH ₃
1400-1200	Dobramento CH ₃
1455-1440	C=C de anel aromático
1590-1490	Deformação N-H de amina secundária
1640-1500	Dobramento N-H de amina primária
2830-2910	Alongamento C-H de CH ₂ e CH aromático e alifático
3500-3000	Estiramento N-H

Fonte: do próprio autor; Pavia *et al.* (2008); Vertuccio *et al.* (2023).

A partir dos espectros da Figura 29, nota-se que existem algumas semelhanças entre as bandas de absorção dos endurecedores E1 e E5, especificamente nas regiões de 1600-1580, 1450 e 1368 cm⁻¹, que estão relacionados com a deformação angular da ligação NH de aminas primárias, estiramento da ligação insaturada de anel aromático e deformação do grupo metil, respectivamente. Já as principais diferenças aparecem nas bandas na faixa de número de onda de 3.500 a 3.000 cm⁻¹ e 820 a 730 cm⁻¹, referentes ao estiramento e dobramento do grupo N-H de aminas primárias e secundárias, respectivamente (Figura 29) (FOUCHAL *et al.*, 2004; GONZÁLEZ *et al.*, 2012). Ademais, o E5 apresenta bandas bem definidas e praticamente ausentes no E1 na região de 820-730 cm⁻¹, referente ao dobramento N-H (RAMÍREZ-HERRERA *et al.*, 2021), e 1250-1020 cm⁻¹, referentes à ligação C-N em aminas alifáticas (FOUCHAL *et al.*, 2004). Esses picos podem indicar que o endurecedor E5 possui mais grupos amina e, com isso, influenciar na maior velocidade de cura da resina.

Em endurecedores a base de amina, o estiramento N-H se localiza entre 3.500 e 3.000 cm⁻¹, sendo que as aminas primárias mostram um duplete (refletindo

os modos de alongamento simétrico e antissimétrico), como verificado no espectro do E1. Já as aminas secundárias mostrariam uma única banda. No caso do E5 há uma sobreposição de picos nesta região, dificultando a visualização de seus limites e intensidades.

O espectro de IV do E1 é compatível com o composto 2,2'-Dimetil-4,4'-metileno bis(ciclohexilamina) (DMMB-CHA) (Figura 30) e o do E5 é compatível com uma amina cicloalifática, compostos estes especificados nas formulações descritas nas fichas técnicas dos produtos. Embora o componente principal do endurecedor da Biodur também seja uma diamina cicloalifática, pode-se verificar a partir dos espectros que os endurecedores E1 e E5 trata-se de espécies químicas distintas e/ou formulações diferentes.

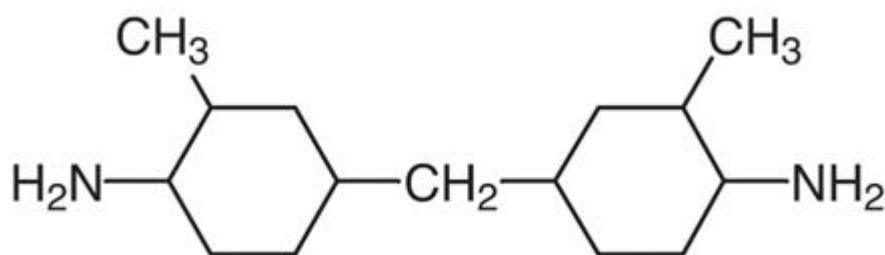


Figura 30. Estrutura química do 2,2'-Dimetil-4,4'-metileno bis(ciclohexilamina) (DMMB-CHA), principal constituinte do E1.

Fonte: FOUCHAL *et al.* (2004).

Outra comparação estabelecida está relacionada com a diferenciação das resinas epóxi E12, E48 E E48P, cujos espectros de absorção no infravermelho são apresentados na Figura 31. Destaca-se que os espectros foram obtidos para as resinas não curadas.

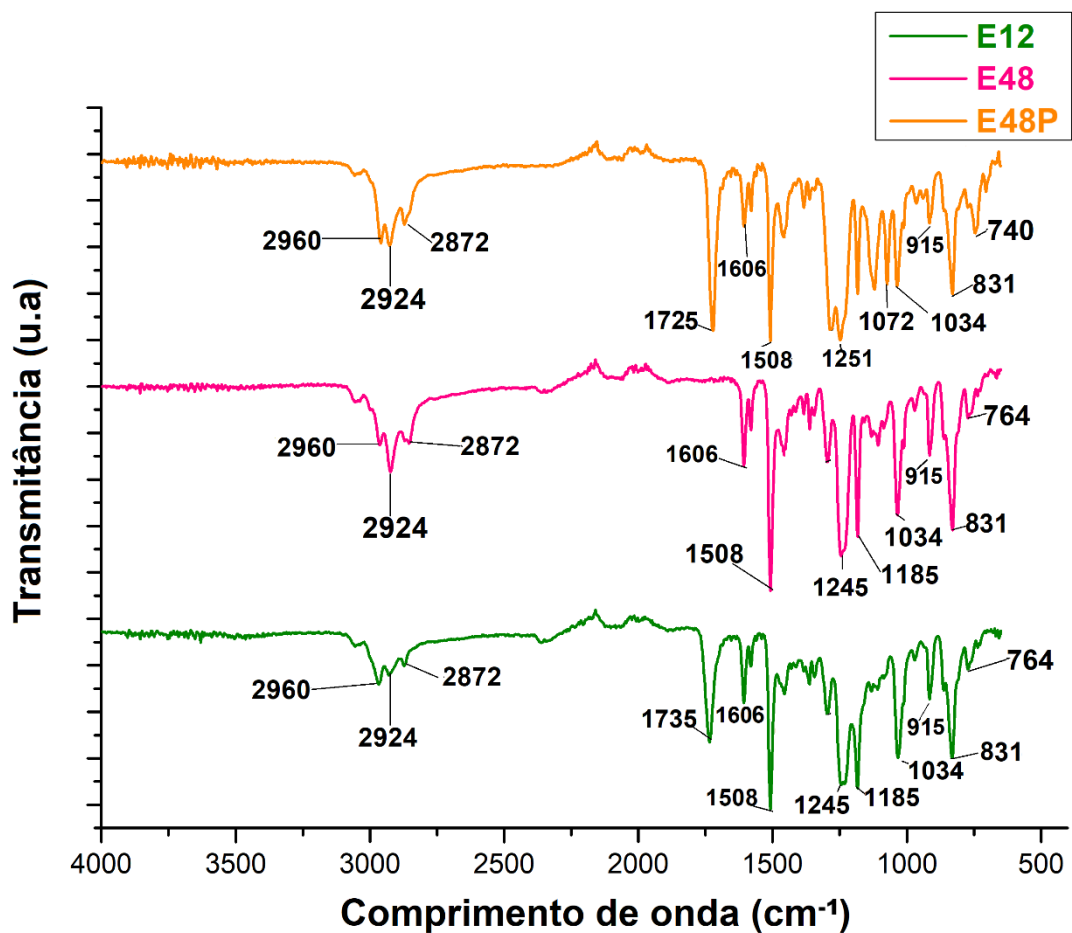


Figura 31. Espectros de absorção no infravermelho das resinas epóxi E12, E48 e E48P não curadas.

Fonte: do próprio autor.

Já na Figura 32 é possível observar os espectros de infravermelho das resinas E12, E48 e E48P curadas. Para a cura foram utilizadas as proporções discriminadas pelos fabricantes (28, 43 e 28% de endurecedor para as resinas E12, E48 e E48P, respectivamente).

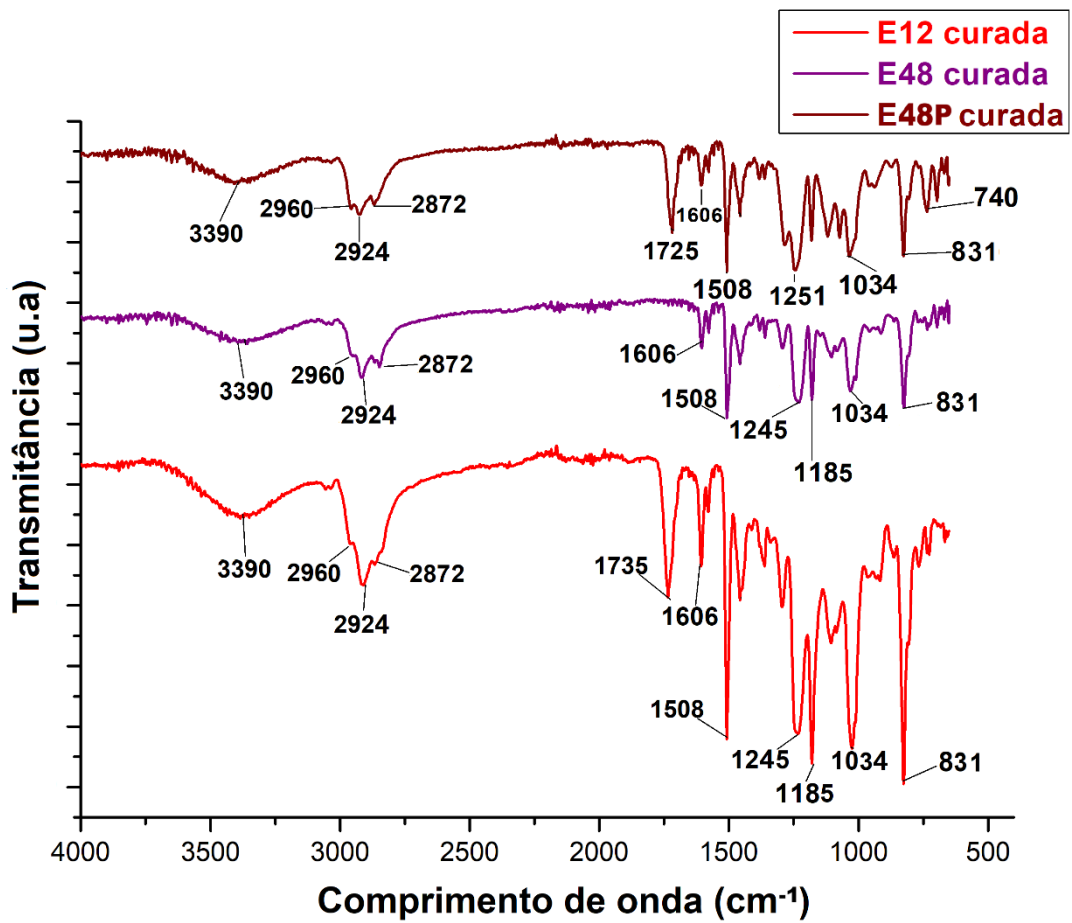


Figura 32. Espectros de absorção no infravermelho das resinas epóxi E12, E48 e E48P curadas.

Fonte: do próprio autor.

A Tabela 11 apresenta as principais bandas de absorção e as respectivas ligações dos grupos de átomos das resinas epóxi.

Tabela 11. Principais bandas observadas nos espectros das resinas epóxis E12, E48 e E48P, seus prováveis grupos químicos e modos vibracionais correspondentes.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo/Modo Vibracional
3500	Estiramento O-H
3500-3200	Estiramento N-H
2960-2870	Alongamento C-H de CH ₂ e CH aromático e alifático
1606	Alongamento C=C de anéis aromáticos
1510-1500	Alongamento C-C de aromático
1350-1280	Amina aromática/composto de amina
1125 e 1185	Alongamento C-O benzênico
915, 1255-1245	Alongamento C-O e vibração de grupo oxirano
831-1034	Alongamento C-O-C do grupo oxirano
740-775	Rotação "rocking" CH ₂

Fonte: Adaptado de GONZÁLEZ *et al.* (2012), DAGDAG *et al.* (2018), SUKANTO *et al.* (2023); DIXIT *et al.* (2010).

De acordo com os resultados encontrados nos espectros de absorção no infravermelho das resinas pode-se notar que o E12, E48 e E48P apresentaram as mesmas bandas características para as ligações químicas existentes no grupo do epóxi mais comum e usual, o diglicidil éter de bisfenol A (DGEBA) (Figura 33) (GONZALEZ *et al.*, 2012).

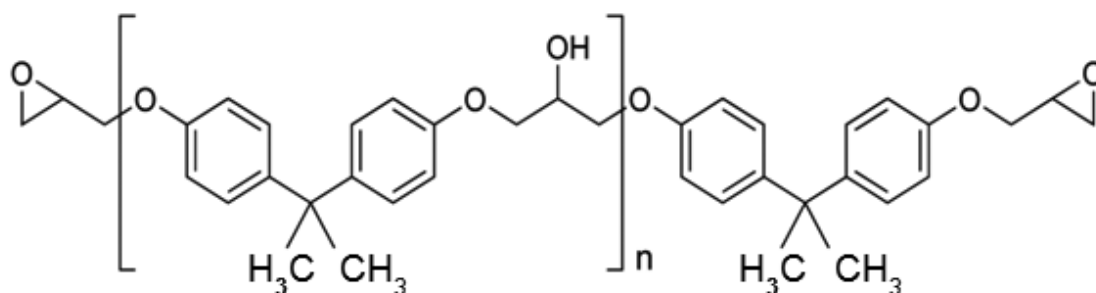


Figura 33. Estrutura química da resina DGEBA.

Fonte: Jilani *et al.* (2015).

De forma geral, os espectros das resinas puras e curadas são semelhantes, apresentando diferenças pontuais na definição dos picos. Como observado nas Figura 31 e 32, uma das principais diferenças entre os espectros das resinas é que a E12 e a E48P possuem uma banda de absorção bem definida na região de número de onda de 1735-1720 cm^{-1} , ausente na resina E48. Esta região de absorção pode estar relacionada com a presença de grupos ésteres existentes na estrutura do plastificante da resina (WEI *et al.*, 2018). Além disso, no caso da resina E48P também existe uma banda na região de 1072 cm^{-1} , característico do plastificante utilizado neste estudo.

Os picos presentes nos números de onda 1606, 1508, 1245, 1034, 915 e 831 cm^{-1} são os principais pontos observados para determinação da presença de grupos epóxi. Todas as resinas apresentaram picos nestes comprimentos de onda.

A banda larga no número de onda de 3500-3200 cm^{-1} , referente à ligação N-H e presença de hidroxila está presente nas resinas curadas. Em geral, os grupamentos amina e hidroxila são provenientes da reação de cura do epóxi com o endurecedor a base de amina (Figura 34). Contudo, a presença de ligação N-H no espectro pode indicar também a presença de endurecedor que não reagiu com o epóxi (em excesso) (FOUCHAL *et al.*, 2004). Na faixa do infravermelho médio, a quantificação de OH para verificação do grau de reticulação é bastante difícil por causa do formato e da sobreposição da banda com outros picos (3500 cm^{-1}) (GONZALEZ *et al.*, 2012).

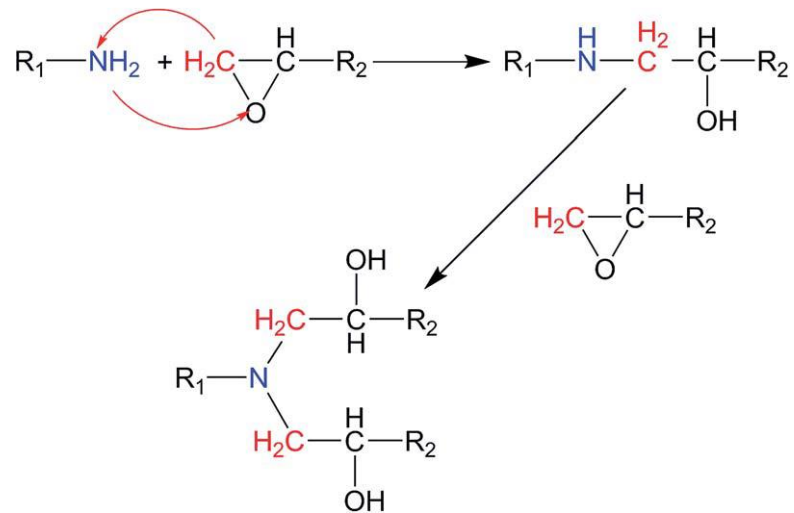


Figura 34. Ilustração esquemática do mecanismo de reação de cura da polimerização epóxi-amina.

Fonte: Li *et al.*, 2016.

Observa-se também a diferença dos picos nas regiões 2860–2880, 2920–2940, 2950–2970 cm^{-1} referentes à ligação C-H de CH_2 e CH aromático e alifático, devido possivelmente a diferença de configuração dos grupamentos metil e anéis aromáticos entre as cadeias poliméricas puras e curadas (Figuras 31 e 32).

As Figuras 35, 36 e 37 mostram, sob outra perspectiva, os espectros de cada resina pura e curada.

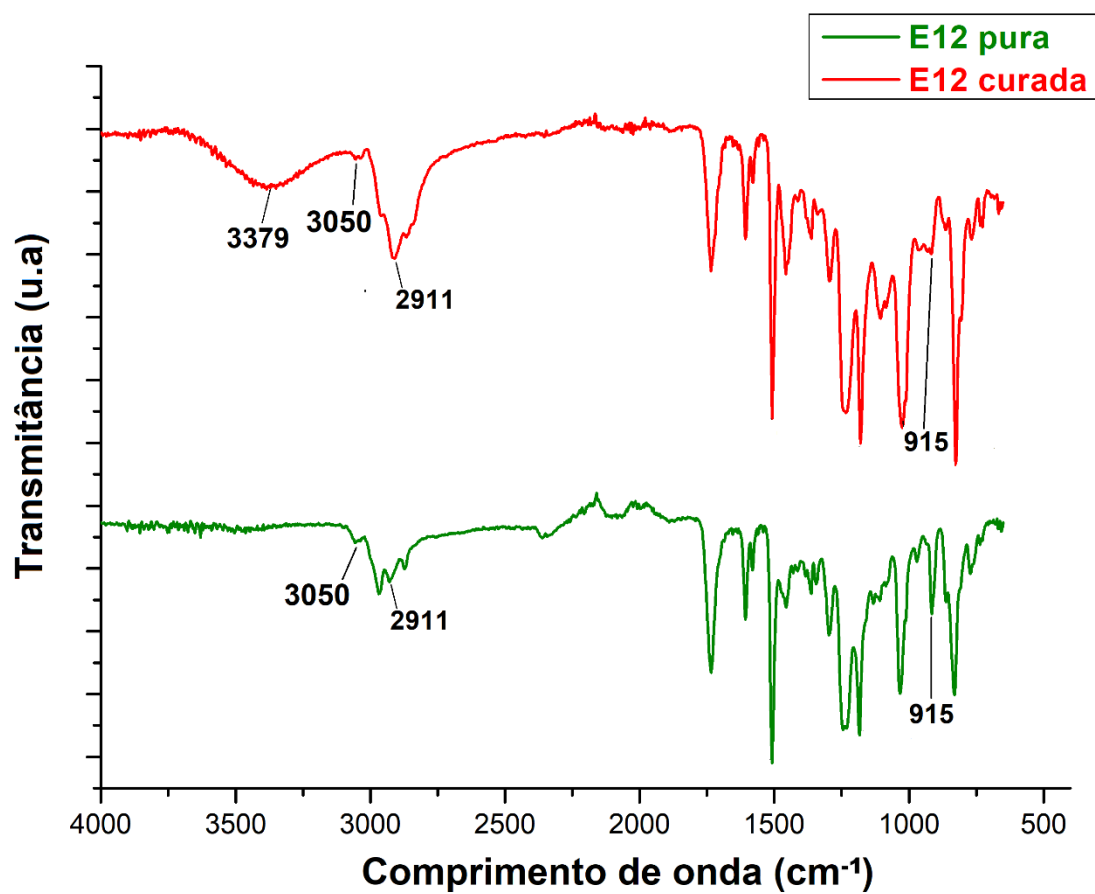


Figura 35. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E12 não curada e curada.

Fonte: do próprio autor.

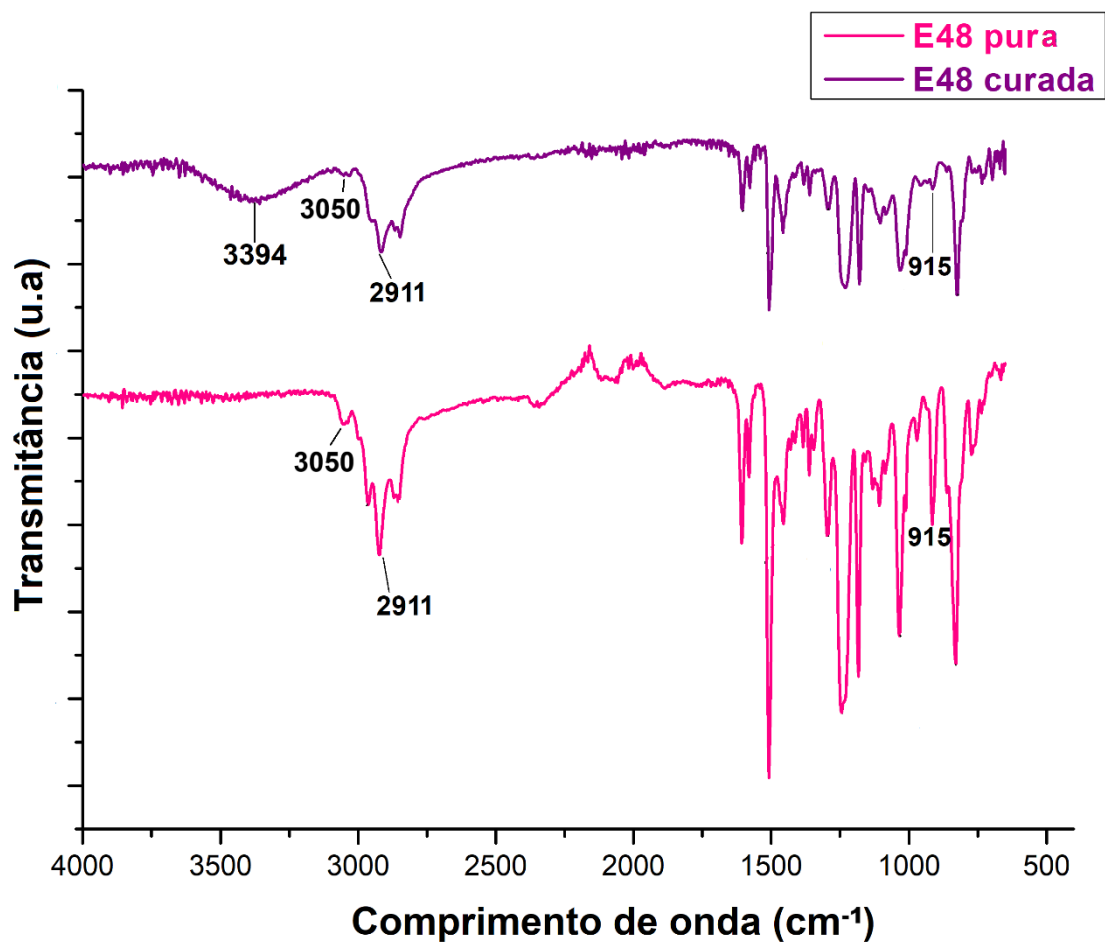


Figura 36. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E48 não curada e curada.

Fonte: do próprio autor.

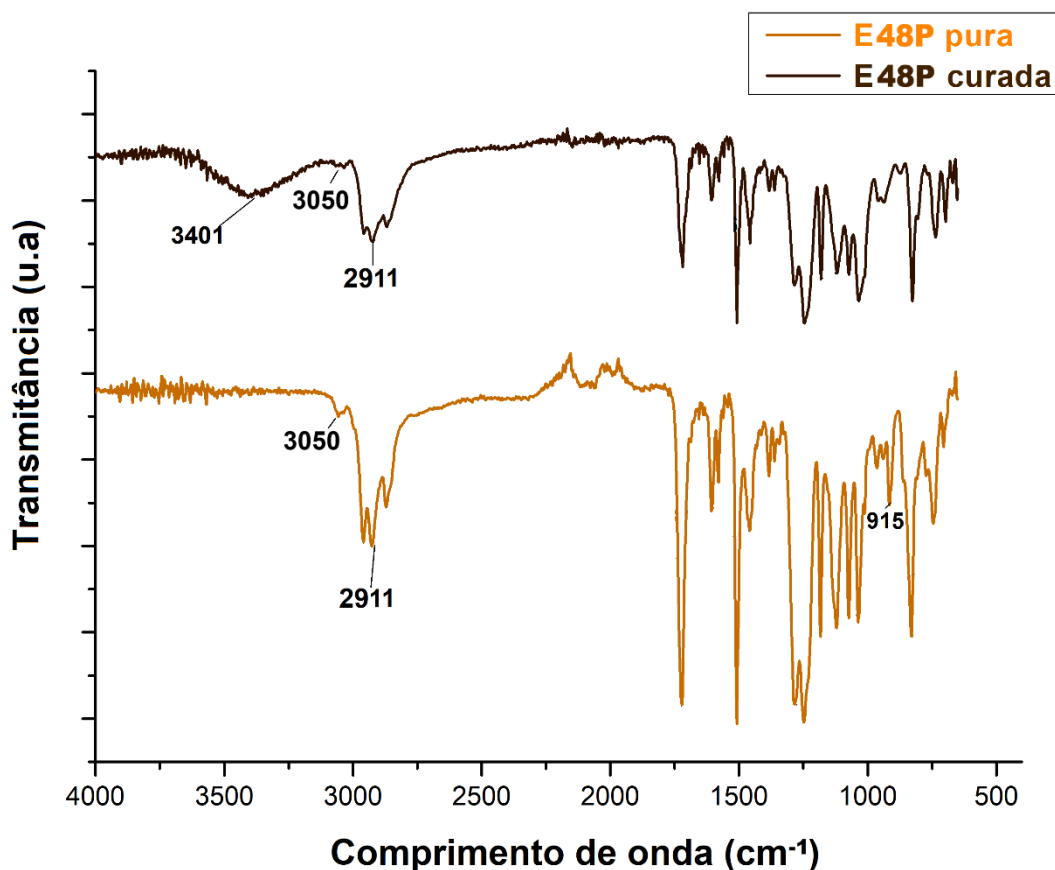


Figura 37. Espectros de absorção no infravermelho da resina epóxi E48P não curada e curada.

Fonte: do próprio autor.

De acordo com González *et al.* (2012) e Fouchal *et al.* (2004), a cura de resinas epóxi com diaminas pode ser explicada como uma reação em duas etapas: primeiramente, o grupo epóxi reage com uma amina primária produzindo uma amina secundária e, na segunda etapa, reage com outro grupo epóxi produzindo uma amina terciária (Figura 34). Nessas reações, pode-se observar a cura através da diminuição da concentração de grupamentos epóxi, aminas primárias ou até aminas secundárias e aumento de aminas terciárias. Com isso, geralmente, a diminuição de grupos epóxi pode ser observado nas áreas das bandas de absorção em aproximadamente 3055-3050 cm^{-1} (alongamento CH do grupo oxirano terminal) e em 915-900 cm^{-1} (deformação de C-O do oxirano), os dois principais pontos indicativos da presença de anéis oxiranos em resinas epóxi na faixa do infravermelho médio (GONZÁLEZ *et al.*, 2012; SABU *et al.*, 2020). Entretanto,

segundo Gonzalez *et al.* (2012) e Li *et al.* (2016), a observação da banda em 3055-3050 cm^{-1} não é muito útil, pois sua intensidade é baixa e está muito próxima das fortes absorções de O-H (banda larga em $\approx 3500 \text{ cm}^{-1}$), sendo utilizada apenas como um indicativo qualitativo da presença de grupos epóxi em monômeros de baixo grau de polimerização. Nesse sentido, como pode ser visto nas Figuras 35 a 37, no comprimento de onda de 915-900 cm^{-1} os picos das resinas E12, E48 e E48P desaparecem após a cura, indicando as reações de polimerização. Já para a região em 3050 cm^{-1} não se observou diferença significativa entre as resinas curadas e líquidas.

Outra diferença importante e bem definida entre as duas resinas puras e curadas é a banda larga e de baixa intensidade presente nos espectros dos epóxios curados na faixa de 3500 e 3200 cm^{-1} . Como já mencionado, esta faixa de número de onda corresponde ao grupamento amina (estiramento N-H) sobreposta ao pico do grupo hidroxila (estiramento O-H em 3500 cm^{-1}), indicando a cura da resina a partir da abertura do anel epóxido e/ou indicando a presença de endurecedor não reagido (FOUCHAL *et al.*, 2004).

A faixa de 3000-2800, referentes à ligação C-H de CH_2 e CH aromático e alifático, apresenta diferenças entre as resinas curadas e líquidas pelas novas configurações das cadeias poliméricas após a reação de cura (Figuras 35 a 37).

6.3.3. Análise Termogravimétrica

As Figuras 38 e 39 mostram as curvas termogravimétricas (TG) dos endurecedores E1 e E5, respectivamente. A linha pontilhada dos termogramas mostra a derivada da massa (DTG).

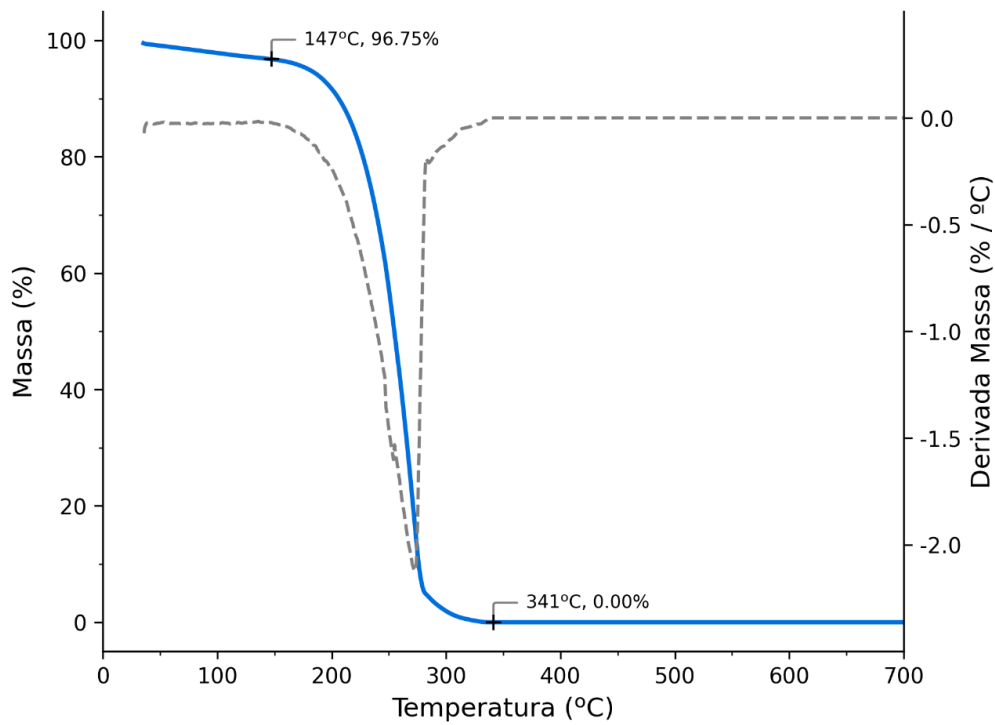


Figura 38. Curva termogravimétrica do Endurecedor E1.

Fonte: do próprio autor.

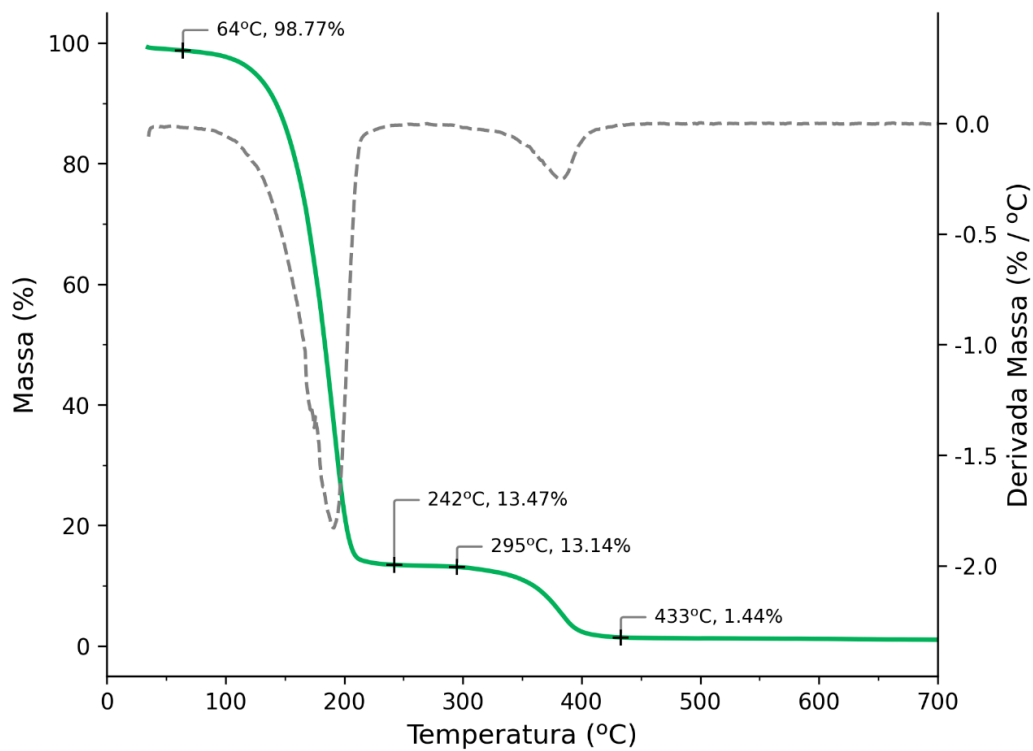


Figura 39. Curva termogravimétrica do Endurecedor E5.

Fonte: do próprio autor.

A maior diferença observada nas curvas de TG entre os produtos da Biodur e os alternativos se devem aos endurecedores. O endurecedor E1 apresenta somente um ponto de perda de massa na faixa de temperatura entre 147 e 341 °C com perda total da massa (96,75%), enquanto o E5 possui duas perdas de massa bem definidas entre 64-242 °C com diminuição de 85,3% e 295-433 °C com perda de 11,7%. As curvas de TG e DTG dos endurecedores sugerem que a formulação do E1 é monocomponente ou que todos os seus componentes são decompostos termicamente na mesma faixa de temperatura e, no caso do E5, por apresentar duas perdas de massa pode se tratar de um sistema bicomponente. Além disso, o E1 mostrou-se mais estável e resistente à degradação térmica. Na temperatura máxima testada (700 °C), o endurecedor E1 foi totalmente decomposto termicamente, não havendo presença de resíduo. Contudo, o endurecedor E5 apresentou 1,44% de resíduo carbonáceo ao final da análise.

O estudo de Li *et al.* (2014) sobre a estabilidade térmica (análise termogravimétrica) do composto puro 2,2'-Dimetil-4,4'-metileno bis(ciclohexilamina) (DMMB-CHA), principal constituinte do E1, mostrou que o termograma possui apenas um ponto de perda de massa entre as temperaturas de 150 a 350 °C, com valor de massa residual perto de zero, corroborando com os dados obtidos do endurecedor E1 (147 a 341 °C). Embora tenha sido constatado que o E1 tenha uma formulação com um componente majoritário, a ficha técnica do endurecedor mostra que pode haver a presença de até 20% de outras substâncias não especificadas, como aditivos.

Já a presença de dois pontos distintos de perda de massa na curva termogravimétrica do E5 indica perda de massa a partir da amina cicloalifática modificada na primeira curva (64-242 °C) (Li *et al.*, 2014) e a presença de outra(s) substância(s) com ponto de ebulição/pirólise maior (295-433 °C), como solventes ou aditivos (Figura 39).

As Figuras 40 e 41 mostram as curvas termogravimétricas das resinas E12 e E48 não curadas, respectivamente.

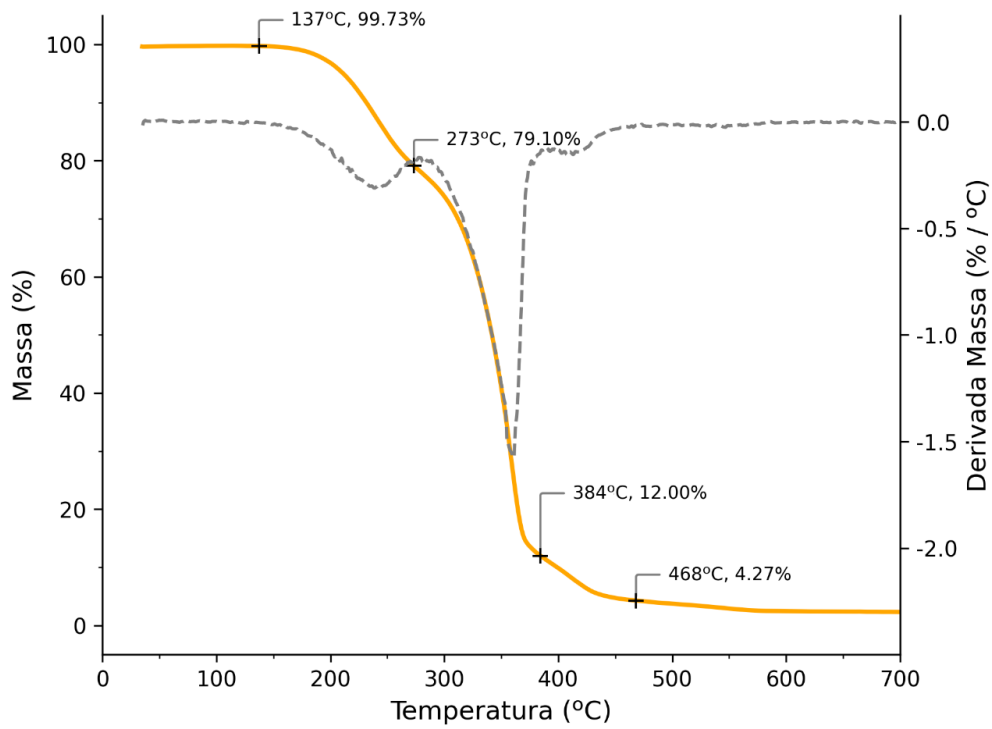


Figura 40. Curva termogravimétrica da resina E12 não curada.
 Fonte: do próprio autor.

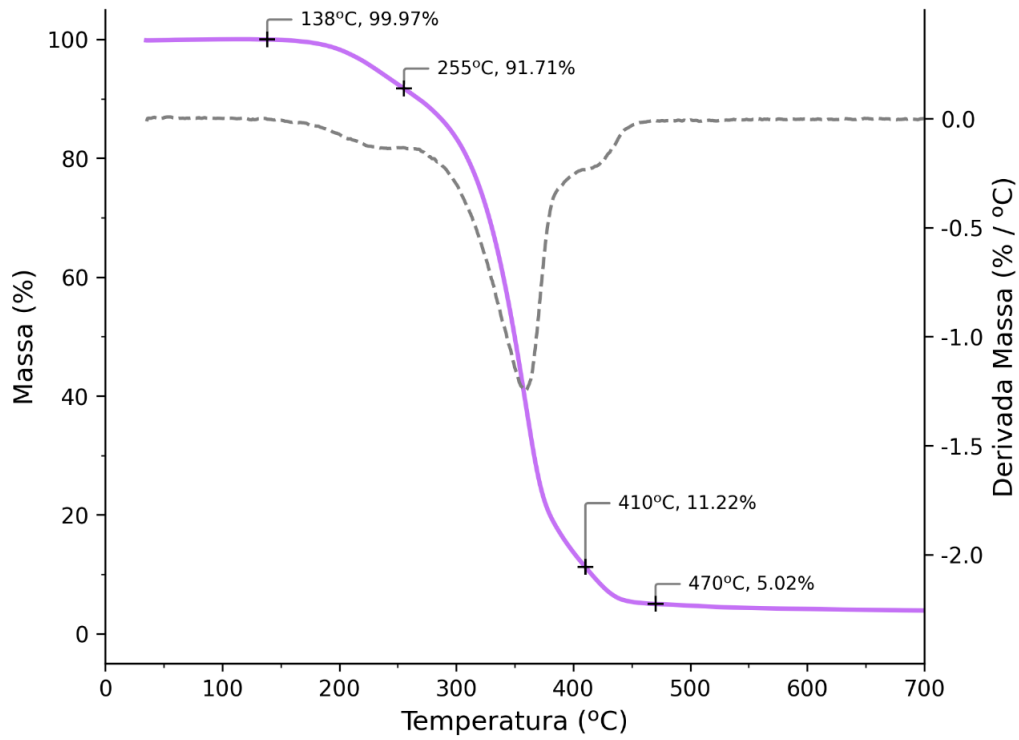


Figura 41. Curva termogravimétrica da resina E48 não curada.
 Fonte: do próprio autor.

A partir das curvas termogravimétricas é possível verificar que existem três eventos térmicos durante o aquecimento para as duas resinas. Para a resina E12, as perdas de massa acontecem nos intervalos de temperaturas de 137-273 °C, 273-384 °C e 384-468 °C com variações percentuais mássicas de 20,6%, 67,1% e 7,7%, respectivamente. No caso da E48, os intervalos de perda de massa ocorrem em 138-255 °C, 255-410 °C e 410-470 °C com variações percentuais da ordem de 8,2%, 80,5% e 6,2%, respectivamente. Ambas as resinas têm uma perda acentuada da massa (cerca de 90%) entre as temperaturas de aproximadamente 137 a 470 °C, restando apenas 5% da massa inicial. A primeira perda de massa da resina E12 é atribuída à volatilização do plastificante usado (faixa de pirólise do componente na literatura é de 135 – 239 °C), com perda de aproximadamente 20%, compatível com a quantidade citada na ficha técnica (entre 15 e 25%). No caso da E48, o primeiro ponto é provavelmente de um componente mais volátil, como um diluente (ou plastificante) não especificado. A segunda perda de massa é relativa à pirólise do DGEBA para as duas resinas, que pode ser influenciada pela massa molecular da resina (SHOKRALLA; AL-MUAIKEL, 2010). Na última perda de massa ocorre a degradação de subprodutos remanescentes e/ou um componente de maior ponto de pirólise não identificado na formulação.

As Figuras 42 e 43 mostram as curvas termogravimétricas (TG) das resinas curadas E12 (E12/E1 na proporção de 100:28) e E48 (E48/E5 na proporção 100:43), respectivamente.

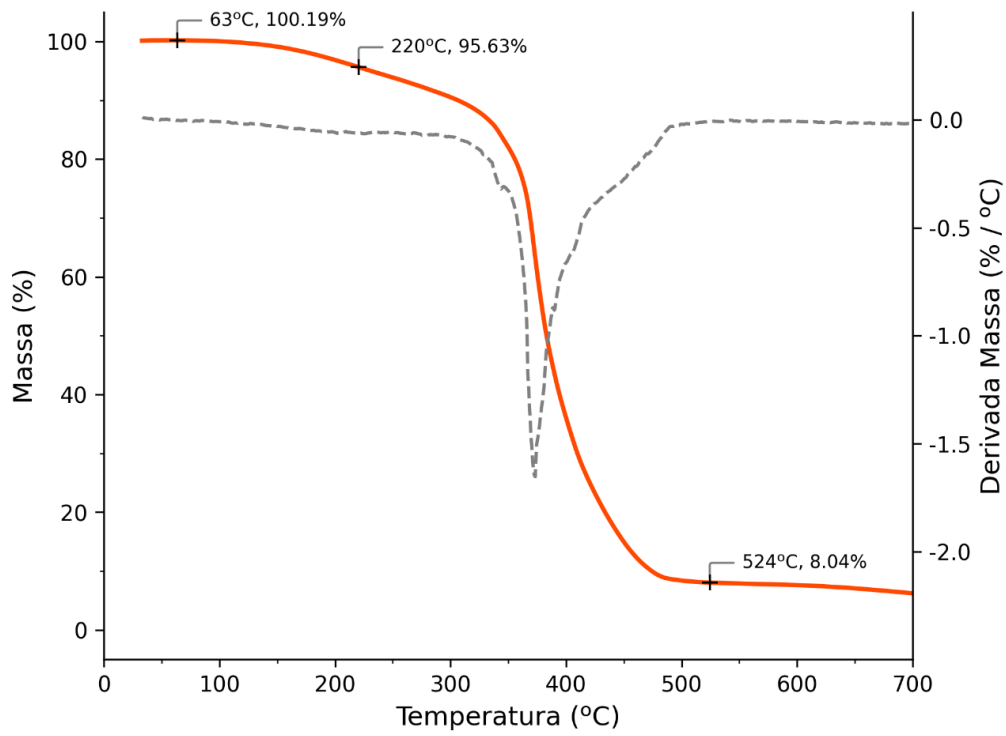


Figura 42. Curva termogravimétrica da resina E12 curada.

Fonte: do próprio autor.

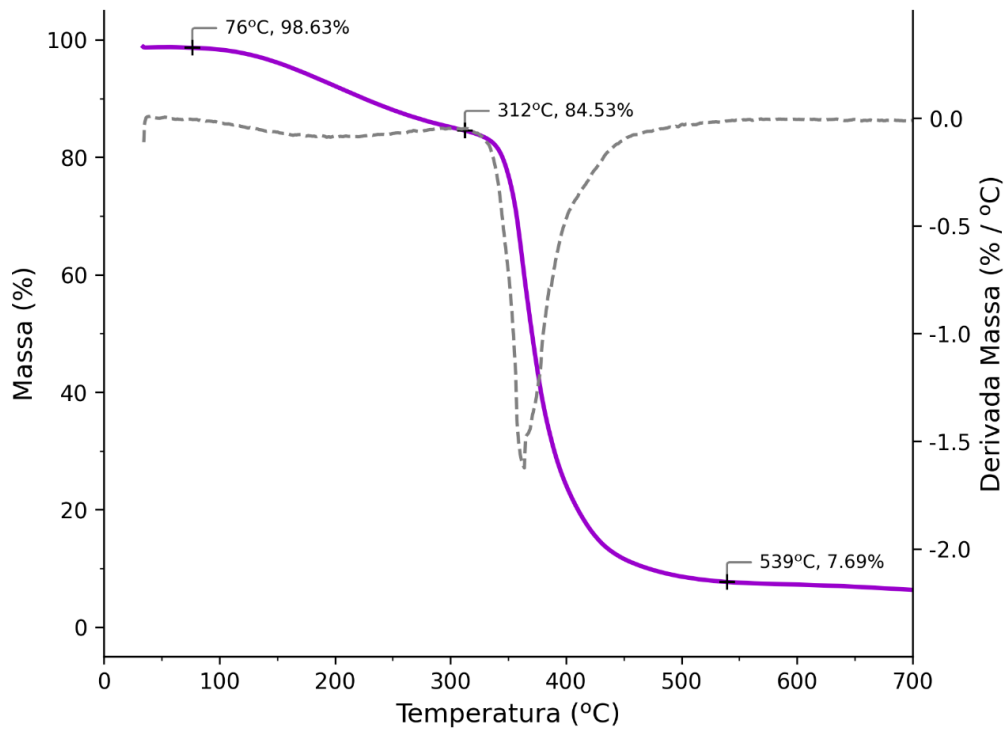


Figura 43. Curva termogravimétrica da resina E48 curada.

Fonte: do próprio autor.

Os termogramas das resinas curadas (Figura 42 e 43) apresentam dois pontos de perda de massa, sendo a E12 nas faixas de temperatura de 63-220 °C e 220-524 °C com variações mássicas percentuais de 4,4% e 87,6%, respectivamente. Já o E48 mostrou os dois pontos de perda de massa em 76-312 °C e 312-539 °C com variações percentuais de 14,1% e 76,8 % de massa, respectivamente. Ambos os polímeros curados têm uma perda acentuada da massa (70%) entre as temperaturas de aproximadamente 300 a 500 °C, a partir da qual restam cerca de 8% da massa inicial. Contudo, a resina E12 possui um início de perda de massa nos testes termogravimétricos em temperaturas menores que o alternativo, indicando uma menor estabilidade para decomposição térmica quando comparado ao epóxi da Biodur.

A primeira perda de massa observada para a E12 e E48 se deve provavelmente à decomposição térmica de aditivos voláteis das resinas curadas. Como visto nos termogramas, a resina E48 tem uma perda maior (14,1%) quando comparado à E12 (4,4%). Segundo o trabalho de Shokralla e Al-Muaikel (2010), o padrão geral de degradação térmica de uma resina DGEBA curada exhibe principalmente duas etapas com reações subsequentes. Uma perda mínima (às vezes imperceptível) de uma fração de massa em cerca de 280-320°C que pode ser explicada pela degradação inicial com a formação de olefinas pela perda do grupo hidroxila secundário da cadeia propila na resina epóxi. Na segunda etapa, uma perda acentuada ocorre a 369,2 °C, correspondente à degradação do grupo bisfenol-A. Por serem duas perdas de massa subsequentes, as curvas de TG de resinas epóxi DGEBA podem aparentar um único ponto de perda de massa para os dois componentes citados (LV *et al.*, 2012; WOO; KIM, 2021), como observado no segundo ponto de perda de massa dos termogramas das resinas E12 e E48. Vale ressaltar que o uso de diferentes agentes de cura de resina epóxi podem alterar o padrão das curvas termogravimétricas em análises calorimétricas, pois afeta drasticamente o processo de polimerização e, conseqüentemente, as propriedades térmicas do polímero curado. Cada tipo de agente de cura forma ligações químicas diferentes com a resina epóxi e, estas possuem energias de dissociação distintas, o que influencia diretamente a estabilidade térmica do polímero curado (JIANG, 2015; RAZACK; VARGHESE, 2021).

As análises termogravimétricas de uma outra resina DGEBA curada realizadas por Meng e Wang (2012), Al-Bayaty *et al.* (2020) e Bifulco *et al.* (2020) se assemelham com a curva obtida das resinas E12 e E48, no qual o ponto de perda de massa mais acentuado ocorre entre 250 e 400 °C.

A Figura 44 expõe todas as curvas termogravimétricas das resinas e endurecedores testados.

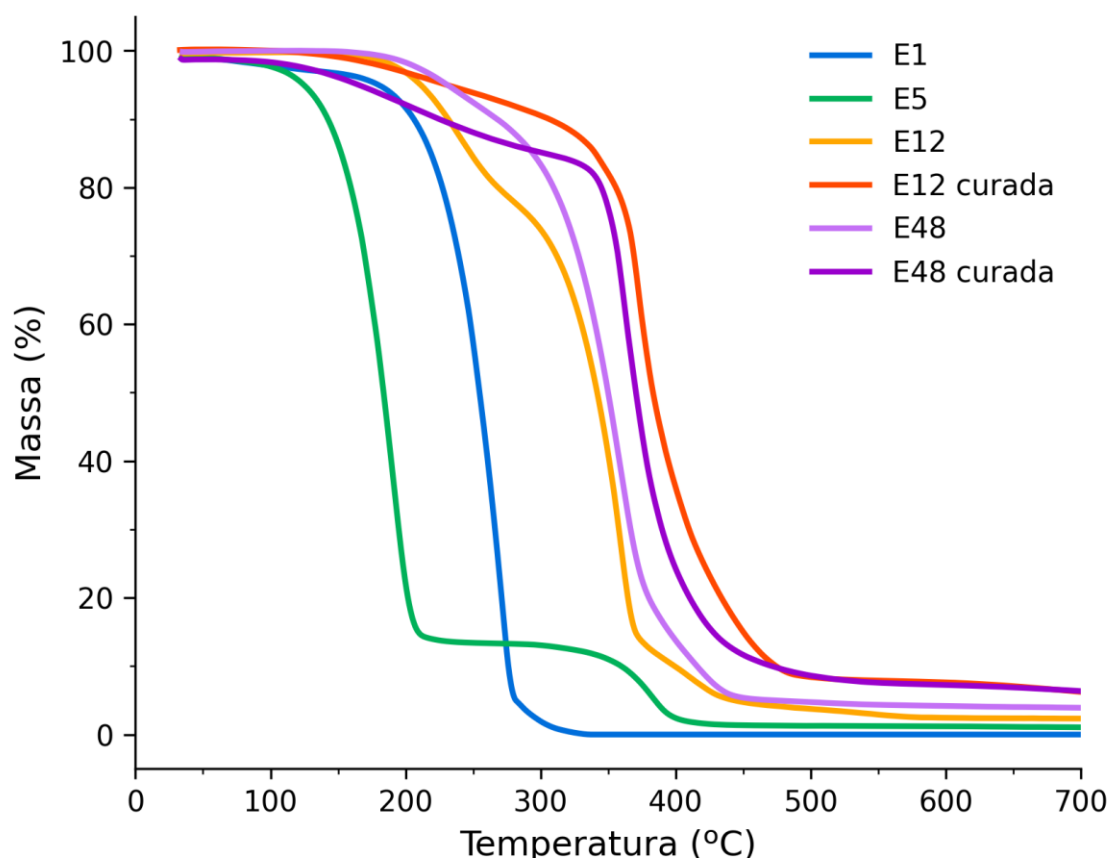


Figura 44. Curvas termogravimétricas dos endurecedores E1 e E5 e das resinas E12 e E48 não curadas e curadas.

Fonte: do próprio autor.

Como observado na Figura 44, o endurecedor E1 começa a perder sua massa em temperaturas mais altas quando comparado ao E5. A resina E48 líquida possui um início de perda de massa em temperaturas ligeiramente maiores que o E12. Já no caso das resinas curadas, o padrão se inverte, com o E12 apresentando maior estabilidade térmica. Isso poderia indicar um maior grau de reticulação na resina curada E12. Nesse sentido, nota-se também que as resinas curadas têm

uma maior estabilidade à degradação térmica quando comparados com as resinas puras. As ligações covalentes provenientes das reações de reticulação da malha polimérica garantem uma maior resistência à pirólise dos compostos (LI *et al.*, 2014).

Vale ressaltar que as resinas e os endurecedores dos dois grupos experimentais tiveram perda de massa em temperaturas bem superiores à temperatura de utilização dos espécimes plastinados (temperatura ambiente) e do próprio método de plastinação.

6.3.4. Índice de Refração

A Tabela 12 apresenta os resultados das medidas de índice de refração (IR) das resinas epóxi não curadas.

Tabela 12. Índices de refração médios e desvios-padrão das resinas não curadas.

RESINA	IR
E12	1,5425 ± 0,0002
E48	1,5503 ± 0,0001
E48P	1,5288 ± 0,0001

Fonte: do próprio autor.

A resina E48 apresentou o maior IR (1,5503) e a E48P o menor valor (1,5288). Essa diferença se deve ao menor IR do plastificante (<1,49, conforme ficha técnica do produto) presente na resina E48P. O índice de refração encontrado para a resina E12 está de acordo com os dados informados pelo fabricante (1,54) (BIODUR, 2018).

O índice de refração das resinas epóxi normalmente varia de 1,50 a 1,57 (HEGEDUS *et al.*, 2017; SU *et al.*, 2002), sendo essa uma medida de quanto o material desacelera a velocidade da luz. Para fins de comparação, no trabalho realizado por Luo *et al.* (2012) e Luo *et al.* (2014) foram medidos os índices de refração das resinas curadas e não curadas e observou-se um aumento na propriedade ótica da ordem de 0,03-0,04 para a resina sólida. Tomando-se estes valores como referência, espera-se que os índices de refração das resinas

utilizadas neste estudo tenham variações semelhantes àqueles citados para a resina curada.

A avaliação do IR das resinas é importante, pois pode influenciar, por exemplo, nos resultados de microscopia confocal de fluorescência de espécimes plastinados com resina epóxi. Como já mencionado, a técnica de microscopia confocal é uma ótima ferramenta para análise morfológica tecidual, principalmente ricos em tecido conjuntivo, e para análises morfométricas de estruturas teciduais (SORA *et al.*, 2019; BHATTARAI; STAAT, 2018; XU *et al.*, 2018).

6.3.5. Ensaio de mudança de coloração da resina curada

Após a cura das placas de teste foi observado que a resina E48 sofreu mais o processo de “blushing” que a resina E12 (Figura 45). Todas as placas da resina E48 apresentaram um grau leve de “blush”, enquanto na resina E12 não foi observado. O “blushing” é um processo comum durante a cura do epóxi e se deve ao aparecimento de carbamatos indesejáveis (carbonatação) na superfície da resina curada, apresentando um aspecto de névoa. É proveniente da reação entre agentes de cura ou aceleradores funcionais de amina com dióxido de carbono (CO₂) e/ou vapor de água do ambiente (PHAM; MARKS, 2005). Na plastinação, este processo não ocorre na E48, uma vez que a mistura reativa fica entre folhas de acetato e, com isso, não fica em contato com o ar atmosférico na montagem do método “sanduiche” da etapa da cura.

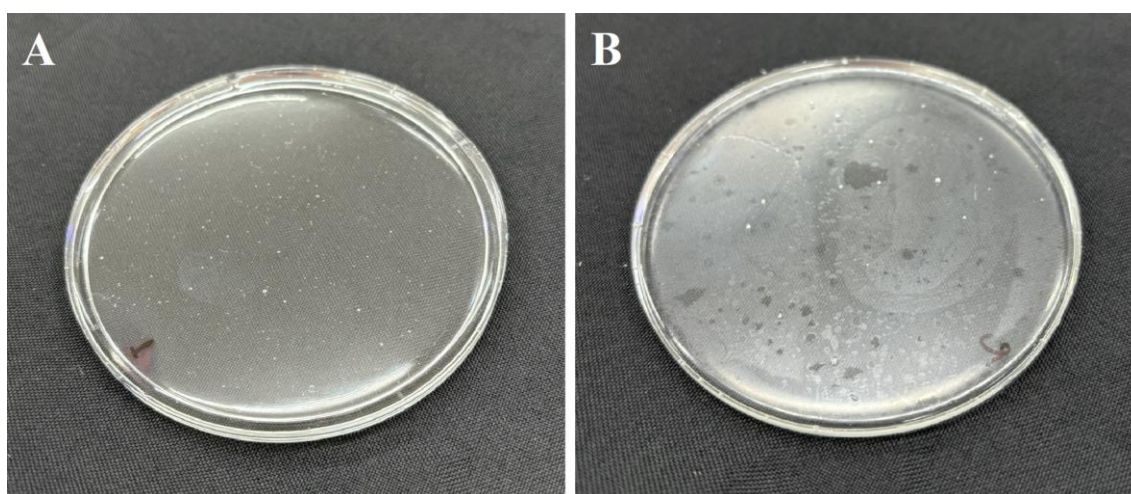


Figura 45. Placas curadas do teste de amarelamento, evidenciando a ausência de “blush” na resina E12 (A) e presença de “blush” na superfície da placa de E48 (B).

As Figuras 46 e 47 apresentam o comparativo do amarelamento das amostras E12, E48 e E48P ao longo dos 6 meses de teste para as duas situações de exposição: ao abrigo da luz e à exposição direta de luz UV natural.

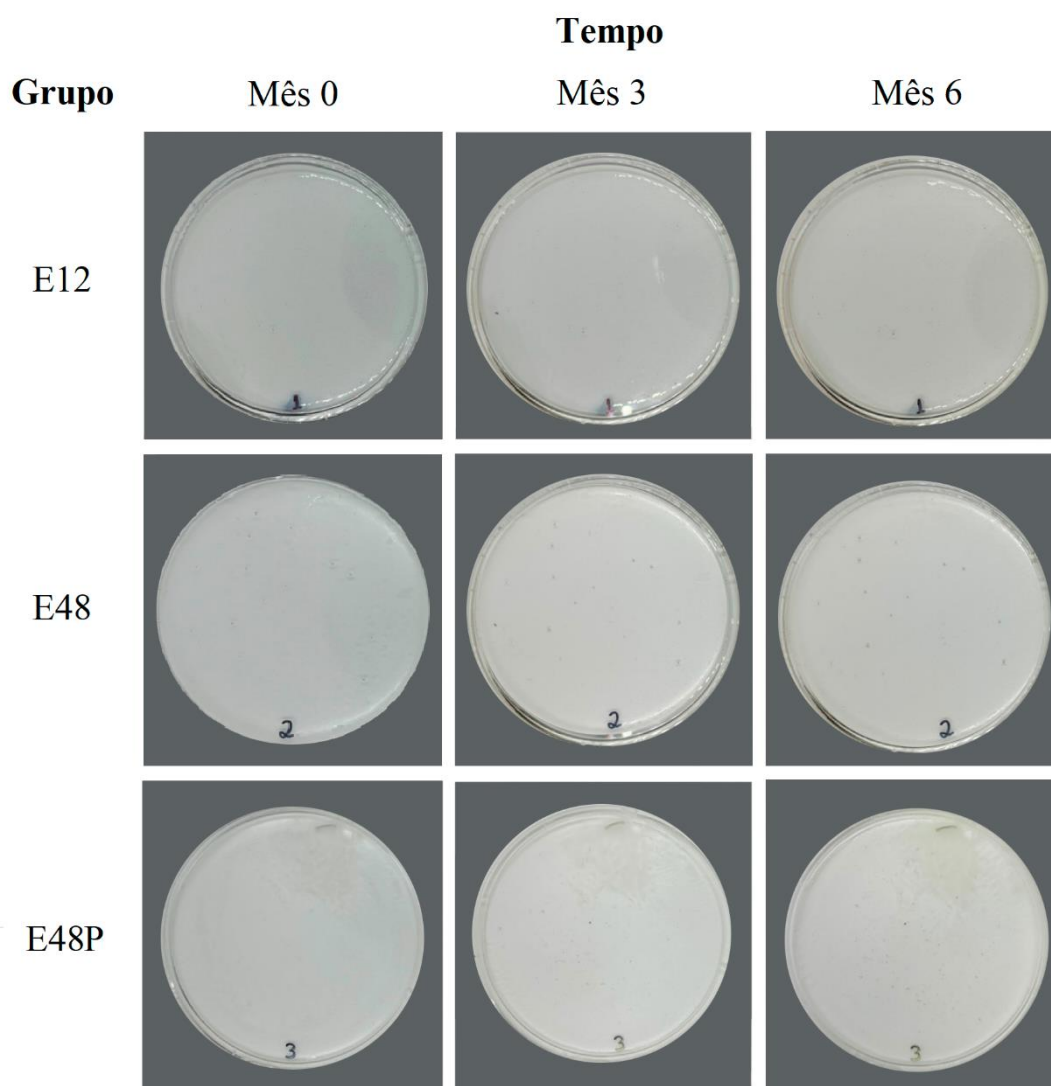


Figura 46. Amostras dos epóxios E12, E48 e E48P mantidas ao abrigo de radiação UV ao longo de 6 meses.

Fonte: do próprio autor.

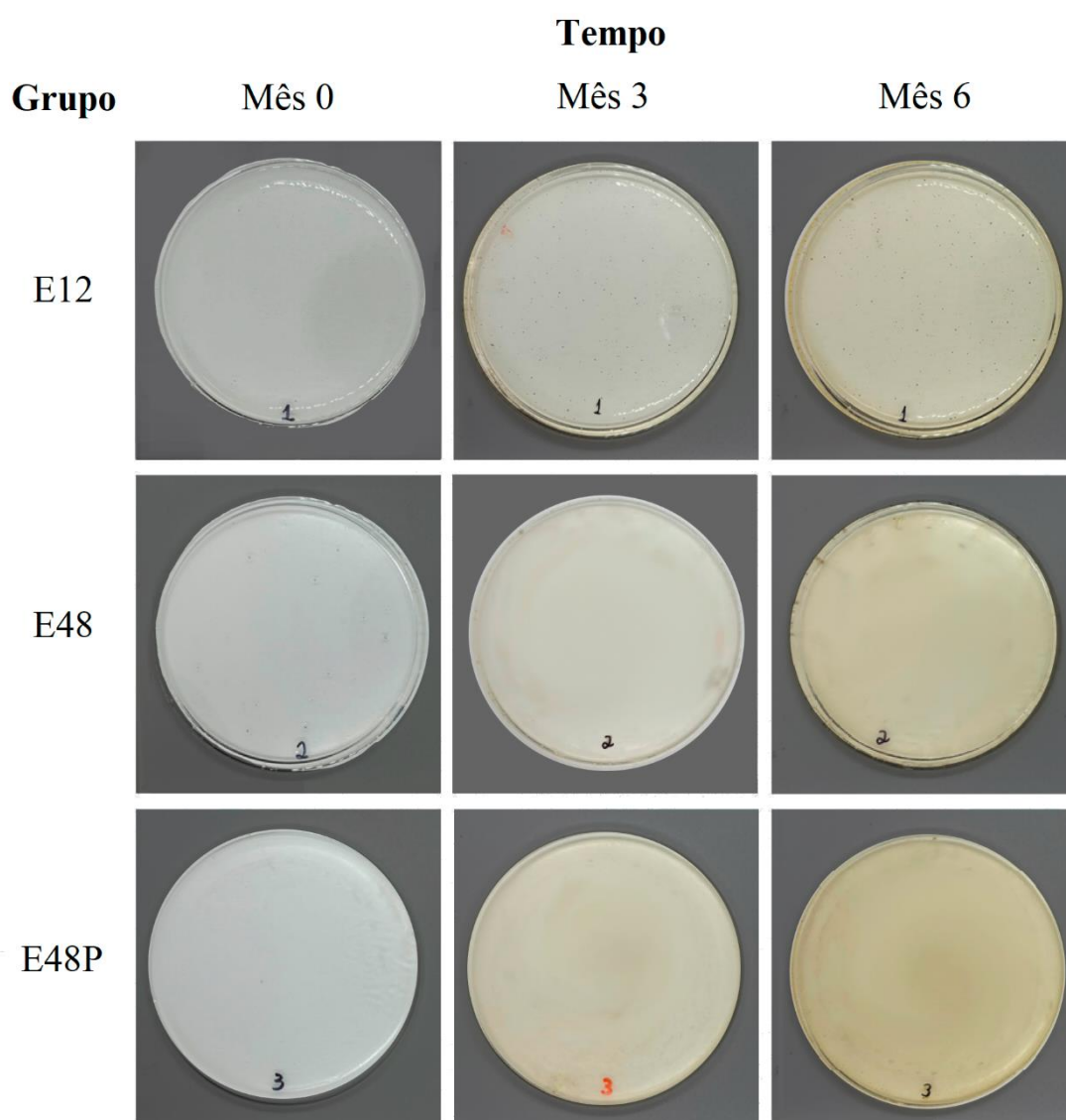


Figura 47. Amostras dos epóxis E12, E48 e E48P mantidas à exposição direta (8 horas/dia) e indireta de radiação UV solar ao longo de 6 meses.

Fonte: do próprio autor.

No mesmo sentido, as Figuras 48 e 49 apresentam índices relacionados com a intensidade da cor amarela medidos mensalmente com o *software* ColorDetector.

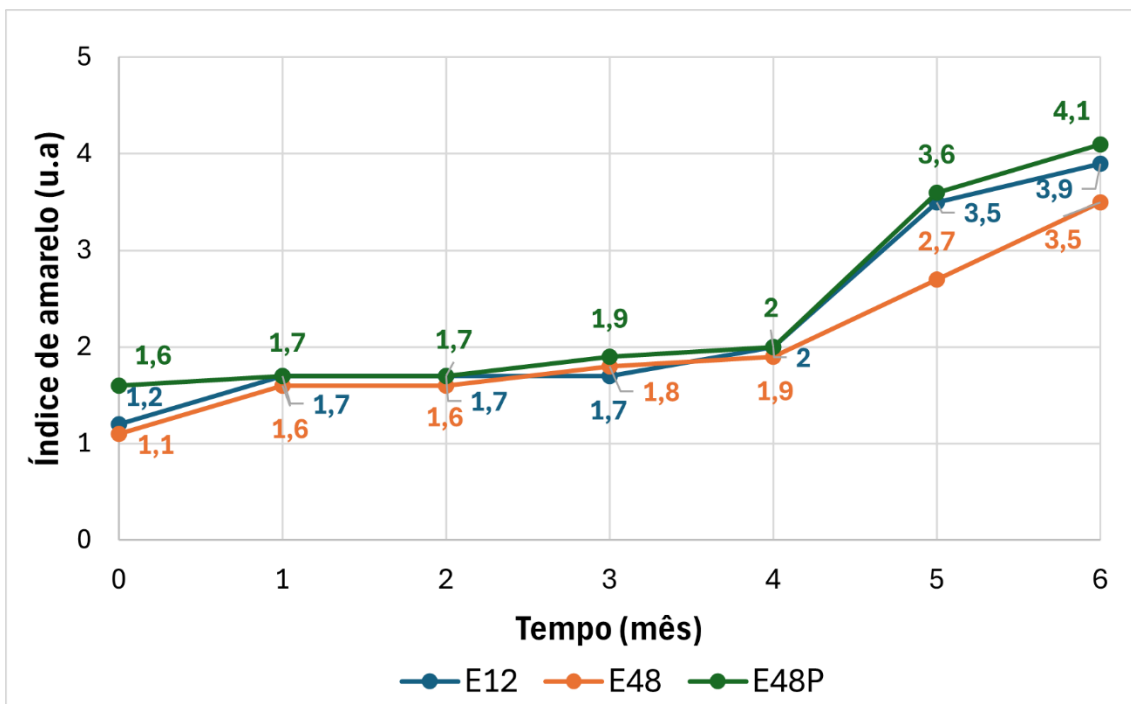


Figura 48. Índices de amarelamento das amostras de resina epóxi sem exposição à radiação UV ao longo de 6 meses.

Fonte: do próprio autor.

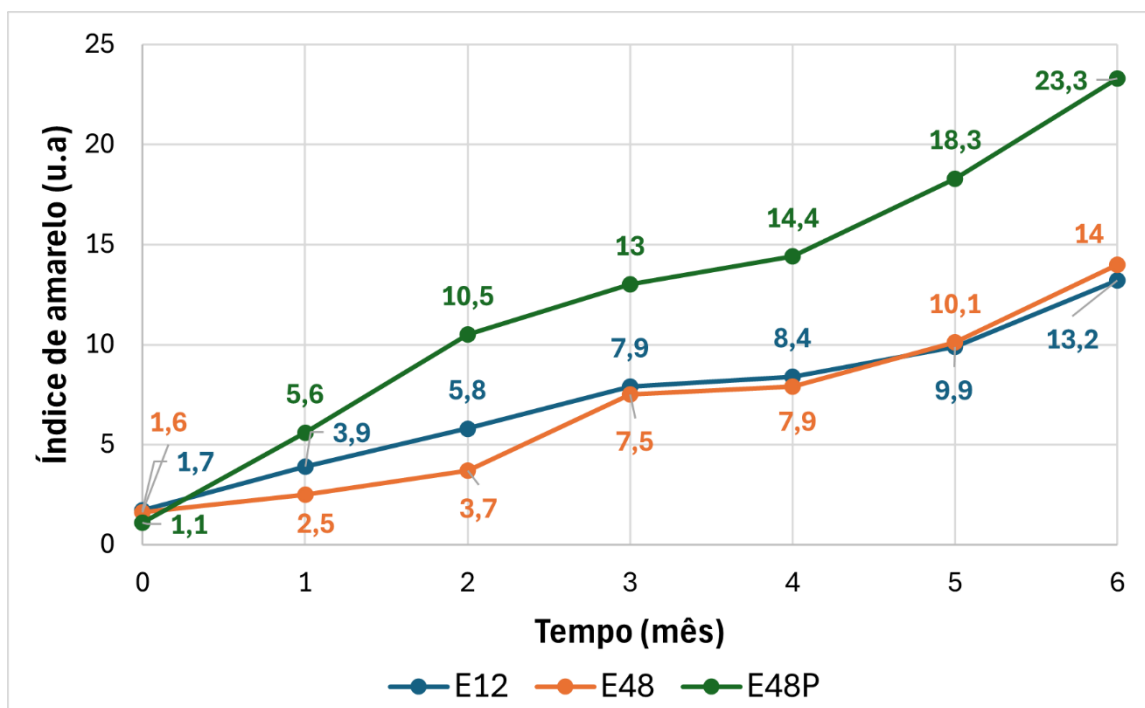


Figura 49. Índices de amarelamento das amostras de resina epóxi expostas à radiação UV natural ao longo de 6 meses.

Fonte: do próprio autor.

A partir das imagens das placas (Figuras 46 e 47) e dos valores do índice da cor amarela medidos pelo *software* (Figuras 48 e 49) observou-se que o amarelamento foi um processo progressivo, contínuo e se mostrou muito mais intenso no grupo exposto à radiação UV natural.

O amarelamento gradativo é uma característica bem conhecida na plastinação com resina epóxi. De acordo com Latorre *et al.* (2002), a reação que gera o amarelamento se inicia em poucos dias e progride até aproximadamente 6 meses, atingindo um grau acentuado de amarelamento em condições rotineiras de laboratório.

A mudança de cor é irreversível e está relacionada ao mecanismo de envelhecimento, podendo ser acelerado pela exposição à luz UV e a própria umidade do ar. Na literatura não há consenso sobre o exato mecanismo químico de envelhecimento das resinas epóxi, no entanto, uma das principais hipóteses é o processo oxidativo com a formação de cromóforos, como grupos carbonila (C=O) e duplas ligações na estrutura polimérica. Com isso, as moléculas de resina são ativadas por energias de entrada, como radiação UV ou térmica, e os elétrons nos cromóforos podem absorver luz visível com determinados comprimentos de onda. Então, as resinas exibem a cor complementar, que é amarela neste caso, da luz visível absorvida. Outros tipos de resinas, como o poliuretano, também podem alterar a coloração a partir do mecanismo de formação de carbonila na estrutura macromolecular, causado pela oxidação (KRAUKLIS; ECHTERMEYER, 2018; WU *et al.*, 2022).

O amarelamento de epóxios não é linear no tempo e pode variar de acordo com vários fatores, como os grupos funcionais das moléculas, o sistema de cura e a presença de aditivos. Fatores ambientais, como presença de oxigênio, nível de umidade, temperatura e radiação ultravioleta (UV) também influenciam nesse processo. Além da coloração, o processo de envelhecimento altera as propriedades mecânicas do epóxi curado, tornando a resina mais rígida e friável (KRAUKLIS; ECHTERMEYER, 2018).

Embora a resina E48P tenha apresentado o maior valor de cor amarela ao final dos 6 meses, na metodologia sem a exposição ao UV, esta resina teve a menor alteração proporcional da coloração comparando-se o estado inicial e final (2,5

vezes contra 4,7 do E12 e 3,2 do E48) (Figura 48). Provavelmente, a cor mais amarelada do plastificante, confirmada pela diferença da coloração inicial do E48 e E48P detectado pelo *software*, influenciou na percepção do amarelamento mais lento do epóxi ao longo do tempo. Outra observação importante foi que, nas mesmas condições citadas de exposição, a resina E12 apresentou maior amarelamento proporcional comparado ao E48. Nesse caso, o filtro UV presente na formulação do E48 diminuiu as reações de envelhecimento da resina.

Já para o teste com as amostras expostas à radiação UV, a E48P apresentou a maior alteração de tonalidade amarela comparando-se o início e o fim das medidas, sendo a diferença de 15,5 vezes contra 11 do E12 e 11,6 do E48. Segundo Down (1986), a adição de alguns tipos de diluentes e plastificantes na formulação aceleram a foto-oxidação da resina quando exposta à iluminação intensa. De forma comparativa, os epóxios E12 e E48 tiveram um aumento proporcional do amarelamento semelhante (11 vezes para o E12 e 11,6 vezes para o E48) nos seis meses.

Sobre a velocidade de envelhecimento, as placas do E12 e E48 sem exposição ao UV tiveram comportamentos semelhantes, com uma mudança na cor mais acentuada no primeiro mês (aumento entre 41-45%), seguido de uma estabilização ou alteração menor nos três meses seguintes e, por fim, um novo aumento a partir do quinto mês (42-75%). A resina E48P manteve um amarelamento menor nos 4 primeiros meses (<11%) e aumentou drasticamente a partir do mês 5 (80%). Em contrapartida, nas placas expostas ao UV da E12 e da E48P houve uma grande alteração do amarelo no primeiro mês (aumento de 225 e 273%, respectivamente) e no segundo (aumento de 48 e 87%, respectivamente), seguido de uma menor variação da cor nos meses seguintes. No caso da E48, o amarelamento foi menos acentuado no primeiro mês (108%) e constante nos meses seguintes, mostrando a eficácia do filtro UV presente na formulação, principalmente nos primeiros meses.

6.3.6. Ensaio de resistência à Tração

Os resultados dos ensaios de resistência à tração uniaxial das resinas curadas em termos de tensão máxima, tensão de escoamento, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade estão listados na Tabela 13.

Tabela 13. Valores médios \pm desvio-padrão das propriedades mecânicas analisadas das resinas E12 e E48.

Propriedades	Resina	
	E12	E48
Tensão Máxima (MPa)	43,0 \pm 4,5	39,6 \pm 0,7
Tensão de escoamento (MPa)	39,3 \pm 2,5	28,8 \pm 1,1
Alongamento na Ruptura (%)	1,9 \pm 0,2	2,7 \pm 0,3
Módulo (MPa)	2595 \pm 116,7	2239 \pm 163,5

Fonte: do próprio autor.

A média da tensão máxima das resinas E12 e E48 não apresentaram diferenças estatisticamente, uma vez que há sobreposição dos desvios-padrão, o que indica que ambos os epóxios suportam uma tensão semelhante antes da ruptura.

Já para a tensão de escoamento, o valor da E12 apresentou-se significativamente maior (39,3 \pm 2,5) do que o E48 (28,8 \pm 1,1). Isso mostra que a E12 suporta uma carga ou tensão maior antes de se deformar de forma permanente e irreversível.

O módulo de elasticidade da resina foi estatisticamente maior para a E12 (2595 \pm 116,7) comparada à E48 (2239 \pm 163,5), mostrando que esta resina curada é ligeiramente mais rígida, ou seja, possui resistência maior à deformação sob carga. Desta forma, a E48 apresenta ligeira maior flexibilidade à tração mecânica.

Segundo Chawla (2019), Levy Neto e Pardini (2006) e Garcia *et al.* (2007), em geral, a tensão de ruptura em um sistema epóxi curado varia entre 40 e 90 MPa, enquanto a deformação máxima na ruptura fica na faixa de 1% a 6%, com o módulo elástico variando entre 2,5 e 6,0 GPa. Os resultados encontrados nesta pesquisa estão dentro da faixa citada.

A Figura 50 apresenta as curvas tensão *versus* deformação do ensaio de tração das resinas E12 e E48.

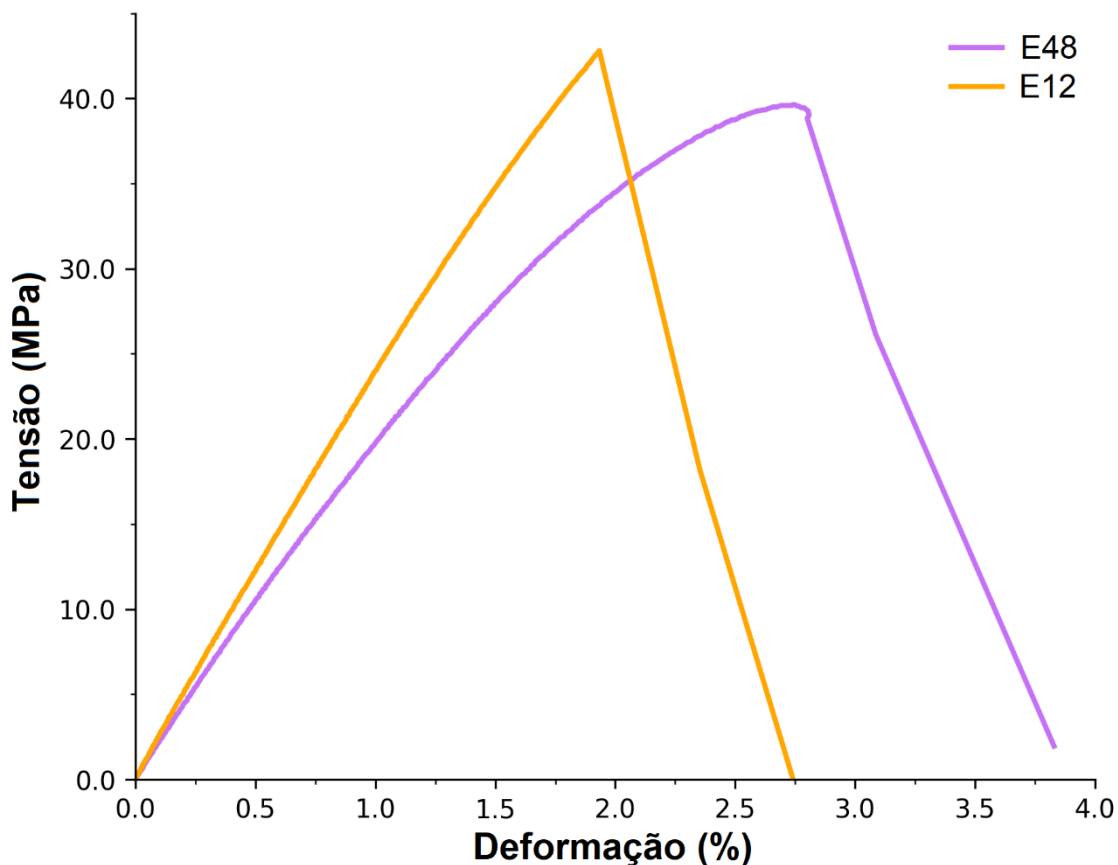


Figura 50. Curva de Tensão *versus* Deformação das resinas curadas E12 e E48.

No caso da resina E12, verifica-se que o material tem um certo comportamento elástico linear, seguido do início do processo de ruptura e a ruptura total. Já a resina E48 apresentou um comportamento elástico não linear (Figura 50).

Para as resinas epóxi curadas, vários fatores intrínsecos do polímero e processo de cura podem influenciar nos resultados de resistência mecânica, como o tipo de resina, composição de plastificantes e aditivos, o tipo e proporção de agente de cura utilizado e tempo e temperatura de cura. Como visto no trabalho de Ceron (2012), as propriedades mecânicas da resina epóxi DGEBA são diretamente relacionadas aos percentuais do agente de cura utilizado, uma vez que o grau de reticulação é dependente da proporção entre resina e endurecedor e isso se reflete na variação da rigidez do material (PAIVA *et al.*, 2006). Deste modo, sistemas

curados com excesso de resina DGEBA, apresentaram maior capacidade de deformação, uma vez que o grau de reticulação é menor e o grau de liberdade das moléculas é maior. Já quando há excesso de agente de cura, a resistência mecânica tende a diminuir (CERON *et al.*, 2012).

7. CONCLUSÃO

A resina alternativa E48P (com plastificante) e seu endurecedor E5 atenderam aos pré-requisitos físico-químicos iniciais e produziram espécimes visualmente indistinguíveis daqueles plastinados com a resina de referência, o E12.

Adicionalmente, os espécimes do grupo E48P apresentaram maior contraste fluorescente na microscopia confocal, uma retração estatisticamente semelhante à do grupo controle e um custo 50% menor comparado ao E12.

No âmbito do desenvolvimento do protocolo de plastinação foram desenvolvidas duas metodologias de cura com o epóxi E48P: a primeira utilizando uma mistura de cura nova sem plastificante que resultou em espécimes rígidos e na segunda empregou-se a própria mistura de impregnação que resultou em placas mais flexíveis, característica inédita na literatura.

Foi observado que o constituinte principal das resinas testadas é o diglicidil éter de bisfenol A (DGEBA) e os endurecedores são compostos a base de aminas. Além disso, observou-se que a formulação do E48P possui a menor viscosidade e apresentou um comportamento mais próximo de um fluido Newtoniano. Contudo, a resina alternativa tem uma capacidade de amarelamento mais pronunciada ao longo do tempo.

Diante dos resultados, verificou-se que a resina E48P é uma opção viável e mais acessível para a plastinação de secções biológicas finas (2-3 mm).

Recomenda-se que trabalhos futuros foquem no aprimoramento da formulação da resina E48P, com a avaliação de outros plastificantes e aditivos para a formulação E48P, como um inibidor de amarelamento para o E48P. Além disso, a formulação aprimorada posteriormente pode permitir o método de plastinação de secções ultrafinas, com tempo de impregnação superior a 48 horas e espécimes finais com menos de 1 milímetro de espessura.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-BAYATY, S. A.; JUBIER, N. J.; AL-UQAILY, RAHEEM A. H. Study of Thermal Decomposition Behavior and Kinetics of Epoxy/Polystyrene Composites by using TGA and DSC. **Journal of Xi'an University of Architecture & Technology** V. 12, n. 3, p. 1331-1341, 2020.

AMARAL, C. R., RODRIGUEZ, R. J. S., GARCIA, F. G., JUNIOR, L. P. B. Impact of Aliphatic Amine Comonomers on DGEBA Epoxy Network Properties. **Polymer Engineering and Science** v. 54, p. 2132 – 2138, 2013.

BHATTARAI, A.; STAAT, M. Modelling of Soft Connective Tissues to Investigate Female Pelvic Floor Dysfunctions. **Computational and Mathematical Methods in Medicine** v. 1, p. 1-16, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/9518076>.

BARNES, H. K.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. **An Introduction Tho Reology**, Amsterdam: Elsevier, 1989.

BIFULCO, A.; PARDIDA, D.; SALMEIA, K. A.; NAZIR, R.; LEHNER, S.; STAMPFLI, R.; MARKUS, H.; MALUCELLI, G.; BRANDA, F.; GAAN, S. Fire and mechanical properties of DGEBA-based epoxy resin cured with a cycloaliphatic hardener: Combined action of silica, melamine and DOPO-derivative. **Materials and Design** v. 193, p. 1-9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.108862>.

BIODUR TM. Biodur Products GmbH> Services, polymers, equipment & auxiliaries for plastination - **Catalogue**. 2022. Disponível em: https://biodur.de/assets/biodur_catalogue_2022.pdf.

BIODUR TM. New Products BIODUR® E 12A and BIODUR® AE 21 for Sheet Plastination. **Customer INFORMATION 06/2018**, 2018. Disponível em: https://www.biodur.de/assets/biodur_news_062018.pdf.

BOTTOM, R. Thermogravimetric Analysis. In: GABBOTT, P. **Principles and Applications of Thermal Analysis**, 1. Ed., Blackwell Publishing Ltd, 2008, cap. 3, p. 87–118. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470697702.ch3>.

BRYDSON, J. A. Epoxide Resins. In: *Plastics Materials*. 7 ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, 920 p., 1999.

CANEVAROLO JR, S. V. *Ciência dos Polímeros – Um texto básico para tecnólogos e engenheiros*. 2ª edição, São Paulo: Artliber, 2002.

CERON, L. P. DESENVOLVIMENTO DE FILTRO CARTUCHO DE POLIIMIDA PARA ALTAS TEMPERATURAS COM RESINA EPÓXI DGEBA E NOVO AGENTE DE CURA. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

CHAWLA, K. K. *Composite Materials: Science and Engineering*. 4ª ed., Springer, 2019.

CHEN, Y.; LI, H. Effect of Ultrasound on the Viscoelasticity and Rheology of Polystyrene Extruded Through a Slit Die. **Journal of Applied Polymer Science**, V. 100, p. 2907–2911, 2006.

COSENTINO, H. M.; MOURA JUNIOR, Á. A.; COSTA, A. C. F. **Estatística Básica para Tomada de Decisão**. Seguro & Ensino: V. 1, Escola, 109 p., 2013.

DAGDAG, O; ESSAMRI, A.; ELGANA, L.; BOUCHTI, M. E. Synthesis, characterization and rheological properties of epoxy monomers derived from bifunctional aromatic amines. **Polymer Bulletin**, v. 76, p. 4399–4413, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/s00289-018-2607-4\(2\):15](https://doi.org/10.1007/s00289-018-2607-4(2):15).

DELPUPPO, F. V. B.; CASSIANO, L. G.; MONTEIRO, Y. F.; JÚNIOR, M. C.; SOARES, K.; BITTENCOURT, A. S. Low viscosity silicone with less shrinkage for brain slices.

Morphologie, v. 108, p. 1-8, 2024. Disponível em: [doi.com/10.1016/j.morpho.2023.100726](https://doi.org/10.1016/j.morpho.2023.100726).

DIXIT, V., NAGPAL, A.K. & SINGHAL, R. Influence of phenoxy modifier on mechanical, electrical and morphological properties of epoxy/DDS system. **Int J Plast Technol** v. 14, p. 38–52, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12588-010-0001-7>.

DOWN, J. L. The Yellowing of Epoxy Resin Adhesives: Report on High-Intensity Light Aging. **Studies in Conservation**, V. 31, N. 4, p. 159-170, 1986.

FOUCHAL, F.; HARRIS, R. A.; KNIGHT, J. A. G.; DICKENS, P. M. Modelling and prediction of the diglycidyl ether bisphenol-A/2,20-dimethyl-4,40-methylenebis (cyclohexylamine) reaction. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers**, V. 220, N. 2, P. 79-89, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1243/14644207JMDA66>.

FOUCHAL, F.; KNIGHT, J. A. G.; DICKENS, P. M. Monitoring the Polymerization of a Diglycidyl Ether Bisphenol-a/2,2'-dimethyl-4,4'-methylenebis (cyclohexylamine) Matrix with a Fourier Transform Infrared Optical Fibre Sensor. **Journal of Materials Design and Applications**, v. 208, p. 331-342, 2004. Disponível em: <https://hdl.handle.net/2134/4724>.

GARCIA, F. G.; SOARES, B. G.; PITA, V. J. R. R.; SÁNCHEZ, R.; RIEUMONT, J. Mechanical Properties of Epoxy Networks Based on DGEBA and Aliphatic Amines. **Journal of Applied Polymer Science**, V. 106, P. 2047–2055, 2007.

GOMES, Pedro Barroso. Caracterização de materiais: uma abordagem das possibilidades de algumas técnicas instrumentais. 2015. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, 2011.

GONZÁLEZ, M.G., CABANELAS, J.C. AND BASELGA, J. Applications of FTIR on Epoxy Resins—Identification, Monitoring the Curing Process, Phase Separation and Water Uptake. In: Theophanides, T., Ed., **Infrared Spectroscopy—Materials Science, Engineering and Technology**, IntechOpen, London, 261-284, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/36323>.

GORNINSKI, J. P. Estudo da influência das resinas poliéster isoftálica e ortoftálica e do teor de cinza volante nas propriedades mecânicas e durabilidade do concreto polímero. 2002. 201 f. Tese (Doutorado em Engenharia) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2002.

HEGEDUS, G.; SARKADI, T.; CZIGÁNI, T. Analysis of the Light Transmission Ability of Reinforcing Glass Fibers Used in Polymer Composites. **Materials**, v. 10, n. 6, p. 1-9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma10060637>.

HENRY, R. W.; LATORRE, R. Polyester Plastination of Biological Tissue: P40 Technique for Brain Slices. **Journal Of the International Society for Plastination** v. 22, p. 59-68, 2007. Disponível em: http://journal.plastination.org/archive/jp_vol.22/jp_vol.22_59-68.pdf.

HENRY, R. W.; VON HAGENS, G.; SEAMANS, G. Cold temperature/Biodur®/S10/von Hagens'—Silicone plastination technique. **Anat Histol Embryol**, V. 48, N. 6, P. 1-10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ahe.12472>.

HORST, C. V.; HAGENS, R. V.; SORA, C-M.; HENRY, R. W. History and development of plastination techniques. **Anat Histol Embryol**, v. 48, p. 512–517, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ahe.12497>.

HSU, C-P. S. Infrared Spectroscopy. In: SETTLE, F. A. **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. 1 ed., Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, New Jersey, 1997, 993 pp.

JIANG, S.; ZHA, S.; XIA, L.; GUAN, R. Synthesis and characterization of diphenylsilanediol modified epoxy resin and curing agent. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 29, n. 7, p. 641-656, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01694243.2014.1003177>.

JILANI, W.; MZABI, N.; GALLOT-LAVALLÉE, O.; FOURATI, N.; ZERROUKI, C.; ZERROUKI, R.; GUERMAZI, H. Dielectric relaxations investigation of a synthesized epoxy resin polymer Dielectric relaxations investigation of a synthesized epoxy resin polymer. **The European Physical Journal Plus**, v. 130, n. 76, p. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1140/epjp/i2015-15076-6>.

JUDAS, F.; PALMA, P.; FALACHO, R. I.; FIGUEIREDO, H. Estrutura e Dinâmica do Tecido Ósseo. **Apostila de apoio para os alunos do Mestrado Integrado em Medicina Disciplina de Ortopedia da Clínica Universitária de Ortopedia**, Coimbra: Faculdade de Medicina, 2012.

JUVENATO, L. S.; MONTEIRO, Y. F.; MIRANDA, R. P.; BITTENCOURT, A. P. S. V.; BITTENCOURT, A. S. Is domestic polyester suitable for plastination of thin brain slices? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 56, p. 1-8, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e12566>.

KRAUKLIS, A. E.; ECHTERMEYER, A. T. Mechanism of Yellowing: Carbonyl Formation during Hygrothermal Aging in a Common Amine Epoxy. **Polymers**, v. 10, p. 1-15, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym10091017>.

LATORRE, R. M.; REED, R. B.; GIL, F.; LOPEZ-ALBORS, O.; AYALA, M. D.; MARTINEZ-GOMARIZ, F.; HENRY, R. W. Epoxy Impregnation without Hardener: To Decrease Yellowing, to Delay Casting, and to Aid Bubble Removal, **Journal of the International Society for Plastination**, V. 17, P.17-22, 2002.

LEVY NETO, F.; PARDINI, L. C. **Compósitos Estruturais: Ciência e Tecnologia**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 336 p.

LI, M.; ZHAO, X.; SHAO, W.; MA, C.; ZHENG, R.; CHEN, Y. Thermal Stability of an Epoxy Adhesive. **Advanced Materials Research** V. 1053, p. 257-262, 2014. Disponível em: doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1053.257.

LI, K.; HUO, N.; LIU, X.; CHENG, J.; ZHANG, J. Effects of the furan ring in epoxy resin on the thermomechanical properties of highly crosslinked epoxy networks: a molecular simulation study. **RSC Adv.**, V. 6, P. 769-777, 2016.

LIUGAN, M.; XU, Z.; ZHANG, M. Reduced Free Communication of the Subarachnoid Space Within the Optic Canal in the Human. **American Journal of Ophthalmology** v. 179, p. 25-31, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.04.012>.

LUO, C.; ZHAO, J.; YUAN, Y.; ZUO, J.; LIN, X.; ZHAO, Y. Synthesis and characterization of a high refractive diglycidyl ether of thiodibenzenethiol epoxy resin, **Polymer Bulletin**, v. 69, n. 3, p. 337-345, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0734-x>.

LUO, C.; ZUO, J.; YUAN, Y.; ZHAO, J. Synthesis and characterization of high refractive epoxy prepolymers with different molecular structures. **High Performance Polymers**, V. 26, N. 4, P. 477-482, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0954008313519277>.

LV, J-Y.; MENG, Y.; HE, L-F.; LI, X-Y.; WANG, H-G. Synthesis of a hyperbranched polyether epoxy through onestep proton transfer polymerization and its application as a toughener for epoxy resin DGEBA. **Chinese Journal of Polymer Science**, V. 30, N. 4, p. 493-502, 2012.

MARKS, D. L.; CHANEY, E. J.; BOPPART, S. A. Plastinated tissue samples as three-dimensional models for optical instrument characterization. **OPTICS EXPRESS** V. 16, N. 20, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1364/OE.16.016272>.

MENEZES, G. W.; MONTEIRO, S. N.; D'ALMEIDA, J. R. M.; NETO, H. S. N. Análise térmica da resina epóxi DGEBA/TETA para formulações diferentes da razão estequiométrica. **ABM**. v. 1, n. 1, p. 12-16, 2004.

MENG, Y.; WANG, H. Synthesis of a hyperbranched polyether epoxy through one-step proton transfer polymerization and its application as a toughener for epoxy resin DGEBA. **Chinese Journal of Polymer Science**, V. 30, N. 4, p. 493–502, 2012.

MONTEIRO, Y. F.; JUVENATO, L. S.; BITTENCOURT, A. P. S. V.; SIQUEIRA, B. M. M.; MONTEIRO, F. C.; BAPTISTA, C. A. C.; BITTENCOURT, A.S. Influence of The temperature on the viscosity of different types of silicone. **J Plastinat** v. 30, p. 4–9, 2018.

MONTEIRO, Y. F.; SILVA, M. V. F.; BITTENCOURT, A. P. V S.; BITTENCOURT, A. S. Plastination with low viscosity silicone: strategy for less tissue shrinkage. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 55, p. 1-10, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X2022e11962>.

NASH, L.; NICHOLSON, H. M. B.; LEE, A. S. J.; JOHNSON, G. M.; ZHANG, M. M. B. Configuration of the Connective Tissue in the Posterior Atlanto-Occipital Interspace: A Sheet Plastination and Confocal Microscopy Study. **Spine** v. 30, n. 12, p 1359-1366, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.brs.0000166159.31329.92>.

NG, L. M.; SIMMONS, R. Infrared Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, V. 71, N. 12, p. 343-350, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/a1999908r>.

OLIVEIRA, R. C; BARROS, S. T. D.; ROSSI, R. M. Aplicação Da Metodologia Bayesiana Para O Estudo Reológico Da Polpa De Uva. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 11, n. 1, p. 73-80, 2009.

OTTONE, N. E. Epoxy Sheet Plastination Technique. *In: Advances in Plastination Techniques*. 1º Ed. Editora Springer International Publishing AG, 274 p., 2024.

OTTONE, N. E.; BAPTISTA, C. A. C.; LATORRE, R.; BIANCHI, H. F.; DEL SOL, M.; FUENTES, R. E12 Sheet Plastination: Techniques and Applications. **Clinical Anatomy**, v. 31, n. 5, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ca.23008>.

PAIVA, J. M. F.; MAYER, S.; REZENDE, M. C. Comparison of Tensile Strength of Different Carbon Fabric Reinforced Epoxy Composites. **Materials Research**, V. 9, N. 1, P. 83-89, 2006.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. A. Introduction to Spectroscopy. **Cengage Learning**, 2008, 4 ed.

PHAM, H. Q.; MARKS, M. J. Epoxy Resins. In: **Ullmann, F. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Electronic release, 2005. 7ª edição. Disponível em: https://doi.org/10.1002/14356007.a09_547.pub2.

PHILLIPS, M.; NASH, L. G.; BARNETT, R.; NICHOLSON, H. The use of confocal microscopy for the examination of E12 sheet plastinated human tissue. **Journal of the International Society for Plastination** v. 17, p. 12-16, 2002.

PRIME, R. B.; BAIR, H. E.; VYAZOVKIN, S.; GALLAGHER, P. K.; RIGA, A. Thermogravimetric Analysis (TGA). In: MENCZEL, J. D.; PRIME, R. B. **Thermal Analysis of Polymers: Fundamentals and Applications**, 1. Ed., John Wiley & Sons Inc., 2008, p. 241-317. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470423837.ch3>.

RAMÍREZ-HERRERA, C.A.; CRUZ-CRUZ, I.; JIMÉNEZ-CEDEÑO, I.H.; MARTÍNEZ-ROMERO, O.; ELÍAS-ZÚÑIGA, A. Influence of the Epoxy Resin Process Parameters on the Mechanical Properties of Produced Bidirectional [45°]

Carbon/Epoxy Woven Composites. **Polymers** v. 13, p. 1-12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym13081273>.

RAZACK, N. A.; VARGHESE, L. A. The Effect of Various Hardeners on the Mechanical and Thermal Properties of Epoxy Resin. **International Journal of Engineering Research & Technology**, V. 3, n. 1, p. 2662-2665, 2014.

RITO, C.; PINEIRO-MACEIRA, J. Microscopia confocal reflectante aplicada ao diagnóstico do melanoma cutâneo. **An Bras Dermatol**. V. 84, N. 6, P. 636-642, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000600009>.

ROBERTS, C. C.; GRAHAM, A.; NEMER, M.; PHINNEY, L.; GARCIA, R.; STIRRUP, E. Physical Properties of Low Molecular Weight Polydimethylsiloxane Fluids. **Sandia National Laboratories**, SAND2017-1242, 2017. Disponível em: <<https://prod-ng.sandia.gov/techlib-noauth/access-control.cgi/2017/171242.pdf>>.

SAADATKHAH, N.; GARCIA, A. C.; ACKERMANN, S.; LECLERC, P., LATIFI, M.; SAMIH, S.; PATIENCE, G. S.; CHAOUKI, J. Experimental methods in chemical ENGINEERING: THERMOGRAVIMETRIC analysis—TGA. **Can J Chem Eng.**, V. 98, p. 34–43, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cjce.23673>.

SABU, M.; BEMENTA, E.; RUBAN, J. V.; MON, S. G. A novel analysis of the dielectric properties of hybrid epoxy composites. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, V. 3, P. 325–335, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42114-020-00166-0>.

SAIFY, F.; TIWARI, N. Mounting Media – An Untouched Aspect. **Oral Maxillofac Patho J** v. 11, n. 1, p. 20-24, 2020.

SARGON, M. F.; TATAR, I. Plastination: basic principles and methodology. **Anatomy** v. 8, p. 13–18, 2014.

SHIROMA, P. H. Estudo do Comportamento Reológico de Suspensões Aquosas de Bentonita e CMC: Influência da Concentração do NaCl. 2012. 130 f. **Dissertação (Mestrado)** - Curso de Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SHOKRALLA, S. A.; AL-MUAIKEL, N. S. Thermal properties of epoxy (DGEBA)/phenolic resin (NOVOLAC) blends. **The Arabian Journal for Science and Engineering** V. 35, N. 1B, p. 8-14, 2010.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds**. New York: John Wiley & Sons, 1991.

SOAL, S.; POLLARD, M.; BURLAND, G.; LISSAMAN, R.; WAFER, M.; STRINGER, M. D. Rapid ultrathin slice plastination of embalmed specimens with minimal tissue loss. **Clin Anat**, V. 5, P. 539-44, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ca.20972>.

SORA, M-C.; HORST, C. V.; LÓPEZ-ALBORS, O.; LATORRE, R. Ultra-thin sectioning and grinding of epoxy plastinated tissue. **Anat Histol Embryol**. V. 48, p. 564–571, 2019.

SORA, M. C.; BRUGGER, P. C. & STROBL, B. Shrinkage during E12 plastination. **J. Int. Soc. Plastination** v. 17, p. 23-27, 2002.

SORA, M-C.; BINDER, M.; MATUSZ, P.; PLES, H.; SAS, I. Slice Plastination and Shrinkage. **MATERIALE PLASTICE** v. 52, n. 2, p. 186-189, 2015.

SORA, M-C.; BOIA, M.; BANCIU, C. D. Silicone (BIODUR) Viscosity and Impregnation in Plastination. **Material Plastice** v. 52, p. 8–11, 2015.

STARCIK, D.; HENRY, R. W. Comparison of cold and room temperature silicone plastination techniques using tissue core samples and a variety of plastinates. **J Plastinat** v. 27, p. 13-19, 2015.

STEINKE, H.; RABI, S.; SAITO, T. Staining body slices before and after plastination. *Eur J Anat*, v. 12, n. 1, p. 51-55, 2008.

SU, W-F.; FU, Y-C.; PAN, W-P. Thermal properties of high refractive index epoxy resin system. ***Thermochimica Acta***, V. 392–393, P. 385-389, 2002. Disponível em: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(02\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(02)00124-7).

SUKANTO, H.; RAHARJO, W. W.; ARIAWAN, D.; TRIYONO, J. Investigation of cycloaliphatic amine-cured bisphenol-A epoxy resin under quenching treatment and the effect on its carbon fiber composite lamination strength. ***Journal of the Mechanical Behavior of Materials***, v. 32, p. 1-12, 2023.

SZEWCZAK, A.; SZELAG, M. Modifications of Epoxy Resins and their Influence on their Viscosity. ***IOP Conference Series: Materials Science and Engineering***, V. 471, N. 2, P. 1-8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/471/2/022038>.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo Da Reologia De Polissacarídeos Utilizados Na Indústria De Alimentos. ***Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*** v. 7, n. 2, p.181-204, 28 jul. 2004. Disponível em: <http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev72/Art720.pdf>.

VERTUCCIO, L.; CALABRESE, E.; D'ANGELO, A.; PICCIRILLO, A. M.; LONGO, R. FTIR Analysis of the Curing Behaviors of Bi-Functional Epoxy Resin with Anhydride Based Hardener. ***Macromol. Symp.***, V. 411, P. 1-4, 2023.

VON HAGENS, G. Heidelberg Plastination Folder: Collection of all technical leaflets for plastination, 2nd Ed. ed. ***Anatomisches Institut, Universität Heidelberg***, Heidelberg, Germany, 1985.

VON HAGENS, G.; TIEDMANN, K.; KRIZ, W. The current potential of plastination. ***Anat Embryol***, v. 175, p. 411-421, 1987. <https://doi.org/10.1007/BF00309677>.

VÖRÖS, J. The Density and Refractive Index of Adsorbing Protein Layers, **Biophysical Journal**, V. 87, n. 1, P. 553-561, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1529/biophysj.103.030072>.

WEBER, W.; WEIGLEIN, A.; LATORRE, R.; HENRY, R. W. Polyester Plastination of Biological Tissue: P35 Technique. **J. INT. SOC. PLAST** v. 22, p. 50-58, 2007.

WEGMANN, K.; BURKHART, K. J.; BUHL, J.; GAUSEPOHL, T.; KOEBKE, J.; MULLER, L. P. Impact of posterior tibial nail malpositioning on iatrogenic injuries by distal medio-lateral interlocking screws. A cadaveric study on plastinated specimens. **Acta Orthop Belg** v. 78, p. 786–789, 2012.

WEI, R.; HUANG, S.; WANG, Z.; WANG, C.; ZHOU, T.; HE, J.; YUEN, R.; WANG, J. Effect of plasticizer dibutyl phthalate on the thermal decomposition of nitrocellulose. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** v. 134, p. 953–969, 2018.

WILHELM, F.; STRAUS, S.; KRONSEDER, M. Effect of power ultrasonic on the viscosity of anhydride epoxy resin system. **Results in Materials**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2020.100129>.

WOO, Y. J.; KIM, D. S. Cure and thermal decomposition kinetics of a DGEBA/amine system modified with epoxidized soybean oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** v. 144, p. 119–126, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10973-020-10159-2>.

WU, C.; MENG, B. C.; TAM, L-H.; HE, L. Yellowing mechanisms of epoxy and vinyl ester resins under thermal, UV and natural aging conditions and protection methods. **Polymer Testing**, V. 114, 2022.

XU, Z.; TU, L.; ZHENG, Y.; MA, X.; ZHANG, H.; ZHANG, M. Fine architecture of the fascial planes around the lateral femoral cutaneous nerve at its pelvic exit: an epoxy

sheet plastination and confocal microscopy study. **J Neurosurg** v. 131, n. 6, p. 1860-1868, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3171/2018.7.JNS181596>.