

RAE - CEA - 97P03

**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA SOBRE O
PROJETO: “AVALIAÇÃO TÓXICA DE FILMES DE
LÁTEX DE BORRACHA NATURAL VULCANIZADO
PELO PROCESSO CONVENCIONAL COM
ENXOFRE E PELO PROCESSO ALTERNATIVO
COM RADIAÇÃO IONIZANTE”**

**Carmen Diva Saldiva de André
Sílvia Nagib Elia
Celina Koshimizu**

São Paulo, junho de 1997.

CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA
RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA - NÚMERO 97P03

TÍTULO: Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Avaliação tóxica de filmes de Látex de Borracha Natural (LBN) vulcanizado pelo processo convencional com enxofre e pelo processo alternativo com radiação ionizante”

PESQUISADORA: Vânia Elisabeth Campos

ORIENTADORAS: Dra. Selma Matheus Loureiro Guedes
Dra. Olga Sazuco Higa

INSTITUIÇÃO: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)

FINALIDADE: Tese de mestrado

RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE: Carmen Diva Saldiva de André
Sílvia Nagib Elian
Celina Koshimizu

REFERÊNCIA DESTE TRABALHO: André, C. D. S.; Elian, S. N.; Koshimizu, C.
Avaliação tóxica de filmes de látex de borracha natural vulcanizado pelo processo convencional com enxofre e pelo processo alternativo com radiação ionizante. São Paulo, IME - USP, 1997. (RAE - CEA - 97P03)

FICHA TÉCNICA:

BIBLIOGRAFIA:

- AGRESTI, A. (1990). **Categorical Data Analysis**. . New York: John Wiley & Sons, Inc. 559p.
- BUSSAB, W.O. e MORETTIN, P.A. (1990). **Estatística Básica**. 4^a ed. São Paulo: Editora Atual. 308p.
- COLLET, D. (1991). **Modelling Binary Data**. London: Chapman & Hall. 369p.
- DRAPER N. R. and SMITH, H. (1981). **Applied Regression Analysis**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc. 709p.
- FINNEY, D. J. (1978). **Statistical Method in Biological Assay**. London: Charles Griffin & Company Ltd. 508p.
- GRAHAM, D. T., MARK, G. E., POMEROY, A. R. and MACATHUR, E. B. (1984). **In vivo validation of a cell culture test for biocompatibility testing of urinary catheters**. J. Biomed. Mater. Res., **18**, 1125-1135.
- MAKUUCHI, K. (1994). **Progress in Radiation Vulcanization of Natural Rubber Latex**". JAERI-1233. Watanuki, Takasaki, Gunma: Japan Atomic Energy Research Institute.
- NAKAMURA, A., IKARASHI, Y. and KANIWA, M. (1989). **Radiation Vulcanized Natural Rubber Latex is not cytotoxic**". Proceedings of the International Symposium on Radiation Vulcanization of Natural Rubber Latex, JAERI-M 89-228. Takasaki: Japan Atomic Energy Research Institute.
- NETER, J., WASSERMAN, W., NACHTSHEIM, C.J. and KUTNER, M.H. (1996). **Applied Linear Statistical Models**. 4th ed. Homewood: Richard D. Irwing. 1408p.

RATKOWSKY, D. A. (1990). **Handbook of Nonlinear Regression Models**. New York: Marcel Dekker, Inc. 241p.

WILSNACK, R. E. (1976). **Quantitative cell culture biocompatibility testing of medical devices and correlation to animal tests**. *Biomat., Med. Dev., Artif. Org.*, **4**, 235-261.

THE AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. (1981). **Standard test method for agar diffusion cell culture screening for citotoxicity**. ASTM F895-84.

PROGRAMAS COMPUTACIONAIS:

EXCEL for Windows (versão 5.0)

MINITAB for Windows (versão 10.2)

SAS (versão 6.04)

SPSS/PC+ for Windows (versão 6.0)

WORD for Windows (versão 6.0)

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:

[Entre parênteses encontra-se a classificação “Statistical Theory & Method Abstracts ISI”]

Análise descritiva unidimensional (03:010)

Estimação paramétrica unidimensional (04:010)

Análise de regressão clássica (07:020)

Regressão logística (07:090)

Regressão não linear (07:140)

Análise de variância com fator fixo (08:010)

ÁREA DE APLICAÇÃO:

Bioestatística (14:010)

ÍNDICE:

RESUMO.....	7
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO	9
2.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO.....	9
2.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN	12
2.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”.....	12
2.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”	14
3. DESCRIÇÃO DE VARIÁVEIS	17
3.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO.....	17
3.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN	17
3.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”.....	17
3.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”	18
4. ANÁLISE DESCRITIVA	19
4.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO.....	19
4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN	19
4.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”.....	19
4.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”	20
5. ANÁLISE INFERENCIAL.....	21
5.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO.....	21
5.1.1 VULCANIZAÇÃO SEM RADIO-SENSIBILIZADOR.....	21
5.1.2 VULCANIZAÇÃO COM RADIO-SENSIBILIZADOR	23
5.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN	26
5.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”.....	26
5.3 EXPERIMENTO “IN VIVO”	35
6. CONCLUSÕES.....	36

6.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO.....	36
6.1.1 VULCANIZAÇÃO SEM RADIO-SENSIBILIZADOR.....	36
6.1.2 VULCANIZAÇÃO COM RADIO-SENSIBILIZADOR	36
6.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN	37
6.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”.....	37
6.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”	37
 APÊNDICE A - Tabelas.....	 37
APÊNDICE B - Gráficos.....	41

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a viabilidade da utilização da radiação ionizante como alternativa na vulcanização do Látex de Borracha Natural (LBN), dado que a vulcanização realizada pelo processo convencional com enxofre produz material de alta citotoxicidade.

Os ensaios para esse estudo foram realizados em duas etapas:

Na primeira, observou-se o comportamento do látex em diferentes doses de radiação, a fim de se determinar a dose que fornece filmes de LBN vulcanizado pelo processo alternativo com máxima resistência à tração (dose ótima), sem a utilização de radio-sensibilizador, e também, com a utilização do mesmo. Após ajustes de modelos lineares aos dados observados, estimou-se a dose ótima de radiação por ponto e por intervalo para cada um dos casos.

Na segunda, avaliou-se a biocompatibilidade de quatro tipos de filme, confeccionados a partir de látex vulcanizado por quatro diferentes processos, através de um experimento “in vitro” e de um experimento “in vivo”.

No experimento “in vitro”, após ajustes de modelos logísticos e de um modelo de Gompertz aos dados obtidos, estimaram-se as ED50 (Dose Efetiva 50%) para cada tipo de filme por ponto e por intervalo, e compararam-se os filmes através das estimativas obtidas.

No experimento “in vivo”, a comparação entre os filmes de LBN foi feita através de uma análise de variância sobre as variações médias de massa de camundongos que receberam injeção de extrato de um dos filmes de LBN.

1. INTRODUÇÃO

Desde a década de 60, um grande aumento no uso de biomateriais como preservativos, luvas médicas, catéteres, etc. tem sido observado. Por outro lado, casos de alergia, dermatite e urticária devidos ao uso de tais produtos vêm sendo constatados (Graham et al. (1984)). Associado a esses fatos, cresce a consciência da necessidade de que biomateriais sejam também biocompatíveis.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a viabilidade da utilização da radiação ionizante como alternativa na vulcanização do Látex de Borracha Natural (LBN), dado que a vulcanização realizada pelo processo convencional com enxofre produz material de alta citotoxicidade (Wilsnack (1976) e ASTM F895-84 (1981)).

Os ensaios para esse estudo foram realizados em duas etapas: na primeira, observou-se o comportamento do látex em diferentes doses de radiação, a fim de se determinar a dose ótima para vulcanização pelo processo alternativo; na segunda, avaliou-se a biocompatibilidade dos filmes confeccionados a partir do látex vulcanizado pelos diferentes processos através de um teste “in vitro” e de um teste “in vivo”.

2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO

2.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO

O objetivo desta etapa do estudo foi a determinação da dose ótima de radiação para vulcanização do LBN pelo processo alternativo.

Considerou-se dose ótima de radiação aquela na qual se obtiveram filmes de LBN com máxima resistência à tração, pois essa é a característica mais requisitada para o material em estudo.

Para a realização deste estudo, foram aplicadas duas formas de vulcanização do látex pelo processo alternativo:

- vulcanização sem adição de radio-sensibilizador;
- vulcanização com adição de radio-sensibilizador.

A função do radio-sensibilizador era acelerar o efeito da radiação.

Nas duas formas de vulcanização, as doses foram fixadas e variaram de 0 kGy a uma dose máxima, determinada pela queda da resistência à tração dos filmes obtidos. Esse limite pôde ser imposto pois sabe-se, de estudos anteriores, que ao se aumentar a dose de radiação, a resistência à tração dos filmes aumenta até atingir um pico, após o qual, passa a decrescer. (Nakamura et al. (1989)).

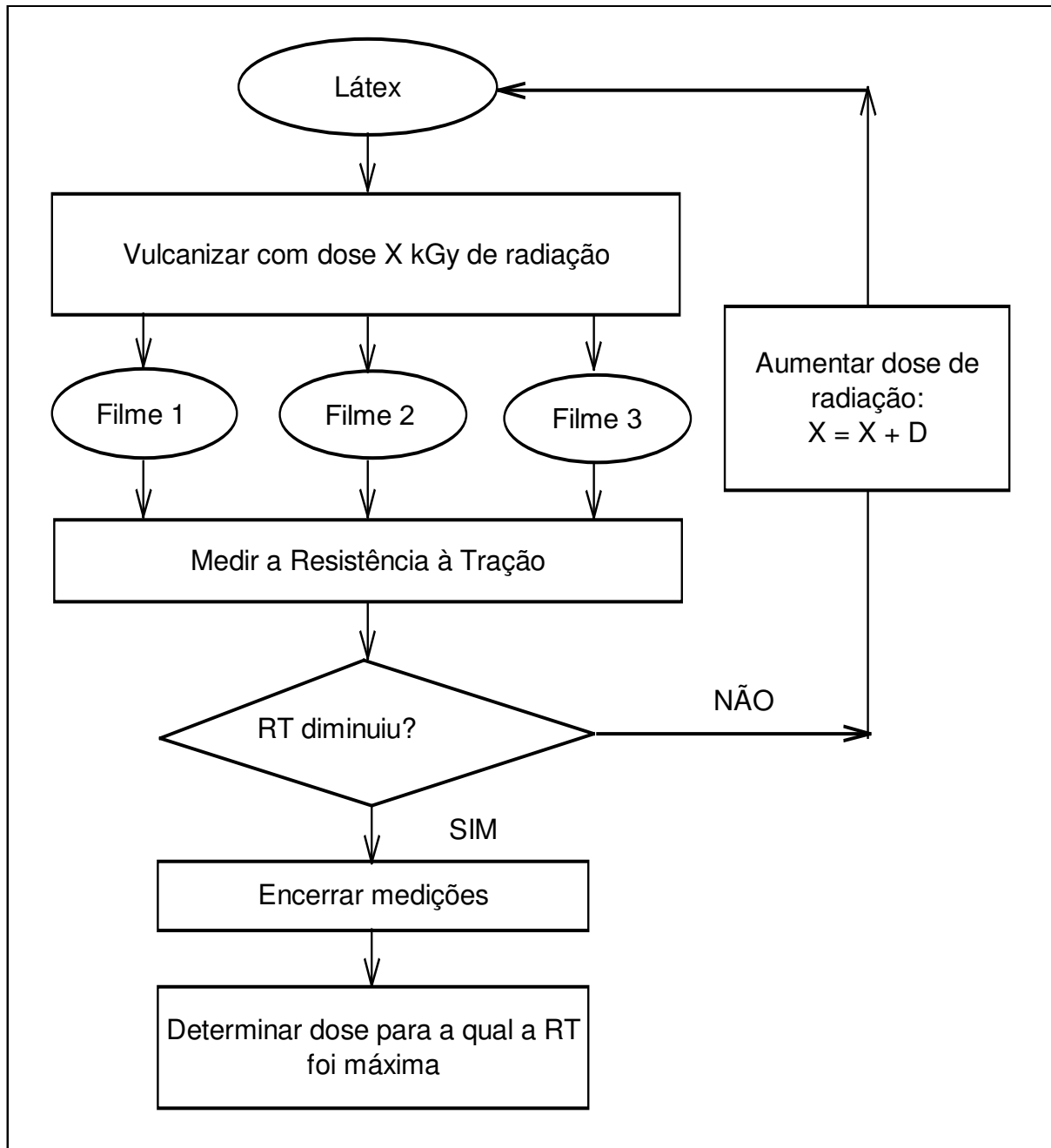
As doses máximas de radiação foram de 440 kGy para a vulcanização sem radio-sensibilizador e 35 kGy para a vulcanização com radio-sensibilizador.

A avaliação da resistência à tração foi feita da seguinte forma:

Para cada dose de radiação, os filmes obtidos foram divididos em três tiras. Através de um teste, mediu-se a intensidade das trações necessárias para o rompimento de cada uma das tiras do filme de LBN vulcanizado sem radio-sensibilizador e para alongamento de cada uma das tiras do filme de LBN vulcanizado com radio-sensibilizador de 930% em relação ao comprimento inicial (módulo 930%). Diferenças na espessura dos filmes, e conseqüentes diferenças na elasticidade dos mesmos, somadas a uma limitação do equipamento utilizado, não permitiram que o teste levasse todas as tiras ao rompimento.

O esquema de obtenção dos dados é apresentado na Figura 2.1. Os dados obtidos encontram-se nas Tabelas A.1 e A.2.

Figura 2.1 - Esquema de obtenção dos dados para a determinação da dose ótima de radiação



2.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN

2.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”

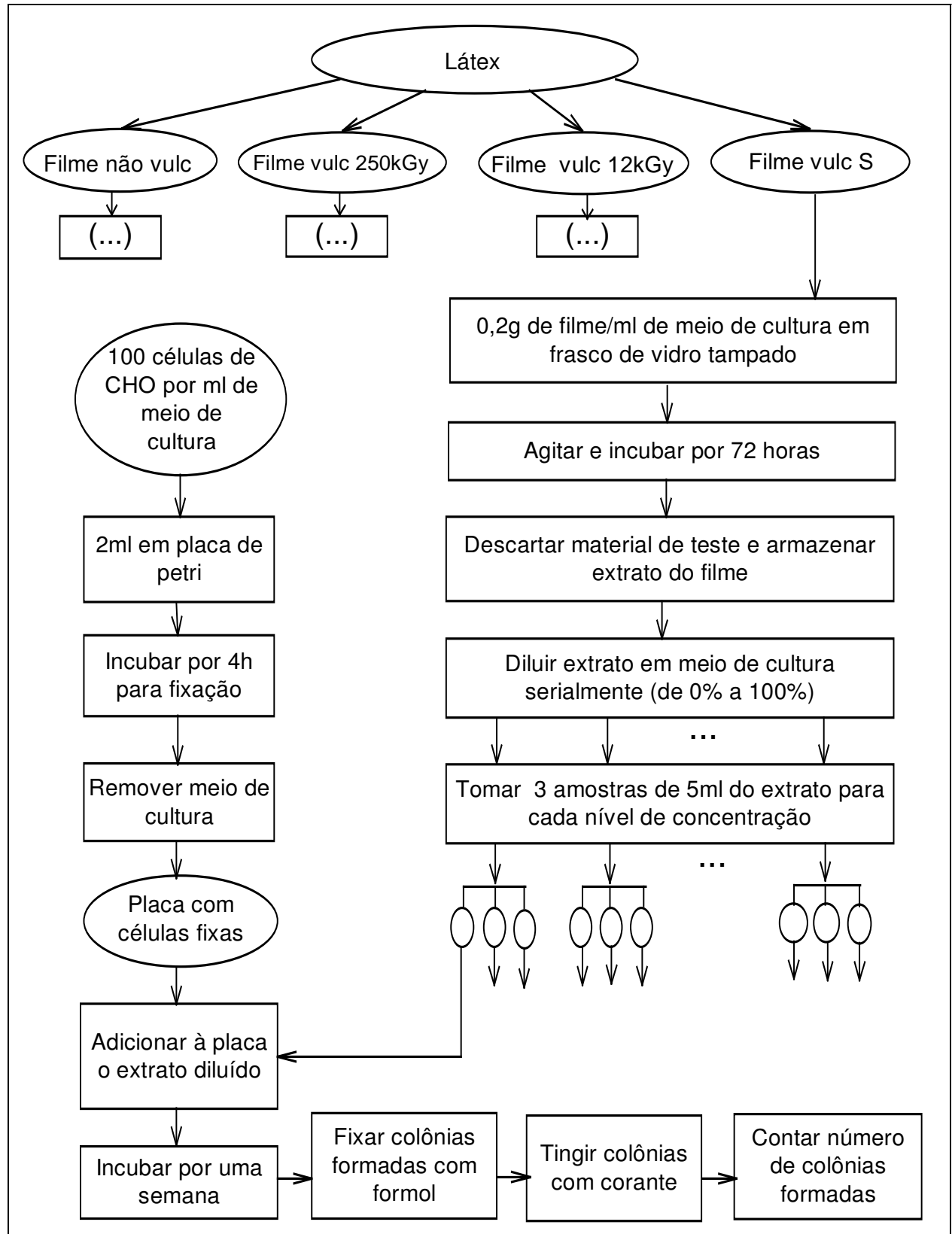
O objetivo deste experimento foi a comparação do grau de citotoxicidade dos filmes confeccionados a partir do látex vulcanizado por diferentes processos através da avaliação de sua capacidade de formação de colônias de células K-1 de Ovário de Hamster Chinês (CHO). Essa avaliação foi feita estimando-se a ED50 (Dose Efetiva 50%), isto é, a concentração de extrato de filme de LBN necessária para se reduzir a formação de colônias para 50% do número de colônias formadas no controle (meio de cultura sem filme), de cada tipo de filme.

Para execução do experimento, amostras do mesmo látex foram vulcanizadas por diferentes métodos, obtendo-se quatro diferentes tipos de filmes: filme de LBN não vulcanizado (matéria-prima bruta), filme de LBN vulcanizado com 250 kGy (vulcanizado apenas com a irradiação), filme de LBN vulcanizado com 12 kGy (irradiação mais radio-sensibilizador) e filme de LBN vulcanizado com enxofre (processo convencional).

Recortes esterilizados de cada um desses filmes foram colocados em frascos de vidro na proporção de 0,2 g de material de teste (filme) por mililitro de meio de cultura das células de CHO. Os frascos foram tampados e seu conteúdo foi agitado e incubado por 72 horas. Após a incubação, o material de teste foi descartado, e os extratos dos filmes foram armazenados. No caso do filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional, os extratos foram diluídos no meio de cultura em sete diferentes níveis de concentração, variando de 0% (controle) a 30%. Nos demais casos, nove níveis de concentração foram utilizados, variando de 30% a 100%, incluindo também o controle (0%).

Suspensões de células de CHO, provenientes da ATCC - American Type Culture Collection, em seu meio de cultura, foram ajustadas para fornecer 100 células por mililitro de meio de cultura. Foram pipetados 2 ml dessa suspensão em placas de petri e incubados para fixação por 4 horas.

Figura 2.2 - Esquema de obtenção dos dados para o experimento “in vitro”



Após a incubação, removeu-se o meio de cultura através de sucção e, em seguida, adicionou-se às placas com as células fixadas o extrato de LBN diluído, preparado anteriormente (as medidas foram feitas em triplicata, ou seja, para cada nível de concentração do extrato, foram utilizadas três placas distintas contendo células de CHO). O número exato de células fixadas nas placas era desconhecido, mas estima-se que fosse em torno de duzentos.

Após incubação por uma semana, houve formação de colônias em torno das células sobreviventes. As colônias formadas foram fixadas na placa com formol e tingidas para que se tornassem visíveis e pudessem ser contadas. A contagem foi feita parcialmente, sendo os resultados obtidos, estimativas do número total de colônias formadas em cada placa.

O esquema de obtenção dos dados é apresentado na Figura 2.2. Os dados obtidos encontram-se nas Tabelas A.3 a A.6.

2.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”

O objetivo deste experimento foi a comparação entre os diferentes tipos de filmes de LBN quanto à sua citotoxicidade, através da observação dos efeitos físicos da injeção dos extratos de cada filme em camundongos.

Para execução do experimento, amostras do mesmo látex foram vulcanizadas por diferentes métodos, fornecendo quatro diferentes tipos de filmes: filme de LBN não vulcanizado, filme de LBN vulcanizado com 250 kGy (só com irradiação), filme de LBN vulcanizado com 12 kGy (irradiação mais radio-sensibilizador) e filme de LBN vulcanizado com enxofre.

Para cada um dos quatro tipos de filmes, prepararam-se quatro meios extratores: Salina, Etanol/Salina, Polietilenoglicol e Óleo. Apenas no caso do filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional, não foi utilizado o óleo como meio extrator.

Cada meio extrator foi colocado em quatro frascos de vidro juntamente com recortes esterilizados de um tipo de filme em cada frasco, na proporção de 0,2 g de material de teste (filme) por mililitro de meio extrator. Apenas o óleo foi colocado em três frascos, pois não foi utilizado como meio extrator para o filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional. O conteúdo dos frascos foi agitado e incubado por 72 horas. Após a incubação, o material de teste foi descartado, e os extratos dos filmes foram armazenados.

Os quinze diferentes extratos obtidos foram injetados puros, intraperitonalmente, em camundongos, na proporção de 20 ml por quilograma de animal. Foi utilizado um grupo de cinco camundongos para cada tipo de extrato, totalizando 75 unidades amostrais.

Para cada grupo de camundongos que recebeu a injeção de um tipo de extrato, foi considerado um grupo controle, que recebeu injeção do meio extrator puro, também na proporção de 20 ml por quilograma de animal. Utilizaram-se, assim, mais 75 unidades amostrais, totalizando 150 animais.

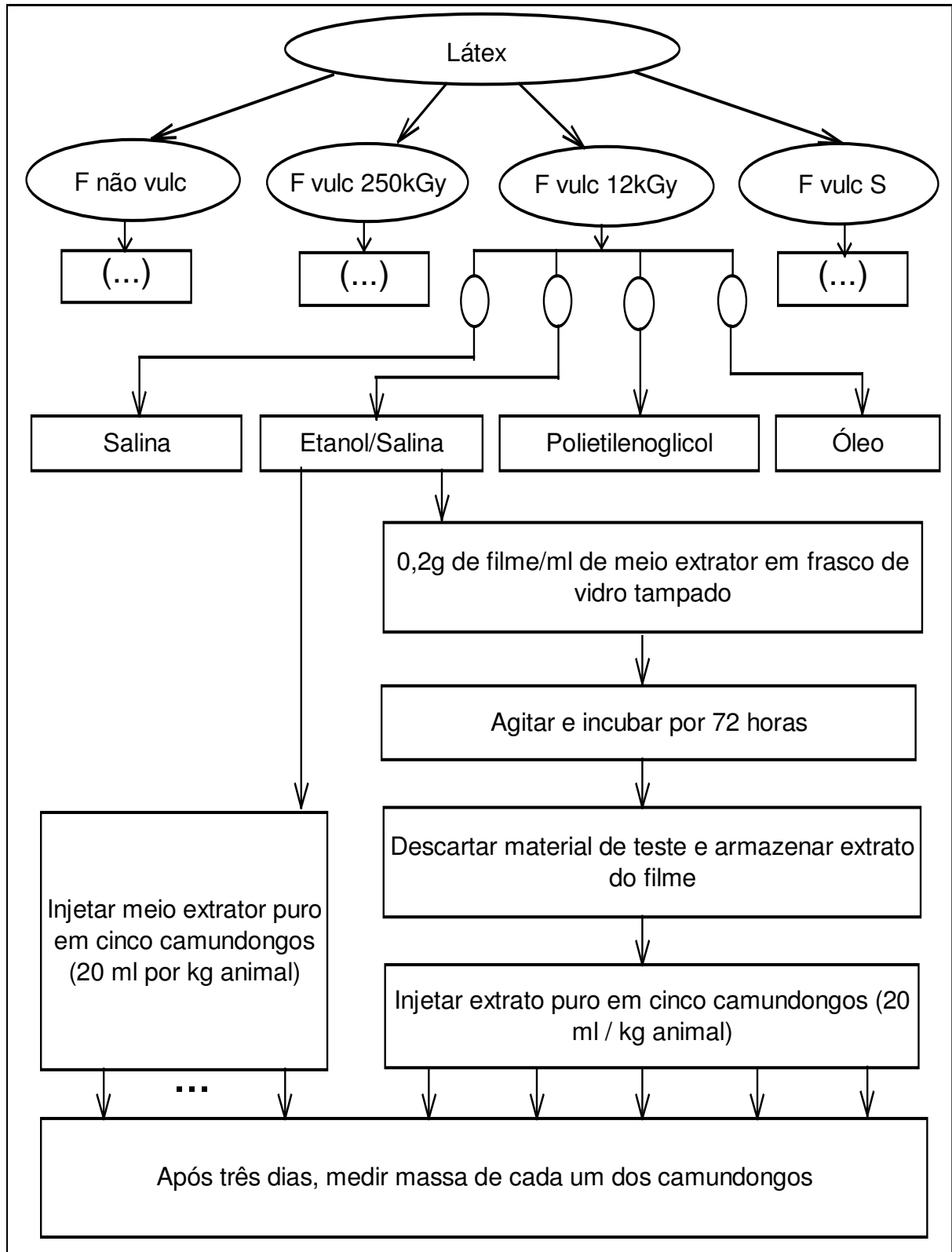
Nenhum dos animais submetidos aos tratamentos morreu.

As massas de todos os camundongos haviam sido medidas antes da injeção, visando à ministração correta das doses de extrato ou meio extrator puro. Uma queda significativa na massa dos animais após a injeção dos extratos poderia evidenciar um efeito da citotoxicidade dos filmes de LBN. Esse fato motivou a observação da variação de massa dos camundongos três dias após a aplicação do tratamento.

O esquema de obtenção dos dados é apresentado na Figura 2.3.

Os camundongos utilizados no experimento eram todos machos, provenientes do Biotério do IPEN, constituindo uma amostra homogênea.

Figura 2.3 - Esquema de obtenção dos dados para o experimento “in vivo”



3. DESCRIÇÃO DE VARIÁVEIS

3.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO

VARIÁVEL INDEPENDENTE:

Dose de radiação: As doses de radiação foram fixadas e variaram de 0 kGy a 440 kGy para filmes de LBN vulcanizado sem radio-sensibilizador e de 0 kGy a 35 kGy para filmes de LBN vulcanizado com radio-sensibilizador.

VARIÁVEL DEPENDENTE:

Resistência à tração: No caso dos filmes de LBN vulcanizado sem radio-sensibilizador, esta variável fornece a intensidade da tração necessária para rompimento de cada unidade amostral (tira dos filmes). Já, no caso dos filmes de LBN vulcanizado com radio-sensibilizador, a medida fornecida é a intensidade da tração necessária para alongamento da unidade amostral, de 930% em relação ao comprimento inicial (módulo 930%). Nos dois casos, a unidade utilizada foi o MPa (Mega Pascal).

3.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN

3.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”

VARIÁVEIS INDEPENDENTES:

Filme utilizado: Quatro tipos de filmes de LBN foram utilizados: filme não vulcanizado (matéria-prima bruta), filme de LBN vulcanizado com 250 kGy (apenas com irradiação), filme de LBN vulcanizado com 12 kGy (irradiação mais radio-sensibilizador) e filme de LBN vulcanizado com enxofre (processo convencional).

Concentração do extrato: Os extratos dos filmes de LBN foram diluídos no meio de cultura das células de Ovário de Hamster Chinês em sete diferentes níveis de concentração, no caso do filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional, variando de 0% (controle) a 30%. Nos demais casos, nove níveis de concentração foram utilizados, variando de 30% a 100%, incluindo também o controle.

VARIÁVEL DEPENDENTE:

Número de colônias formadas: Número de colônias formadas na placa de teste após incubação em contato com os extratos dos filmes de LBN.

3.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”

VARIÁVEL INDEPENDENTE:

Solução injetada: Foram considerados trinta tratamentos, dos quais quinze eram extratos obtidos das combinações dos meios extratores (Salina, Etanol/Salina (1:20), Polietilenoglicol e Óleo) com os filmes de LBN (filme não vulcanizado (matéria-prima bruta), filme de LBN vulcanizado com 250 kGy (apenas com irradiação), filme de LBN vulcanizado com 12 kGy (irradiação mais radio-sensibilizador) e filme de LBN vulcanizado com enxofre (processo convencional)), exceto no caso do óleo, que não foi utilizado como meio extrator para o filme de LBN vulcanizado com enxofre. Os outros quinze tratamentos considerados foram os controles correspondentes aos extratos obtidos.

VARIÁVEL DEPENDENTE:

Variação de massa dos camundongos: Diferença entre as massas de cada camundongo antes do tratamento e três dias após o mesmo. A unidade utilizada foi o grama (g).

4. ANÁLISE DESCRITIVA

4.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO

As Figuras B.1 e B.2, apresentam diagramas de dispersão das médias da resistência à tração dos filmes de LBN e as correspondentes doses de radiação. Conforme expectativas, observou-se, inicialmente, um aumento na resistência à tração e, posteriormente, a queda da mesma, em função do aumento da dose de radiação.

No caso da vulcanização sem radio-sensibilizador, o aumento ocorreu até, aproximadamente, a dose de 250 kGy, após a qual, a resistência à tração passou a diminuir. Já, no caso da vulcanização com radio-sensibilizador, a resistência máxima aparenta ser dada, aproximadamente, pela dose de 12 kGy.

Os diagramas de dispersão elaborados indicam, ainda, que as velocidades de crescimento e decrescimento da resistência à tração são iguais no caso da vulcanização sem radio-sensibilizador e que a velocidade do decrescimento da resistência à tração é inferior à de crescimento, no caso da vulcanização com radio-sensibilizador. Esse comportamento era esperado, conforme indica literatura referente ao assunto (Nakamura et al. (1989) e Makuuchi (1994)).

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN

4.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”

O número de colônias formadas esperado no meio de cultura puro (sem adição do extrato de LBN) era próximo de duzentos. Contudo, observando-se os dados obtidos (Tabelas A.3 a A.6), nota-se que nos casos dos controles para os filmes não vulcanizado e vulcanizado pelo processo convencional, o número de colônias formadas varia de 100 a 122, enquanto que nos demais casos, esse número ultrapassa duzentos.

Essa variação pode ter sido acarretada pela não fixação das células devido a uma possível heterogeneidade das placas (as placas eram supostamente homogêneas, contudo, essa suposição não foi verificada). Outros fatores que podem ter contribuído para esse resultado são: erro na contagem das colônias, erro de estimativa ou mesmo fusão de duas ou mais colônias em uma só.

Para comparar os quatro tipos de filmes, consideraram-se valores de dose-resposta para cada um deles, onde as doses correspondem às concentrações dos extratos e as respostas às proporções de colônias formadas em relação ao controle (dose 0).

Os valores de dose-resposta observados são apresentados na Figura B.3. Pelo gráfico, nota-se que o filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional impediu a formação de colônias de células de CHO com concentração bastante inferior à necessária para os outros filmes. Essa é uma indicação de que os filmes de LBN vulcanizado pelo processo alternativo (utilizando radiação) são menos citotóxicos que aquele vulcanizado pelo processo convencional (com enxofre).

4.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”

Analisando-se as estatísticas relativas aos dados obtidos (Tabela A.7), observa-se que, em média, todos os camundongos sofreram um aumento de massa.

Para admitirmos evidências do efeito da citotoxicidade dos extratos dos filmes, deveríamos observar a redução da massa dos camundongos que receberam a injeção de extrato de filme, ou menor aumento em relação aos que receberam a injeção do meio extrator puro. Contudo, os resultados observados na Tabela A.7 e o gráfico das variações médias das massas dos camundongos (Figura B.4) não indicam a existência de diferença entre a variação média da massa dos camundongos que receberam a injeção dos extratos de filme em relação aos que foram tratados com o meio extrator puro.

5. ANÁLISE INFERENCIAL

5.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO

5.1.1 VULCANIZAÇÃO SEM RADIO-SENSIBILIZADOR

Com a finalidade de se estimar a dose ótima de radiação para vulcanização do LBN pelo processo alternativo, sem a utilização do radio-sensibilizador, ajustou-se um modelo de regressão polinomial do segundo grau (Draper and Smith (1981)) aos dados observados. A partir desse modelo, estimou-se a dose que produz filmes de LBN com maior resistência à tração por ponto e por intervalo.

A descrição da análise estatística é dada a seguir:

- **modelo polinomial do segundo grau:**

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_i,$$

onde:

Y_i é a resistência à tração do i -ésimo filme de LBN, em MPa, $i = 1, \dots, 12$;

X_i é a i -ésima dose de radiação, em kGy, $i = 1, \dots, 12$;

β_j são os parâmetros do modelo, $j = 0, 1, 2$; e

ε_i é o erro aleatório, $i = 1, \dots, 12$.

As suposições desse modelo são as seguintes:

$$\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2);$$

ε_i independentes.

Esse modelo tem como características a existência de um ponto de máximo e crescimento e decrescimento da variável resposta (Y) em função da variável independente (X) com igual velocidade (simetria). A escolha desse modelo foi sugerida

pelo diagrama de dispersão apresentado na Figura B.1 e também por considerações teóricas.

Os parâmetros foram estimados através do método de mínimos quadrados, utilizando o pacote estatístico Minitab for Windows versão 10.2. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.1:

Tabela 5.1 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão e respectivos erros padrão

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão da estimativa
β_0	9,88080	0,73360
β_1	0,06907	0,00838
β_2	-0,00015	0,00001

Resultados dos testes t (Draper and Smith (1981)) para os parâmetros do modelo mostraram que todos os parâmetros estimados são significativamente diferentes de zero (nível descritivo (p) <0,001).

Assim, o modelo ajustado foi:

$$\hat{Y}_i = 9,880 + 0,069 X_i - 0,00015 X_i^2.$$

A validade das suposições do modelo foi verificada através de uma análise de resíduos (Draper and Smith (1981)), conforme descrição a seguir.

Analisando-se o gráfico de probabilidade normal (Figura B.5), observa-se uma relação aproximadamente linear entre os resíduos observados e seus valores esperados sob a hipótese de normalidade. Isso indica que a suposição de normalidade dos dados observados está satisfeita.

Para testar essa suposição, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk (Neter et al. (1996)), que confirmou a normalidade dos resíduos (p>0,10).

A Figura B.6 apresenta o gráfico dos resíduos padronizados em função dos valores ajustados da variável *resistência à tração*. A análise desse gráfico mostra que os resíduos estão bem distribuídos em uma faixa restrita entre -2 e 2,5. Esse fato indica que a suposição de homocedasticidade (igualdade de variâncias) dos erros está satisfeita e que o modelo adotado é adequado aos dados observados.

A dose ótima de radiação em função dos parâmetros do modelo é dada pelo ponto de máximo do polinômio do segundo grau, ou seja:

$$\text{Dose ótima} = D = -\frac{\beta_1}{2\beta_2}. \quad (5.1)$$

Assim, substituindo-se os parâmetros β_1 e β_2 por suas respectivas estimativas em (5.1), obteve-se:

$$\text{Dose ótima estimada} = \hat{D} = -\frac{0,06907}{(-2) * (-0,00015)} = 233,21 \text{ kGy}.$$

A estimativa do erro padrão do estimador da dose ótima foi calculada através do método Delta (Agresti (1990)), resultando em:

$$EP(\hat{D}) = 28,25 \text{ kGy}.$$

Um intervalo de confiança (IC) para a dose ótima de radiação, com coeficiente de confiança de 95%, foi construído a partir das estimativas acima, obtendo-se:

$$IC(D; 95\%) = [177,84; 288,58].$$

5.1.2 VULCANIZAÇÃO COM RADIO-SENSIBILIZADOR

No caso da vulcanização do LBN pelo processo alternativo, com utilização do radio-sensibilizador, o diagrama de dispersão apresentado na Figura B.2 sugeriu que a estimação da dose ótima de radiação fosse feita ajustando-se um modelo de regressão segmentada (Draper and Smith (1981)) aos dados observados. Assim, foram ajustadas

duas retas: uma para doses menores que 9,5 kGy e outra para doses maiores que 14 kGy. Extrapolando-se as retas ajustadas no intervalo de 9,5 a 14 kGy, considerou-se como dose ótima de radiação o ponto de interseção entre as duas retas ajustadas, construindo-se, também, um intervalo de confiança para esse ponto.

A descrição da análise estatística é dada a seguir:

- **modelo de regressão segmentada:**

$$Y_i = \beta_{10} + \beta_{11}X_i + \varepsilon_i, \quad \text{se } 0 \text{ kGy} < X_i \leq 9,5 \text{ kGy}$$

$$Y_i = \beta_{20} + \beta_{21}X_i + \varepsilon_i, \quad \text{se } X_i \geq 14 \text{ kGy}$$

onde

Y_i é a resistência à tração do i -ésimo filme de LBN, em MPa, $i = 1, \dots, 7$;

X_i é a i -ésima dose de radiação, em kGy, $i = 1, \dots, 7$; e

ε_i é o erro aleatório, $i = 1, \dots, 7$.

As suposições desse modelo são as seguintes:

$$\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2);$$

ε_i independentes;

A adoção desses modelos admite que a dose na qual se obtém filmes de LBN vulcanizado pelo processo alternativo, com a utilização do radio-sensibilizador, com máxima resistência à tração, está entre 9,5 kGy e 14 kGy. Essa suposição foi feita com base em resultados empíricos obtidos em estudos anteriores (Nakamura (1989) e Makuuchi (1994)) e na análise descritiva do diagrama de dispersão apresentado na Figura B.2.

A interpretação dos parâmetros pode ser feita da seguinte forma:

β_{10} : resistência à tração do filme de LBN esperada para a dose de radiação nula (i.e. resistência à tração da matéria-prima bruta);

β_{11} : “acrécimo” médio na resistência à tração para um aumento de uma unidade na dose de radiação, para doses menores que a dose de 9,5 kGy;

β_{21} : “acrécimo” médio na resistência à tração para um aumento de uma unidade na dose de radiação, para dose maiores que a dose de 14 kGy.

Os parâmetros foram estimados através do método de mínimos quadrados, utilizando o pacote estatístico Minitab for Windows versão 10.2. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.2:

Tabela 5.2 - Estimativas dos parâmetros dos modelos de regressão e respectivos erros padrão

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão da estimativa
β_{10}	6,31450	0,66100
β_{11}	1,26290	0,10320
β_{20}	19,34460	0,72220
β_{21}	-0,08846	0,02931

Portanto, os modelos ajustados foram:

$$\hat{Y}_i = 6,314 + 1,263 X_i, \quad \text{se } 0 \text{ kGy} < X_i \leq 9,5 \text{ kGy}$$

$$\hat{Y}_i = 19,345 - 0,0885 X_i, \quad \text{se } X_i \geq 14 \text{ kGy}$$

Para estes ajustes, não foi feita análise de resíduos, pois o número de observações é muito pequeno (quatro para o primeiro modelo e três para o segundo).

A dose ótima de radiação em função dos parâmetros dos modelos é dada pelo ponto de interseção entre as funções das retas esperadas, ou seja:

$$\text{Dose ótima} = D = \frac{\beta_{20} - \beta_{10}}{\beta_{11} - \beta_{21}}. \quad (5.2)$$

Substituindo-se β_{10} , β_{11} e β_{20} por suas respectivas estimativas em (5.2), obteve-se:

$$\text{Dose \acute{o}tima estimada} = \hat{D} = -\frac{19,3446 - 6,3145}{1,2629 + 0,0885} = 9,64\text{kGy}.$$

Novamente, utilizou-se o método Delta para a estimcao do erro padrão do estimador da dose ótima, que resultou em:

$$EP(\hat{D}) = 1,38\text{kGy}.$$

Utilizando as estimativas acima, construiu-se um intervalo de confiança para a dose ótima de radiao, com coeficiente de confiança de 95%, obtendo-se:

$$IC(D; 95\%) = [6,94; 12,34].$$

5.2 AVALIAO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN

5.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”

Para comparao dos quatro tipos de filmes (filme de LBN não vulcanizado, filme de LBN vulcanizado com irradiao de 250 kGy sem radio-sensibilizador, filme de LBN vulcanizado com irradiao de 12 kGy com radio-sensibilizador e filme de LBN vulcanizado com enxofre) em relao ao grau de citotoxicidade, inicialmente, ajustaram-se modelos de regressão logística (Collet (1991)), no caso dos três primeiros filmes e o modelo de Gompertz (Ratkowsky (1990)), no caso do filme de LBN vulcanizado com enxofre. A comparao entre os filmes foi feita através das respectivas ED50 (Dose Efetiva 50%).

A descrio da análise estatística  dada a seguir:

- **modelo logístico:**

$$\pi_j(X_i) = \frac{\exp(\beta_{0j} + \beta_{1j} X_i)}{1 + \exp(\beta_{0j} + \beta_{1j} X_i)},$$

onde:

$\pi_j(X_i)$ é a proporção de colônias formadas na i-ésima concentração do extrato do filme j, sendo j=1, para o filme de LBN não vulcanizado; j=2, para o filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250 kGy, sem radio-sensibilizador e j=3, para o filme de LBN vulcanizado com irradiação de 12 kGy, com radio-sensibilizador;

X_i é a i-ésima concentração do extrato do filme de LBN, em porcentagem, $0 \leq X_i \leq 100$.

Interpretação dos parâmetros:

β_{0j} : valor do logito¹ para a concentração nula;

β_{1j} : “acrécimo” no logito para um aumento de uma unidade na concentração do extrato do filme de LBN.

Dose Efetiva 50%:

No caso do modelo logístico, a dose efetiva 50% em função dos parâmetros β_{ij} é dada pela concentração X_i tal que $\pi_j(X_i)=0,50$, ou seja:

$$\text{Dose Efetiva 50\%} = \text{ED50} = -\frac{\beta_{0j}}{\beta_{1j}}. \quad (5.3)$$

¹ A transformação logito é definida como: $g(x) = \ln \left[\frac{\pi(x)}{1 - \pi(x)} \right]$.

- **modelo de Gompertz:**

$$\pi_4(X_i) = \exp\left(-\exp(\beta_{04} + \beta_{14} X_i)\right),$$

onde:

$\pi_4(X_i)$ é a proporção de colônias formadas na i-ésima concentração do extrato do filme de LBN vulcanizado com enxofre;

X_i é a i-ésima concentração do extrato do filme de LBN vulcanizado com enxofre, em porcentagem, $0 \leq X_i \leq 100$.

Interpretação dos parâmetros:

β_{04} : valor do gompito² para a concentração nula;

β_{14} : “acrécimo” no gompito para um aumento de uma unidade na concentração do extrato do filme de LBN.

Dose Efetiva 50%:

No caso do modelo de Gompertz, a dose efetiva 50% em função dos parâmetros β_{ij} é dada por:

$$\text{Dose Efetiva 50\%} = \text{ED50} = -\frac{\ln(-\ln 0,50) - \beta_{04}}{\beta_{14}}. \quad (5.4)$$

Ambos os modelos apresentam como características a forma sigmoidal e assíntotas zero e um. A diferença básica entre os dois modelos é o fato de que o modelo logístico é reflexivamente simétrico em relação ao seu ponto de inflexão, ao contrário do modelo de Gompertz.

Os resultados dos ajustes realizados são dados a seguir.

² A transformação gompito é definida por: $g(x) = \ln(-\ln(\pi(x)))$

ESTIMAÇÃO DA DOSE EFETIVA 50% E CONSTRUÇÃO DE INTERVALOS DE CONFIANÇA

a) Filme de LBN não vulcanizado

Os parâmetros do modelo de regressão logística foram estimados através do método de máxima verossimilhança, utilizando o pacote estatístico SAS versão 6.04. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.3:

Tabela 5.3 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão logística e respectivos erros padrão estimados

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão estimado
β_{01}	12,6356	1,1393
β_{11}	-0,2662	0,0236

Resultados dos testes da razão de verossimilhança mostraram que todos os parâmetros estimados são significativamente diferentes de zero ($p < 0,001$).

Assim, o modelo ajustado foi:

$$\hat{\pi}_1(X_i) = \frac{\exp(12,6356 - 0,2662 X_i)}{1 + \exp(12,6356 - 0,2662 X_i)}.$$

A qualidade do ajuste do modelo foi testada através do teste de Pearson (Collet (1991), concluindo-se que o modelo proposto é adequado ($p > 0,361$).

Assim, substituindo-se os parâmetros β_{01} e β_{11} por suas respectivas estimativas, em (5.3), obteve-se:

$$\text{Dose efetiva 50\% estimada} = \hat{ED}_{50} = -\frac{12,6356}{-0,2662} = 47,47 \ \%.$$

A estimativa do erro padrão do estimador da dose efetiva 50% foi calculada através do método Delta, resultando em:

$$\hat{EP}(\hat{ED}_{50}) = 0,60\text{kGy}.$$

Um intervalo de confiança para a ED50, com coeficiente de confiança de 95%, é dado por:

$$IC(ED_{50}; 95\%) = [46,31; 48,64].$$

b) Filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250 kGy, com radio-sensibilizador

Utilizando o mesmo procedimento adotado em a), foram obtidas as estimativas apresentadas na Tabela 5.4:

Tabela 5.4 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão logística e respectivos erros padrão estimados

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão estimado
β_{02}	12,5309	1,1562
β_{12}	-0,2286	0,0209

Resultados dos testes da razão de verossimilhança mostraram que todos os parâmetros estimados são significativamente diferentes de zero ($p < 0,001$).

O modelo ajustado foi, então:

$$\hat{\pi}_2(X_i) = \frac{\exp(12,5309 - 0,2286 X_i)}{1 + \exp(12,5309 - 0,2286 X_i)}.$$

A qualidade do ajuste do modelo foi testada através do teste de Pearson, que rejeitou a adequação do modelo. Contudo, o gráfico apresentado na Figura B.9 indica que o modelo se adequa aos dados, podendo-se atribuir o motivo do resultado

negativo do teste à uma dispersão das observações em torno do modelo proposto maior que a esperada. Em função desse resultado, as variâncias dos estimadores dos parâmetros do modelo foram corrigidas pelo fator de heterogeneidade H (Finney (1978)), que nesse caso é igual a 2,5302.

Substituindo-se os parâmetros β_{02} e β_{12} por suas respectivas estimativas, em (5.3), obteve-se:

$$\text{Dose Efetiva 50\% Estimada} = ED50 = -\frac{12,5309}{-0,2286} = 54,81 \, \%.$$

A estimativa do erro padrão do estimador da dose ótima foi calculado através do método Delta, resultando em:

$$\hat{EP}(\hat{ED50}) = 0,72 \text{ kGy}.$$

Utilizando os valores obtidos, foi construído o seguinte intervalo de confiança para a ED50, com coeficiente de confiança de 95%:

$$IC(ED50; 95\%) = [53,39; 56,23].$$

c) Filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250 kGy, com radio-sensibilizador

As estimativas de máxima verossimilhança dos parâmetros do modelo de regressão logística são apresentados na Tabela 5.5:

Tabela 5.5 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão logística e respectivos erros padrão estimados

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão estimado
β_{03}	12,6417	2,2378
β_{13}	-0,2540	0,0445

Resultados dos testes da razão de verossimilhança mostraram que todos os parâmetros estimados são significativamente diferentes de zero ($p < 0,001$).

Assim, o modelo ajustado foi:

$$\hat{\pi}_3(X_i) = \frac{\exp(12,6417 - 0,2540 X_i)}{1 + \exp(12,6417 - 0,2540 X_i)}.$$

O ajuste do modelo foi rejeitado pelo teste de Pearson ($p < 0,001$). Contudo, o gráfico apresentado na Figura B.10, indica que o modelo se adequa aos dados. Assim sendo, utilizou-se novamente o fator de heterogeneidade H, que nesse caso é igual a 8,2555.

Substituindo-se os parâmetros β_{03} e β_{13} por suas respectivas estimativas, em (5.3), obteve-se:

$$\text{Dose Efetiva 50\% Estimada} = \hat{ED}_{50} = -\frac{12,6417}{-0,2540} = 49,77 \text{ \%}.$$

Mais uma vez, estimou-se o erro padrão do estimador da dose ótima através do método Delta, obtendo-se:

$$\hat{EP}(\hat{ED}_{50}) = 1,21 \text{ kGy}.$$

Assim, um intervalo de confiança para a ED50, com coeficiente de confiança de 95%, é dado por:

$$IC(ED_{50}; 95\%) = [47,40; 52,14].$$

d) Filme de LBN vulcanizado com enxofre

Os parâmetros do modelo de Gompertz foram estimados através do método de mínimos quadrados, utilizando o SPSS/PC+ for Windows versão 6.0. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão de Gompertz e respectivos erros padrão estimados

Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão da estimativa
β_{04}	-22,3415	0,0000
β_{14}	7,8235	0,0000

Assim, tem-se o seguinte modelo ajustado:

$$\hat{\pi}_4(X_i) = \exp(-\exp(-22,3415 + 7,8235 X_i)).$$

Devido ao pequeno número de observações, o modelo ajustou-se perfeitamente aos dados, gerando, portanto, estimativas dos erros padrão nulas. No entanto, esse modelo deve ser utilizado com cautela, pois foi ajustado com base em um número reduzido de pontos.

Substituindo-se os parâmetros β_{04} e β_{14} por suas respectivas estimativas, em (5.4), obteve-se:

$$\text{Dose Efetiva 50\% Estimada} = ED_{50} = -\frac{\ln(-\ln 0,50) - 7,8235}{-22,3415} = 2,81\%.$$

O erro padrão da estimativa acima não pôde ser calculado pois os erros padrão são nulos. Pelo mesmo motivo, não foi possível construir um intervalo de confiança para o ED50 no caso de filme de LBN vulcanizado com enxofre.

Um resumo dos resultados obtidos na estimação das ED50 dos quatro tipos de filme é dado na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 - Quadro resumo das estimativas e intervalos de confiança obtidos para as doses efetivas 50%

Vulcanização	ED50 Estimado	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
não vulc.	47,47	0,60	46,31	48,64
vulc. 250kGy	54,81	0,72	53,39	56,23
vulc. 12kGy	49,77	1,21	47,40	52,14
vulc. Enxofre	2,81	-	-	-

COMPARAÇÕES ENTRE OS QUATRO TIPOS DE FILMES

Para comparar os quatro tipos de filmes (filme de LBN não vulcanizado, filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250 kGy sem radio-sensibilizador, filme de LBN vulcanizado com irradiação de 12 kGy com radio-sensibilizador e filme de LBN vulcanizado com enxofre) em relação ao grau de citotoxicidade, foram construídos intervalos de confiança para as diferenças de suas ED50. O nível de significância global (Neter et al. (1996)) adotado para as comparações foi $\alpha=5\%$.

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 - Comparações entre os quatro tipos de filmes de LBN

Comparação	Diferença	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
Filme 2 - Filme 1	7,33	0,94	5,33	9,33
Filme 3 - Filme 1	2,30	1,35	-0,57	5,17
Filme 3 - Filme 2	-5,04	1,41	-8,04	-2,04

Filme 1: Filme de LBN não vulcanizado;

Filme 2: Filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250kGy, sem radio-sensibilizador;

Filme 3: Filme de LBN vulcanizado com irradiação de 12kGy, com radio-sensibilizador;

Analisando os intervalos de confiança na Tabela 5.8, observa-se que não há diferença significativa entre o grau de citotoxicidade dos filmes de LBN não vulcanizado e vulcanizado com irradiação de 12kGy, com radio-sensibilizador. Observa-se, também, que o filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250kGy, sem radio-sensibilizador é menos citotóxico que os demais, pois possui ED50 maior que as correspondentes aos outros filmes.

Quanto ao filme de LBN vulcanizado com enxofre, o gráfico apresentado na Figura B.3 indica que é o mais citotóxico dentre os quatro tipos de filme avaliados. Além disso, o valor estimado para a ED50 desse filme é muito menor que nos outros três, o que indica que seu grau de citotoxicidade é bem maior que os dos demais filmes.

5.3 EXPERIMENTO “IN VIVO”

Para comparar os quatro tipos de filmes de LBN, vulcanizados por diferentes processos, foram adotados quatro modelos de análise de variância com um fator fixo (Neter et al. (1996)), um para cada meio extrator.

A variável resposta considerada foi a variação de massa dos camundongos que receberam injeção de extrato de determinado filme. O fator envolvido possui oito níveis: quatro correspondentes aos extratos de filmes, e quatro correspondentes aos controles de cada filme. A análise de variância visou à comparação das variações médias de massa dos camundongos, obtidas através dos quatro tipos de filme e dos quatro controles.

As suposições do modelo de análise de variância com um fator fixo foram testadas, estando todas satisfeitas. Segue descrição da verificação dessas suposições.

Analizando-se os gráficos de probabilidade normal (Figuras B.13 a B.16), observam-se relações aproximadamente lineares entre os resíduos observados e seus valores esperados sob a hipótese de normalidade. Esse fato indica que a suposição de normalidade dos dados está satisfeita.

O teste de Shapiro-Wilk (Neter et al. (1996)) confirmou a hipótese de normalidade para os meios extratores *Polietilenoglicol* ($p > 0,10$) e *Óleo* ($p > 0,03$). Contudo, no caso dos meios extratores *Salina* e *Etanol/Salina*, o teste rejeitou essa hipótese ($p < 0,01$). Pelas Figuras B.13 e B.14, nota-se que os desvios existentes não são graves. Sendo a análise de variância uma técnica robusta nesses casos, prosseguiu-se com a análise.

A igualdade de variâncias nos oito tratamentos, foi testada através do teste de Levene (Neter et al. (1996)), tendo sido aceita para todos os meios extratores ($p > 0,04$).

Assim, ajustaram-se quatro modelos de análise de variância e, conforme indicou a análise descritiva, concluiu-se que as variações médias de massa dos camundongos são iguais para todos os tratamentos ($p > 0,15$).

6. CONCLUSÕES

6.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE ÓTIMA DE RADIAÇÃO

6.1.1 VULCANIZAÇÃO SEM RADIO-SENSIBILIZADOR

A estimativa da dose de radiação D que fornece filmes de LBN vulcanizado pelo processo de radiação ionizante, sem utilização do radio-sensibilizador, com máxima resistência à tração é igual a:

$$\hat{D} = 233,21 \text{ kGy}.$$

Um intervalo de confiança para D , com coeficiente de confiança de 95%, é dado por::

$$IC(D; 95\%) = [177,84; 288,58].$$

6.1.2 VULCANIZAÇÃO COM RADIO-SENSIBILIZADOR

A dose de radiação D que fornece filmes de LBN vulcanizado pelo processo de radiação ionizante, com utilização do radio-sensibilizador, com máxima resistência à tração foi estimada de forma aproximada, obtendo-se:

$$\hat{D} = 9,64 \text{ kGy}.$$

Um intervalo de confiança para D , com coeficiente de confiança de 95%, é:

$$IC(D; 95\%) = [6,94; 12,34].$$

6.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS FILMES DE LBN

6.2.1 EXPERIMENTO “IN VITRO”

Dentre os quatro filmes avaliados, o filme de LBN vulcanizado com enxofre foi considerado o mais citotóxico. Já, o filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250kGy, sem radio-sensibilizador foi considerado o menos citotóxico. Não se detectou diferença significativa em relação ao grau de citotoxicidade dos filmes de LBN não vulcanizado e vulcanizado com irradiação de 12kGy, com radio-sensibilizador.

6.2.2 EXPERIMENTO “IN VIVO”

Para todos os meios extratores, não se detectou efeito da injeção de extrato de filme na variação média de massa dos camundongos.

APÊNDICE A

Tabelas

Tabela A.1 - Resistência à tração observada em amostras de filmes de látex vulcanizado sem radio-sensibilizador (MPa)

Dose (kGy)	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03	Média
0,00	10,22	9,71	10,31	10,08
20,00	11,96	11,58	11,85	11,80
40,00	9,65	12,51	12,55	11,57
75,00	13,90	12,93	12,98	13,27
120,00	17,49	19,16	18,75	18,47
156,60	18,78	13,69	16,24	16,24
198,70	16,66	15,16	16,30	16,04
230,00	16,95	19,05	18,84	18,28
270,00	16,59	19,06	19,08	18,24
298,30	17,42	17,05	17,92	17,46
360,00	16,47	16,20	15,44	16,04
440,00	12,45	10,59	10,65	11,23

Tabela A.2 - Resistência à tração observada em amostras de filmes de látex vulcanizado com radio-sensibilizador - módulo 930% (MPa)

Dose (kGy)	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03	Média
0,00	5,91	5,82	6,02	5,92
5,00	13,60	13,07	13,15	13,27
7,00	16,02	14,16	16,31	15,50
9,50	17,84	17,69	17,62	17,72
14,00	18,51	17,90	18,67	18,36
20,00	16,92	17,21	17,52	17,22
35,00	16,97	16,10	15,98	16,35

Tabela A.3 - Número de colônias de células de CHO formadas em diferentes concentrações do extrato de filme de LBN não vulcanizado

	Concentração do Extrato (%)								
	0,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0	90,0	100,0
Amostra 1	100	108	91	45	0	0	0	0	0
Amostra 2	113	103	85	41	0	0	0	0	0
Amostra 3	106	101	97	42	0	0	0	0	0
Média	106	104	91	43	0	0	0	0	0
Proporção ³	1,00	0,98	0,86	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela A.4 - Número de colônias de células de CHO formadas em diferentes concentrações do extrato de filme de LBN vulcanizado com 250 kGy (com irradiação)

	Concentração do Extrato (%)								
	0,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0	90,0	100,0
Amostra 1	206	200	199	162	52	0	0	0	0
Amostra 2	207	220	201	159	51	0	0	0	0
Amostra 3	222	211	197	180	64	0	0	0	0
Média	212	210	199	167	56	0	0	0	0
Proporção ³	1,00	0,99	0,94	0,79	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela A.5 - Número de colônias de células de CHO formadas em diferentes concentrações do extrato de filme de LBN vulcanizado com 12 kGy (irradiação mais radio-sensibilizador)

	Concentração do Extrato (%)								
	0,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0	90,0	100,0
Amostra 1	238	220	196	166	0	0	0	0	0
Amostra 2	207	210	193	98	0	0	0	0	0
Amostra 3	214	224	168	160	0	0	0	0	0
Média	220	218	186	141	0	0	0	0	0
Proporção ³	1,00	0,99	0,85	0,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela A.5 - Número de colônias de células de CHO formadas em diferentes concentrações do extrato de filme de LBN vulcanizado pelo processo convencional (com enxofre)

	Concentração do Extrato (%)						
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	20,0	30,0
Amostra 1	114	107	0	0	0	0	0
Amostra 2	122	119	0	0	0	0	0
Amostra 3	120	108	0	0	0	0	0
Média	119	111	0	0	0	0	0

³ Refere-se ao quociente entre número médio de colônias contadas para cada concentração do extrato de filme de LBN e o número médio de colônias contadas para o controle.

Proporção³ 1,00 0,94 0,00 0,00 0,00 0,00 0,00

Tabela A.7 - Média e Desvio Padrão (DP) da variação de massa dos camundongos (g)

Solução		Tipo de vulcanização do Látex de Borracha Natural							
		Não Vulc		Vulc 250kGy		Vulc 12kGy		Vulc Enxofre	
		Controle	Extrato	Controle	Extrato	Controle	Extrato	Controle	Extrato
Salina	Média	1,77	1,40	1,93	1,79	2,22	2,14	2,80	2,96
	DP	0,33	0,71	1,00	1,42	0,42	0,20	1,72	0,49
Etanol/Salina	Média	1,59	1,55	2,01	1,96	2,36	2,23	2,80	2,24
	DP	0,63	0,53	0,70	1,57	0,57	0,27	0,39	1,11
Polietilenoglicol	Média	2,62	2,31	2,68	2,62	2,43	2,65	2,65	2,34
	DP	1,22	1,23	0,88	1,09	0,40	0,51	0,27	1,10
Óleo	Média	-	-	1,74	1,54	2,03	2,02	2,73	1,93
	DP	-	-	1,30	1,04	0,21	0,35	0,48	0,92

APÊNDICE B

Gráficos

Figura B.1 - Resistência à tração observada em filmes de látex vulcanizado sem radio-sensibilizador (MPa)

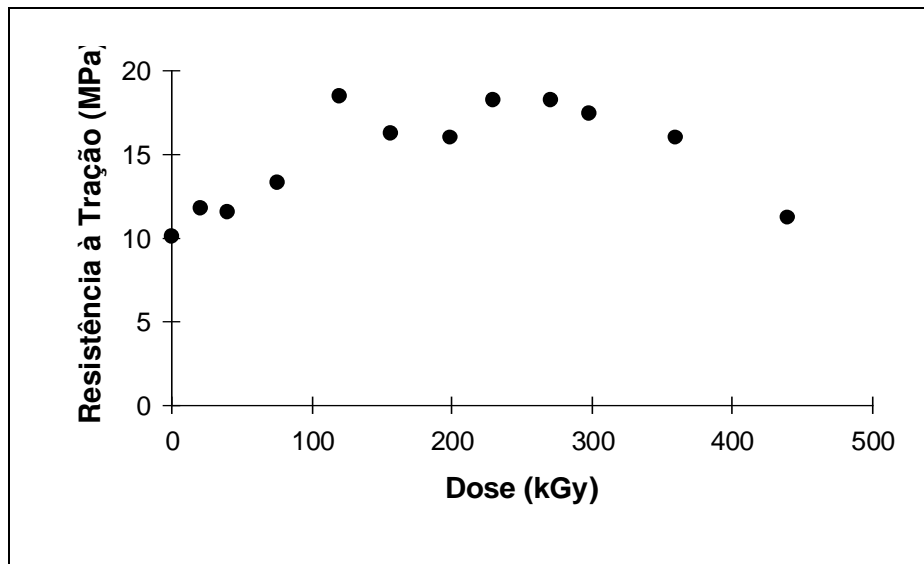


Figura B.2 - Resistência à tração observada em amostras de filmes de látex vulcanizado com radio-sensibilizador - módulo 930% (MPa)

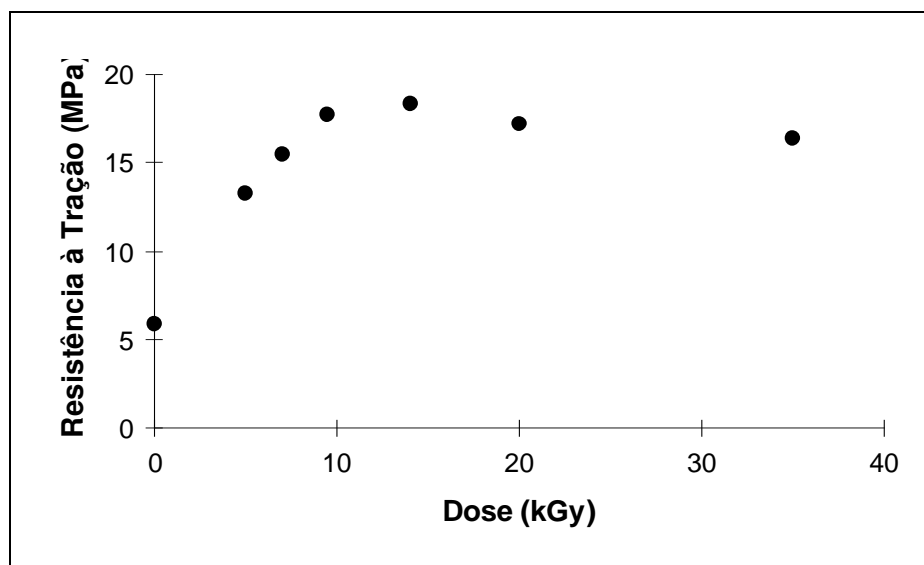


Figura B.3 - Proporção de colônias de células de CHO formadas em diferentes concentrações de extratos de filmes de LBN em relação ao controle

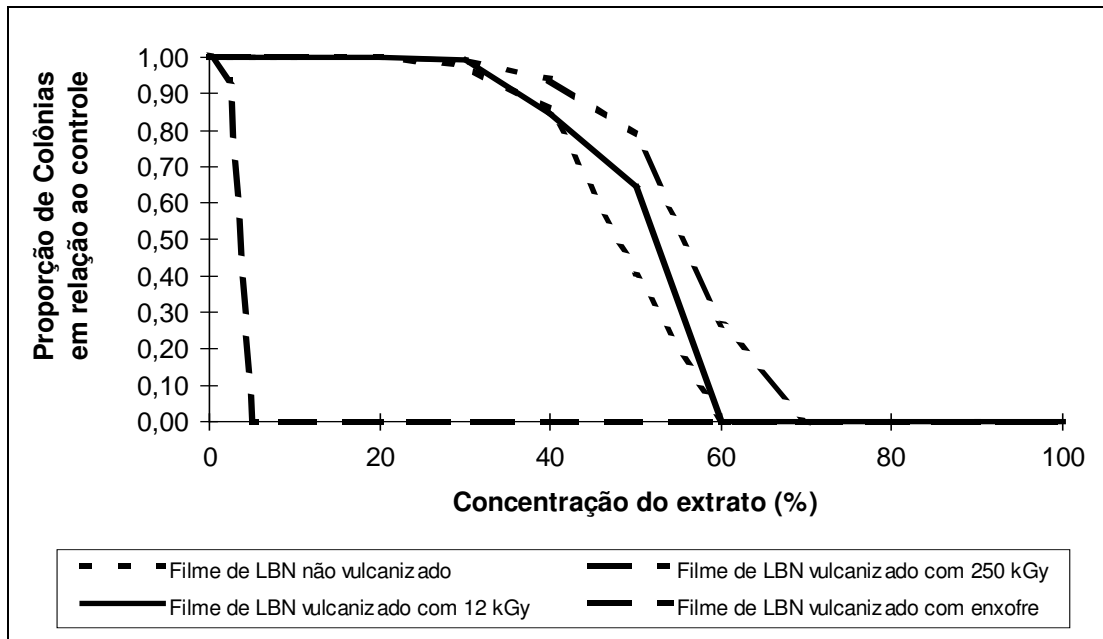


Figura B.4 - Variação média das massas dos camundongos (g)

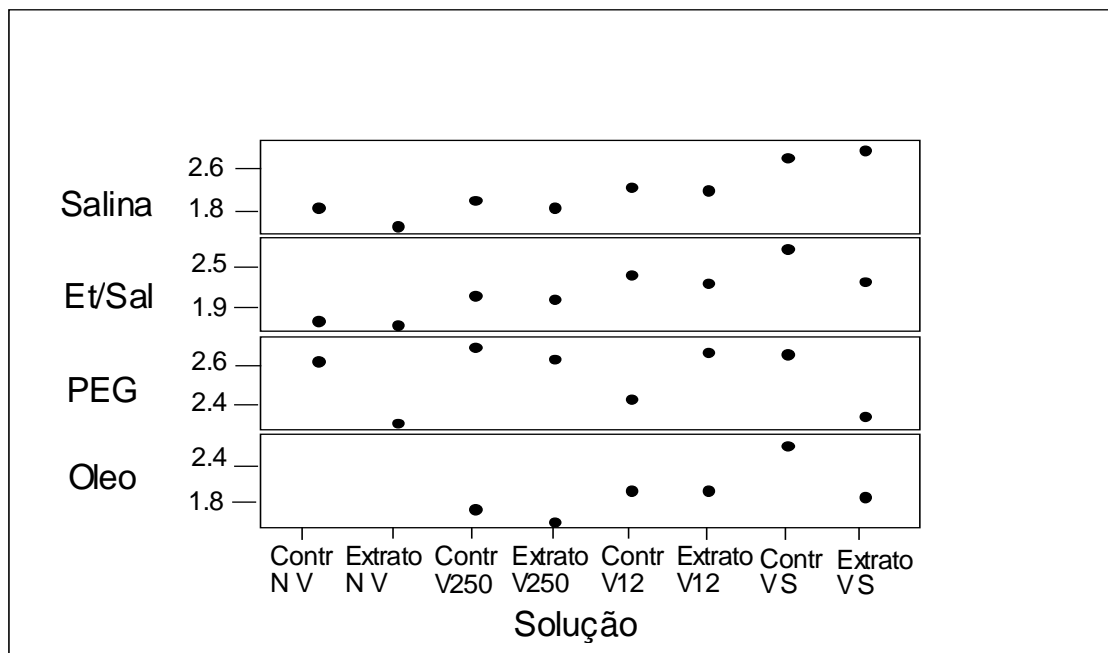


Figura B.5 - Gráfico de probabilidade normal dos resíduos do modelo que relaciona *resistência à tração* e *dose de radiação* no processo de vulcanização sem radio-sensibilizador

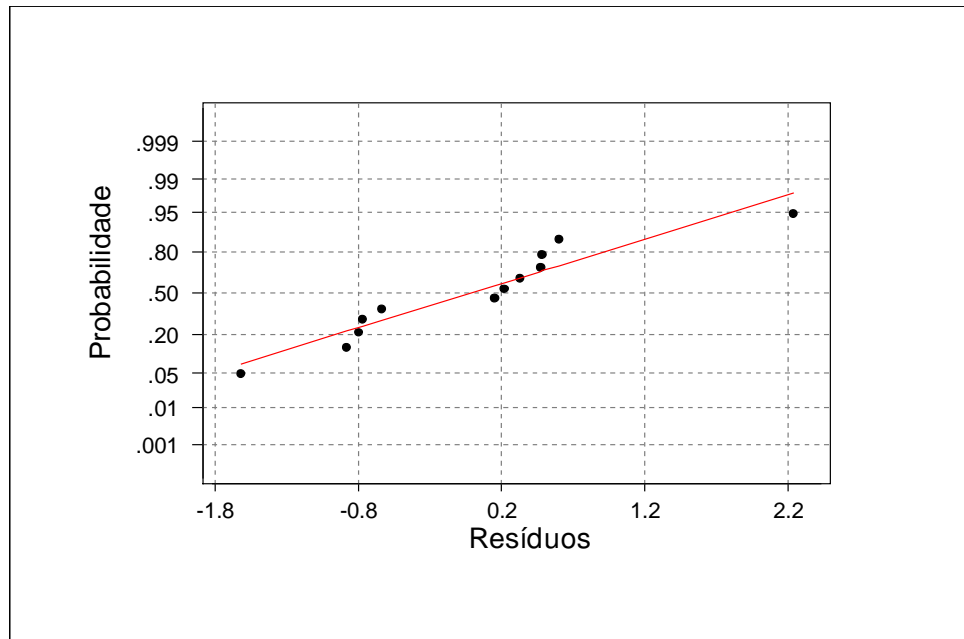


Figura B.6 - Gráfico dos resíduos do modelo que relaciona *resistência à tração* e *dose de radiação* no processo de vulcanização sem radio-sensibilizador em função dos valores ajustados

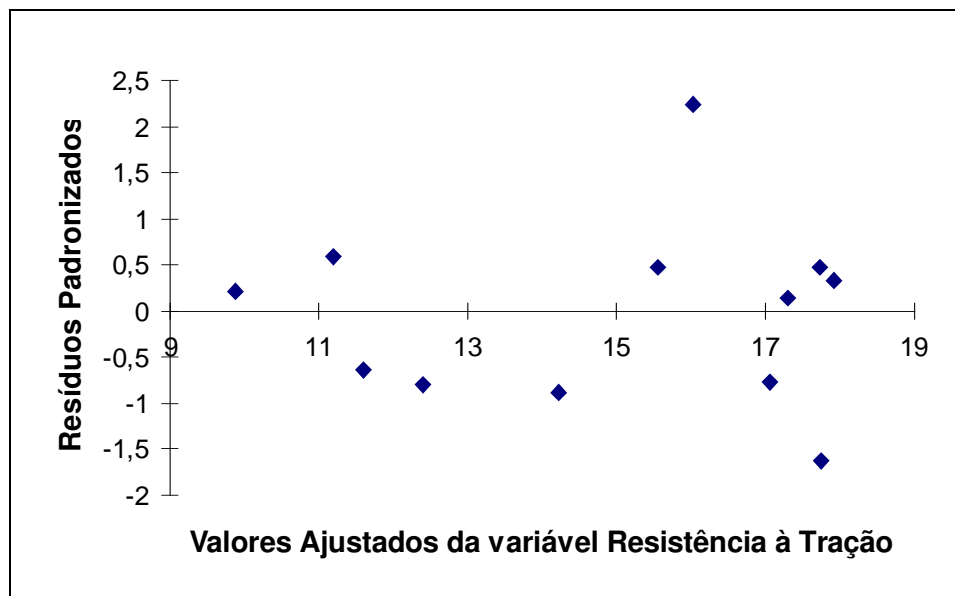


Figura B.7 - Curva ajustada para *resistência à tração* em função da *dose de radiação* - vulcanização com radio-sensibilizador

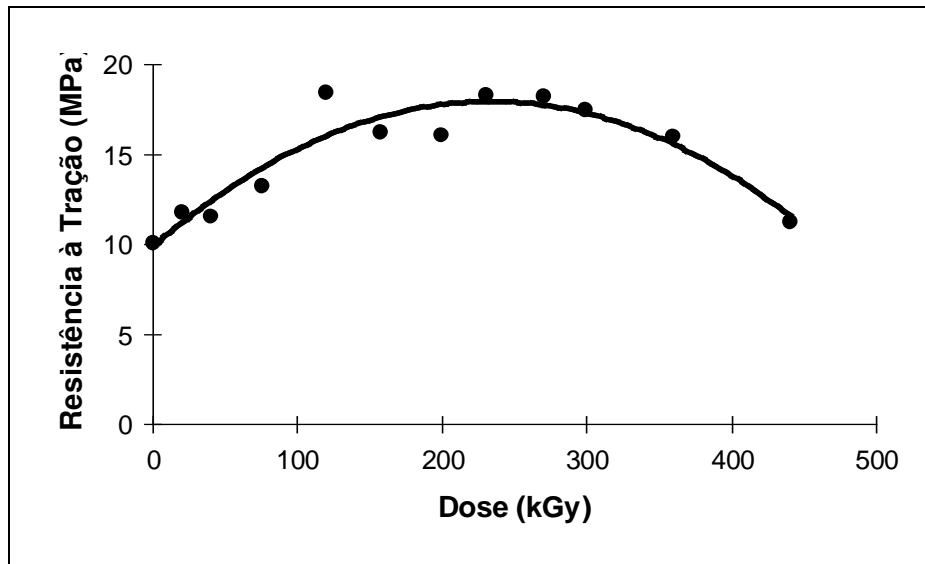


Figura B.8 - Curva ajustada para *resistência à tração* em função da *dose de radiação* - vulcanização com radio-sensibilizador

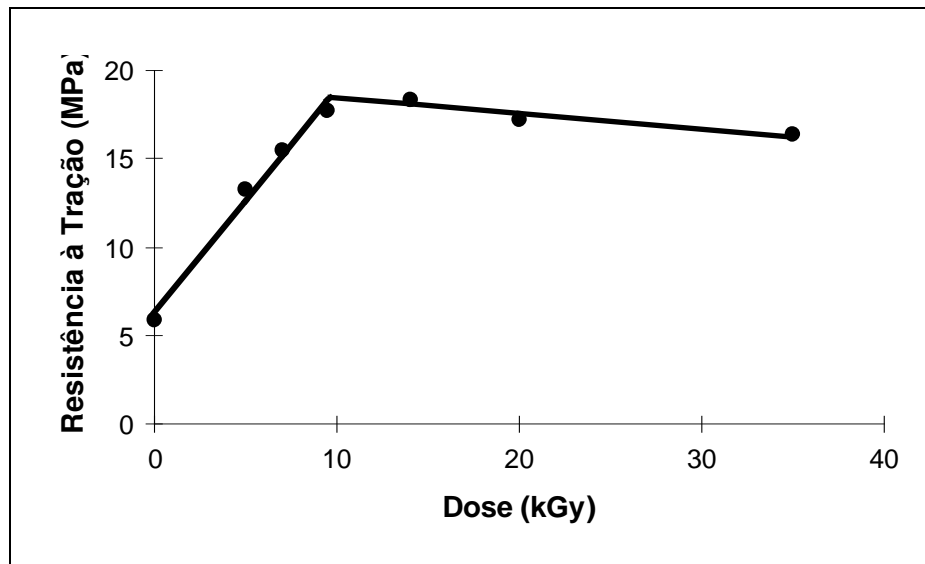


Figura B.9 - Curva ajustada para proporção de colônias formadas em função da concentração do extrato de filme de LBN não vulcanizado

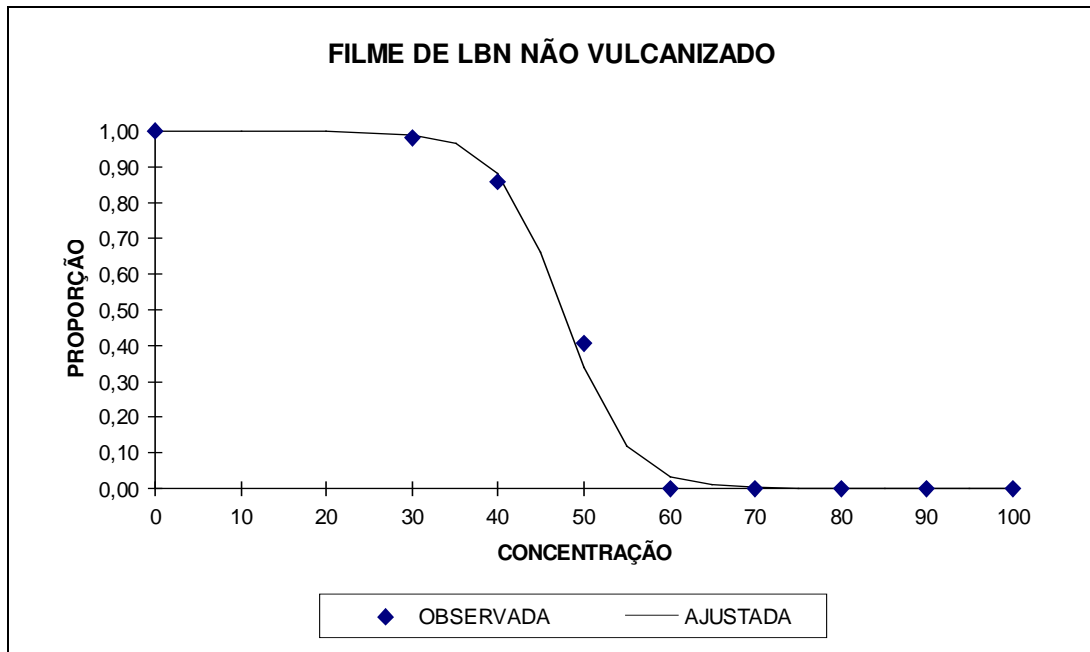


Figura B.10 - Curva ajustada para proporção de colônias formadas em função da concentração do extrato de filme de LBN vulcanizado com irradiação de 250kGy sem radio-sensibilizador (RS)

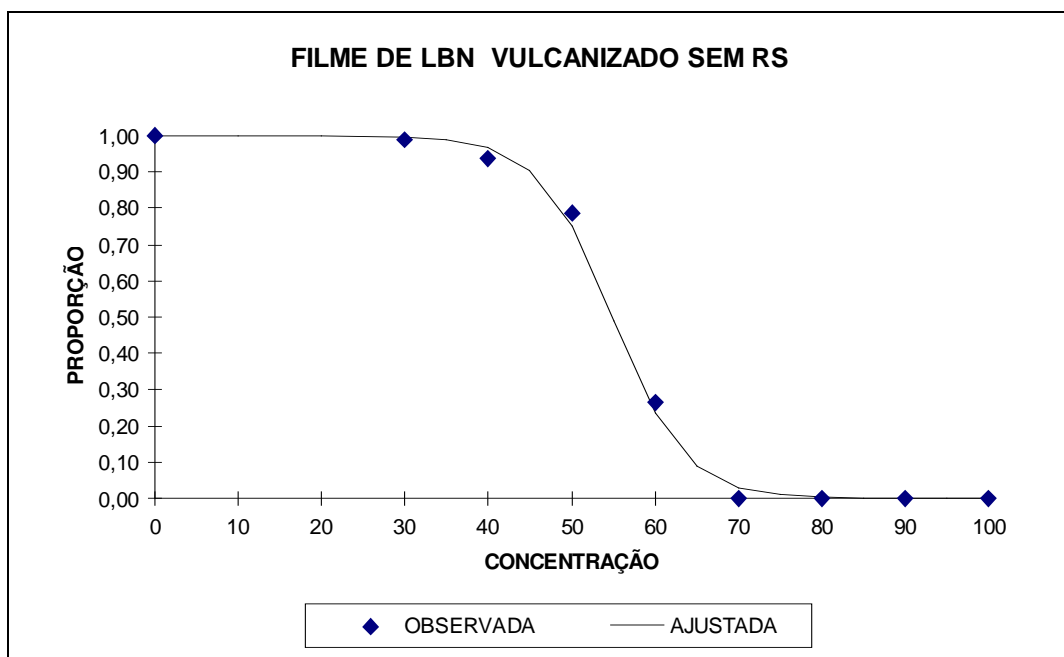


Figura B.9 - Curva ajustada para proporção de colônias formadas em função da concentração do extrato de filme de LBN vulcanizado com irradiação de 12kGy com radio-sensibilizador (RS)

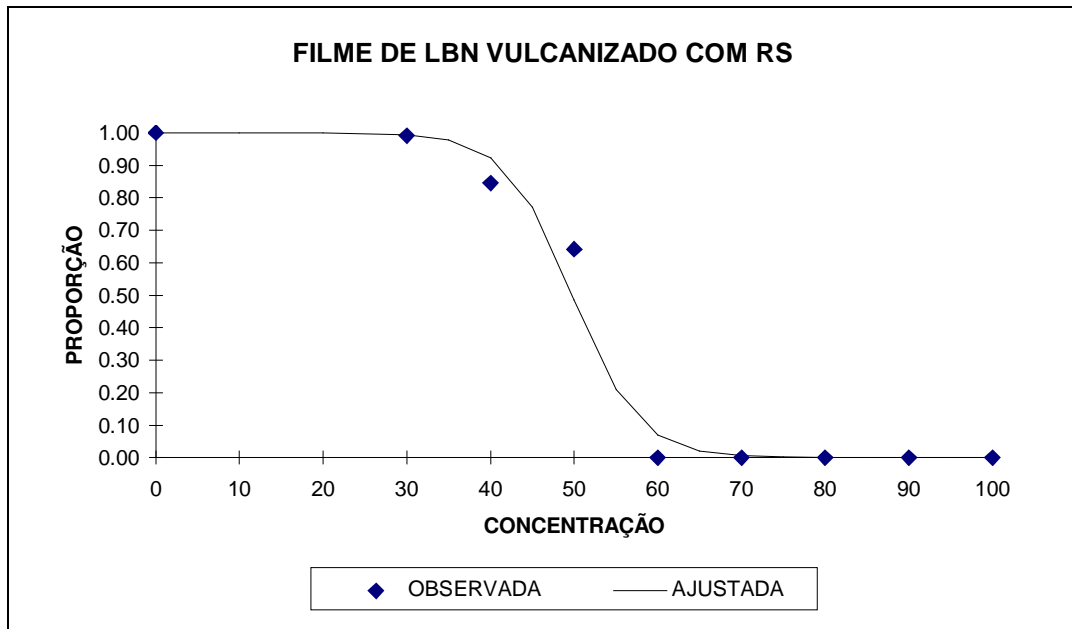


Figura B.9 - Curva ajustada para proporção de colônias formadas em função da concentração do extrato de filme de LBN vulcanizado com enxofre

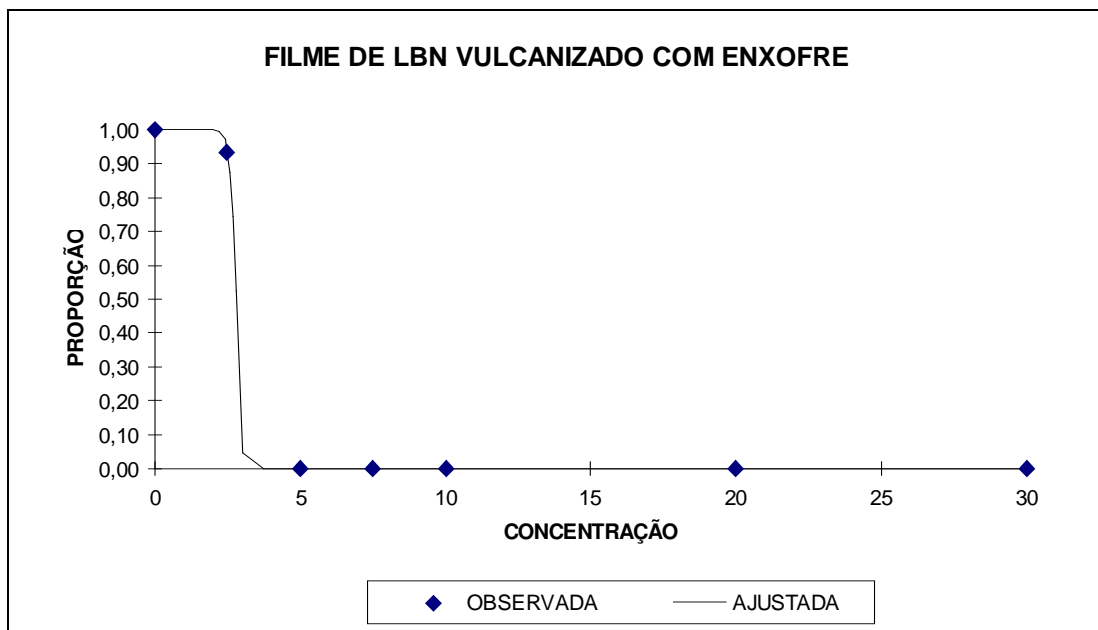


Figura B.10 - Gráfico de probabilidade normal dos resíduos do modelo de análise de variância - Meio extrator: Salina

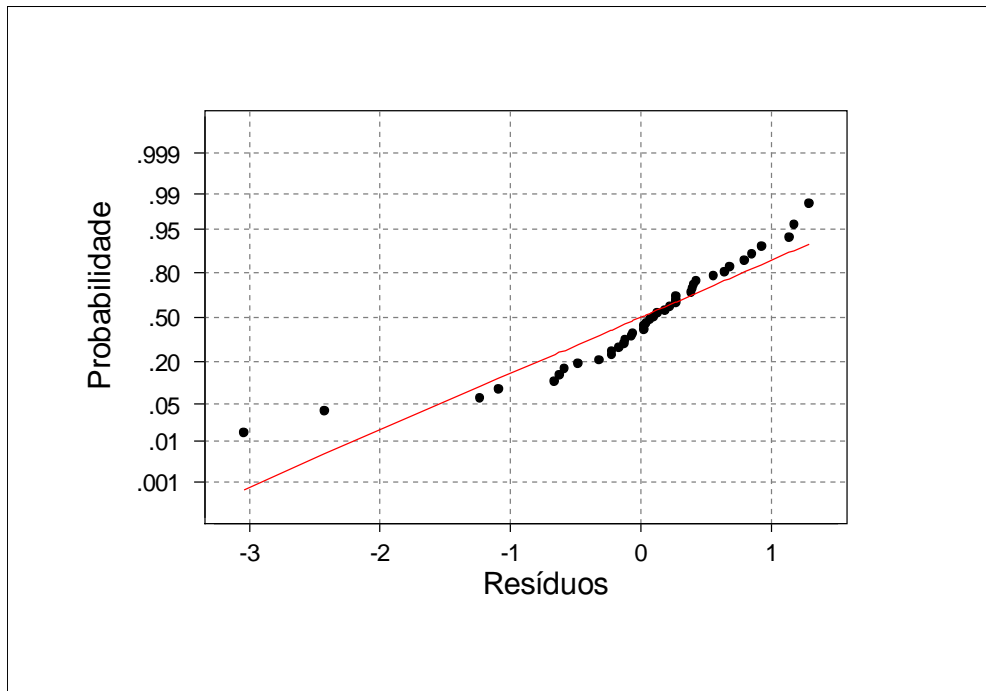


Figura B.11 - Gráfico de probabilidade normal dos resíduos do modelo de análise de variância - Meio extrator: Salina/Etanol

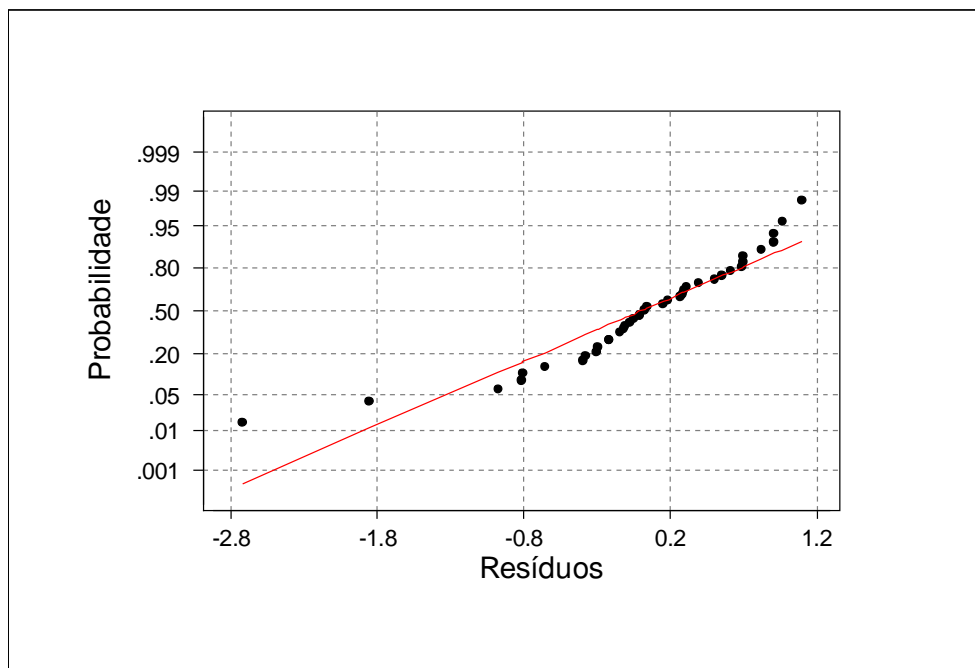


Figura B.12 - Gráfico de probabilidade normal dos resíduos do modelo de análise de variância - Meio extrator: Polietilenoglicol

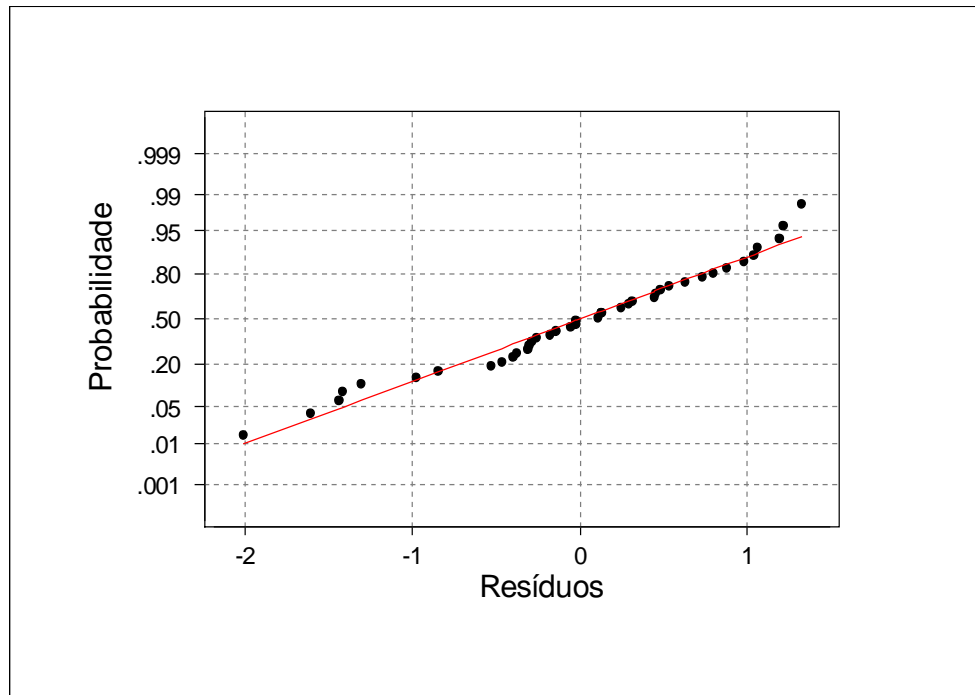


Figura B.13 - Gráfico de probabilidade normal dos resíduos do modelo de análise de variância - Óleo

