

UNIVERSIDADE PAULISTA - UNIP

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS
NANOPARTÍCULAS DE PRATA SOBRE
BIOFILME – MODELO IMPLANTE DENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para
obtenção do título de Mestre em Odontologia.

MÔNICA DE ABREU PESSÔA RODRIGUES

São Paulo

2018

UNIVERSIDADE PAULISTA - UNIP

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS
NANOPARTÍCULAS DE PRATA SOBRE
BIOFILME – MODELO IMPLANTE DENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maristela Dutra-Correa.

MÔNICA DE ABREU PESSÔA RODRIGUES

São Paulo

2018

Rodrigues, Mônica de Abreu Pessoa.

Atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre biofilme – modelo implante dental / Mônica de Abreu Pessoa Rodrigues. - 2018. 46 f. : il. color + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2018.

Área de concentração: Clínicas odontológicas - Biomateriais.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maristela Dutra-Correa.

1. Nanopartículas de prata. 2. Biofilme bacteriano. 3. Implantes dentais. 4. Biomateriais dentários. 5. *Streptococcus mutans*. I. Dutra-Correa, Maristela (orientadora). II. Título.

Ficha elaborada pelo Bibliotecário Rodney Eloy CRB8-6450

MÔNICA DE ABREU PESSÔA RODRIGUES

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS NANOPARTÍCULAS DE
PRATA SOBRE BIOFILME – MODELO IMPLANTE DENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovada em 08 de fevereiro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Maristela Dutra-Correa
UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

Profª. Dra. Ivana Barbosa Suffredini
UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

Prof. Dr. Igor Studart Medeiros
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - FOU SP

DEDICATÓRIA

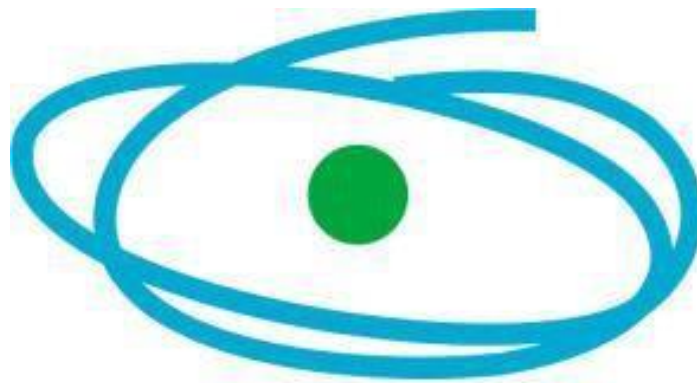
Dedico este trabalho à minha família, sem a qual nada em minha vida teria razão ou seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os profissionais competentes e as pessoas especiais que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento e realização desse trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Apoio: CAPES N°1593624



C A P E S

“Daria tudo o que sei pela metade do que ignoro”.

René Descartes

RESUMO

As bactérias são capazes de desenvolver biofilme em vários tipos de superfícies, e o processo da adesão bacteriana pode ser alterado pelas características e micromorfologia dessas superfícies. Dessa forma, as propriedades dos biomateriais podem ser direcionadas para inibir a adesão e colonização bacteriana. A utilização da prata é uma estratégia promissora na tentativa de se evitar a formação do biofilme, observada sua atividade antimicrobiana. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano de um biomaterial experimental, a partir de um adesivo ortodôntico fotopolimerizável (Orthocem UV Trace), modificado pela adição de diferentes concentrações de nanopartículas de prata (NAg), sobre o crescimento de biofilme (*S. mutans*). Inicialmente, foram avaliadas, a rugosidade superficial dos discos de titânio, o *gap* entre implante/componente e torque/destorque. Para o experimento de biofilme foram utilizados discos titânio (5 x 2mm) com superfície tratada (óxido de Ti), sobre os quais foi aplicado o material experimental, sendo: G1: Controle – biomaterial sem adição de NAg; G2: 50ppm; G3: 100ppm; G4: 150ppm; G5: 200ppm; G6: 250ppm. Ao final, foram selecionados 2 corpos de prova/grupo para MEV. Os dados não foram normais, entretanto foram homocedásticos. Dessa forma, Tukey post-hoc ($p < 0,005$) foi aplicado para comparação entre os grupos (Gráfico 3). O grupo Controle, sem adição de NAg, apresentou menor crescimento de biofilme, enquanto que o T200ppm apresentou maior crescimento. Os grupos T100 e 150ppm foram semelhantes entre si, assim como o T50 e T250. Considerando-se que a adição de NAg não apresentou o efeito antimicrobiano esperado e que a razão pode ter sido a indisponibilidade dessas na superfície, permitindo o contato direto com o biofilme bacteriano, pesquisas futuras deverão ser conduzidas, procurando sanar estas dificuldades e buscando evidenciar o efeito antimicrobiano das NAg.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Biofilme bacteriano. Implantes dentais. Biomateriais dentários. *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Bacteria are able to develop biofilm on various types of surfaces, and the process of bacterial adhesion can be altered by the characteristics and micromorphology of these surfaces. Thus, the properties of biomaterials can be targeted to inhibit bacterial adhesion and colonization. The use of silver is a promising strategy in the attempt to avoid biofilm formation, observing its antimicrobial activity. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antimicrobial effect of an experimental biomaterial from a photopolymerizable (Orthocem UV Trace) orthodontic adhesive, modified by the addition of different concentrations of silver nanoparticles (NAg), on biofilm growth (*S mutans*). Initially, the surface roughness of the titanium plates, the gap between implant / component and torque / torque were evaluated. For the biofilm experiment, titanium (5 x 2 mm) discs with treated surface (Ti oxide) were used, on which the experimental material was applied, being: G1: Control - biomaterial without addition of NAg; G2: 50ppm; G3: 100ppm; G4: 150ppm; G5: 200ppm; G6: 250ppm. At the end, 2 test bodies / group for SEM were selected. The data were not normal, however they were homocedastic. Thus, post-hoc Tukey ($p < 0.005$) was applied for comparison between the groups (Graph 3). The Control group, without addition of NAg, had lower biofilm growth, while T200ppm presented higher growth. The T100 and 150ppm groups were similar to each other, as were T50 and T250. Considering that the addition of NAg did not present the expected antimicrobial effect and that the reason may have been the unavailability of these on the surface, allowing direct contact with the bacterial biofilm, future research should be conducted, seeking to remedy these difficulties and seeking to evidence the antimicrobial effect of NAg.

Key words: Silver nanoparticles. Bacterial biofilm. Dental Implants. Dental Biomaterials. *Streptococcus mutans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 CONCLUSÃO GERAL	14
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	15
ANEXOS	18

1. INTRODUÇÃO

A cavidade oral proporciona um ambiente ideal para a formação de biofilme de grande complexidade, uma vez que abriga mais de 700 espécies. (1)(2)(3) Apesar dos tecidos orais possuírem um mecanismo de defesa eficiente para a redução do biofilme – descamação epitelial (4), a vulnerabilidade dos biomateriais à contaminação bacteriana ocorre já durante a instalação cirúrgica (5) e se mantém devido à sua colocação transmucosa, pois parte da estrutura do implante é exposta à cavidade oral permanentemente, e não existe uma medida efetiva para prevenir a ligação bacteriana ao material implantado. (6)

As bactérias são capazes de desenvolver biofilme em vários tipos de superfícies, como tecidos vivos, próteses e implantes dentais.(7)(8) A formação e a composição da película adquirida podem variar entre as superfícies, porém têm início com a película adesiva promovida pela saliva, que torna possível a adesão bacteriana. (9) O acúmulo do biofilme pode acarretar o desenvolvimento de doenças peri-implantares podendo levar à perda do implante e suas complicações. (10)(11)(12)(13)

Recentemente, um total de 12 filos bacterianos, 123 gêneros bacterianos e 351 bactérias foram identificadas a partir da leitura do metagenoma/metatranscriptômica salivar, sendo o gênero mais abundante o *Streptococcus*, que juntamente com *Prevotella* e *Veillonella* constituem aproximadamente 70% de todos os DNA e RNA.(14) O processo de adesão bacteriana pode ser alterado por características das superfícies e micromorfologia dos implantes, assim como pela energia de superfície, rugosidade e/ou propriedades químicas. Dessa forma, as propriedades dos biomateriais podem ser direcionadas para inibir a adesão e colonização bacteriana.(15)(16)(17) As perspectivas são promissoras em encontrar um tratamento da superfície do titânio que impeça ou reduza a colonização bacteriana e, ao mesmo tempo, favoreça a valiosa formação dos tecidos peri-implantares.(18)

A prata (Ag) é apresentada como uma estratégia promissora na tentativa de se evitar a formação do biofilme, observada sua atividade antimicrobiana. (7)(19)(20) Ela é capaz de danificar a membrana celular bacteriana, interferir no transporte de íons, desnaturar proteínas, inibir a respiração celular e a transcrição do DNA, mesmo em baixas concentrações. (21)(22) É preciso observar também a sua

biocompatibilidade, pois na reabilitação com implantes se faz necessária a adesão dos tecidos conjuntivos para assegurar a estabilidade óssea adequada e impedir a penetração bacteriana. (23) Contudo, algumas dificuldades, quando da adição de nanopartículas de prata em biomateriais odontológicos, são observadas, principalmente, em relação à aglomeração das nanopartículas e heterogeneidade em sua distribuição. (24)(25)

Para que essas dificuldades fossem minimizadas, foi proposta a síntese de nanopartículas de prata funcionalizadas, diretamente no biomaterial, que apresente características físico-químicas de forma a interagir com os componentes do implante dental, principalmente o titânio. Do ponto de vista tecnológico, o domínio do processo desse biomaterial com NAg poderá levar à definição de sua potencialidade como biomaterial odontológico com efeito antimicrobiano, com a manutenção das características físico-químicas do componente do implante dental, todavia com a vantagem do efeito antimicrobiano propiciado pela presença das NAg.

A colonização bacteriana na interface implante/componente (*gap*), formado nos sistemas de implantes de duas partes, é ainda hoje um grande desafio na implantodontia. (2)(26) O espaço de conexão do implante com a cavidade interna do mesmo pode atuar como reservatório para agentes patogênicos, causando problemas biológicos. (3)(27) A comunicação bacteriana na interface implante/componente é observada como o fator mais importante na ocorrência de reações inflamatórias ao redor do implante, independentemente da estabilidade, design e engenharia da conexão do implante. Desse modo, vários estudos buscam um protocolo ideal para desinfecção e descontaminação de implantes após doenças peri-implantares, porém poucos avaliam a eficácia de materiais para prevenir a contaminação através do *gap* entre implante/pilar. Atualmente, alguns produtos já são utilizados para desinfecção e selantes (Berutemp 500 T2, Carl-Bechem, e Kiero Seal [polivinil siloxano (PVS)], Kuss Dental) e clorexidina (Chlorhexamed [CHX] 1% Gel, GlaxoSmithKline).(28)(29)(30)(31)(32)

Diante dessas dificuldades, o presente estudo propôs um material que apresenta a possibilidade de vedação do *gap* formado pela interface implante/pilar, na tentativa de reduzir a contaminação peri-implantar e/ou contaminação interna do implante, pelas propriedades antimicrobianas da prata. Com essa intenção de aplicabilidade clínica, foi realizada a avaliação prévia da dimensão do *gap* formado

na interface, além da aferição do torque/destorque, caso haja necessidade de alguma intervenção clínica.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano de um biomaterial experimental, a partir de um adesivo ortodôntico fotopolimerizável (Orthocem UV Trace), modificado pela adição de diferentes concentrações de nanopartículas de prata (NAg), sobre o crescimento de biofilme (*S. mutans*).

2. CONCLUSÃO GERAL

Considerando-se que a adição de NAg não apresentou o efeito antimicrobiano esperado e que a razão pode ter sido a indisponibilidade dessas na superfície, permitindo o contato direto com o biofilme bacteriano, pesquisas futuras deverão ser conduzidas, procurando sanar essas dificuldades e buscando evidenciar o efeito antimicrobiano das NAg.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson E, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial Diversity in Human Subgingival Plaque. *J Bacteriol* [Internet]. 2001;183(12):3770–3783. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC95255/>
2. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med*. 2004;351(16):1645–54.
3. Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials* [Internet]. 2012;33(26):5967–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.05.031>
4. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol*. 2010;192(19):5002–17.
5. Teughels W, Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of Material Characteristics and/or Surface Topography on Biofilm Development. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17 Suppl 2:68–81.
6. de Avila ED, Lima BP, Sekiya T, Torii Y, Ogawa T, Shi W, et al. Effect of UV-photofunctionalization on oral bacterial attachment and biofilm formation to titanium implant material. *Biomaterials* [Internet]. 2015;67:84–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.07.030>
7. Liu Y, Zheng Z, Zara JN, Hsu C, Soofer DE, Lee KS, et al. The antimicrobial and osteoinductive properties of silver nanoparticle/poly (dl-lactic-co-glycolic acid)-coated stainless steel. *Biomaterials* [Internet]. 2012;33(34):8745–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.08.010>
8. Lv J, Li H, Mu Y, Wang SM, Sun J, Jiang J, et al. The adhesion and growth of both the human primary gingival epithelial cells and Streptococcus mutans on micro-arc oxidized titanium. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70(2):1083–90.
9. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2002;29(s3):197–212. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-051X.29.s3.12.x>
10. Zhao L, Chu PK, Zhang Y, Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2009;91(1):470–80.
11. Belibasakis GN. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2014;59(1):66–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.09.013>
12. Albrektsson T, Canullo L, Cochran D, De Bruyn H. “Peri-Implantitis”: A Complication of a Foreign Body or a Man-Made “Disease”. Facts and Fiction. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(4):840–9.
13. Wessel SW, Chen Y, Maitra a, van den Heuvel ER, Slomp a M, Busscher HJ, et al. Adhesion forces and composition of planktonic and adhering oral microbiomes. *J Dent Res* [Internet]. 2014;93(1):84–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24186560>
14. Belstrøm D, Constancias F, Liu Y, Yang L, Drautz-Moses DI, Schuster SC, et al. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of saliva reveals disease-associated microbiota in patients with periodontitis and dental caries. *npj*

- Biofilms Microbiomes [Internet]. 2017;3(1):23. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41522-017-0031-4>
15. Badihi Hauslich L, Sela MN, Steinberg D, Rosen G, Kohavi D. The adhesion of oral bacteria to modified titanium surfaces: Role of plasma proteins and electrostatic forces. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(A100):49–56.
 16. Almeida EO De. Restaurações cimentadas versus parafusadas : :15–20.
 17. Matos AO, Ricomini-Filho AP, Beline T, Ogawa ES, Costa-Oliveira BE, de Almeida AB, et al. Three-species biofilm model onto plasma-treated titanium implant surface. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* [Internet]. 2017;152:354–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.035>
 18. Song F, Koo H, Ren D. Effects of Material Properties on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation. *J Dent Res* [Internet]. 2015;94(8):1027–34. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034515587690>
 19. de Souza Júnior JM, Oliveira de Souza JG, Pereira Neto AL, Iaculli F, Piattelli A, Bianchini MA, et al. Analysis of Effectiveness of Different Rotational Instruments in Implantoplasty. *Implant Dent* [Internet]. 2016;25(3):341–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24278921>
 20. Godoy-Gallardo M, Rodríguez-Hernández AG, Delgado LM, Manero JM, Javier Gil F, Rodríguez D. Silver deposition on titanium surface by electrochemical anodizing process reduces bacterial adhesion of *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus salivarius*. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(10):1170–9.
 21. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent Mater* [Internet]. 2014;30(2):e1–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.001>
 22. Valappil SP, Yiu HHP, Bouffier L, Hope CK, Evans G, Claridge JB, et al. Effect of novel antibacterial gallium-carboxymethyl cellulose on *Pseudomonas aeruginosa*. *Dalt Trans* [Internet]. 2013;42(5):1778–86. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C2DT32235H>
 23. Babu JP, Garcia-Godoy F. In Vitro Comparison of Commercial Oral Rinses on Bacterial Adhesion and Their Detachment from Biofilm Formed on Hydroxyapatite Disks. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2014;12(4):365–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24624400>
 24. Curtis AR, Palin WM, Fleming GJP, Shortall ACC, Marquis PM. The mechanical properties of nanofilled resin-based composites: The impact of dry and wet cyclic pre-loading on bi-axial flexure strength. *Dent Mater.* 2009;25(2):188–97.
 25. Durán N, Nakazato G, Seabra AB. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2016;100(15):6555–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7657-7>
 26. Moraschini V, Poubel LADC, Ferreira VF, Barboza EDSP. Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2015;44(3):377–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijom.2014.10.023>
 27. Passos SP, Gressler May L, Faria R, ??zcan M, Bottino MA. Implant-abutment gap versus microbial colonization: Clinical significance based on a literature review. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2013;101(7):1321–8.
 28. de Waal YCM, Raghoobar GM, Meijer HJA, Winkel EG, van Winkelhoff AJ. Implant decontamination with 2% chlorhexidine during surgical peri-implantitis

- treatment: A randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(9):1015–23.
29. Subramani K, Wismeijer D. Decontamination of titanium implant surface and re-osseointegration to treat peri-implantitis: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2012;27(5):1043–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23057016>
 30. Podhorsky A, Biscopio S, Rehmann P, Streckbein P, Domann E, Wöstmann B. Transfer of Bacteria into the Internal Cavity of Dental Implants After Application of Disinfectant or Sealant Agents In Vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2016;29(5):563–70. Available from: http://www.quintpub.com/journals/omi/abstract.php?iss2_id=1378&article_id=16316&article=10&title=Transfer of Bacteria into the Internal Cavity of Dental Implants After Application of Disinfectant or Sealant Agents In Vitro#.Vzx7BVKhxz8
 31. Mellado-Valero A, Buitrago-Vera P, Solá-Ruiz MF, Ferrer-García JC. Decontamination of dental implant surface in peri-implantitis treatment: A literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(6).
 32. Nayak AG, Fernandes A, Kulkarni R, Ajantha GS, Lekha K, Nadiger R. Efficacy of Antibacterial Sealing Gel and O-Ring to Prevent Microleakage at the Implant Abutment Interface: An In Vitro Study. *J Oral Implantol* [Internet]. 2014;40(1):11–4. Available from: <http://www.joionline.org/doi/abs/10.1563/AAID-JOI-D-10-00167>

ANEXOS

Figuras:

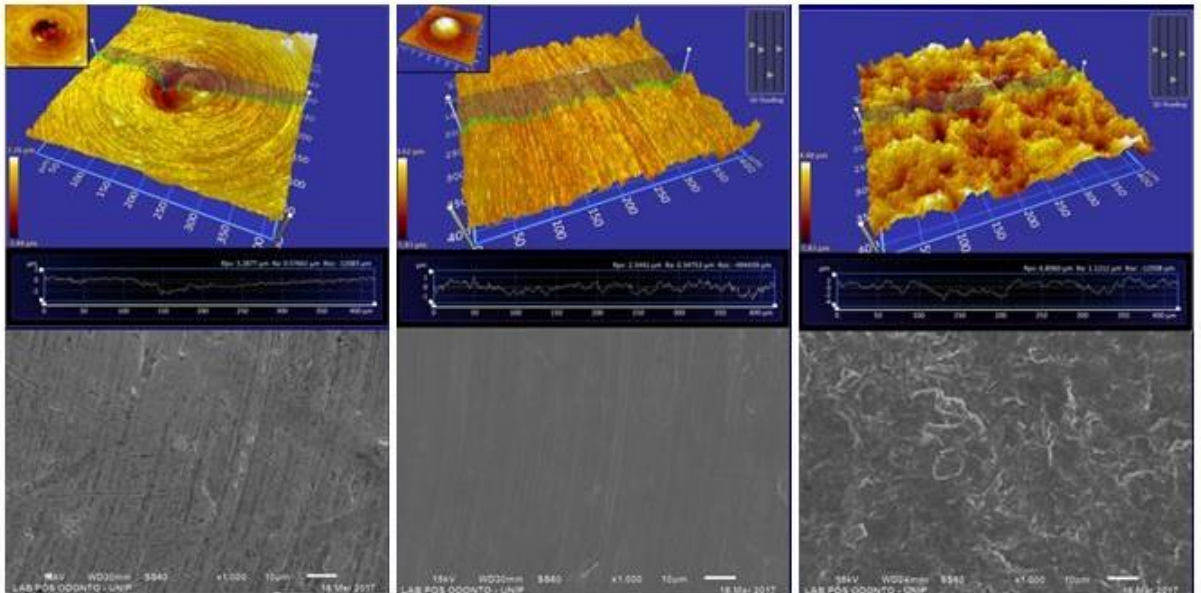


Fig.:1-3: Perfilometrias e MEV dos discos de Titânio. 1: GU- Usinado: Ra= 0,158 (±0,008) µm. O centro do disco é mais profundo, provavelmente devido à presença de ferramenta por mais tempo, por isso apresenta maior valor de Ra que suas bordas. 2: GP- Polido: Ra= 0,156 (±0,025) µm. Observou-se aprisionamento do material de polimento na depressão central (> Ra) promovida anteriormente pela usinagem do disco. 3: GT- Tratado: Ra= 1,324 (±0,022) µm. A rugosidade é maior, mas o aspecto da superfície é sempre o mesmo, independentemente da posição (centro ou borda).

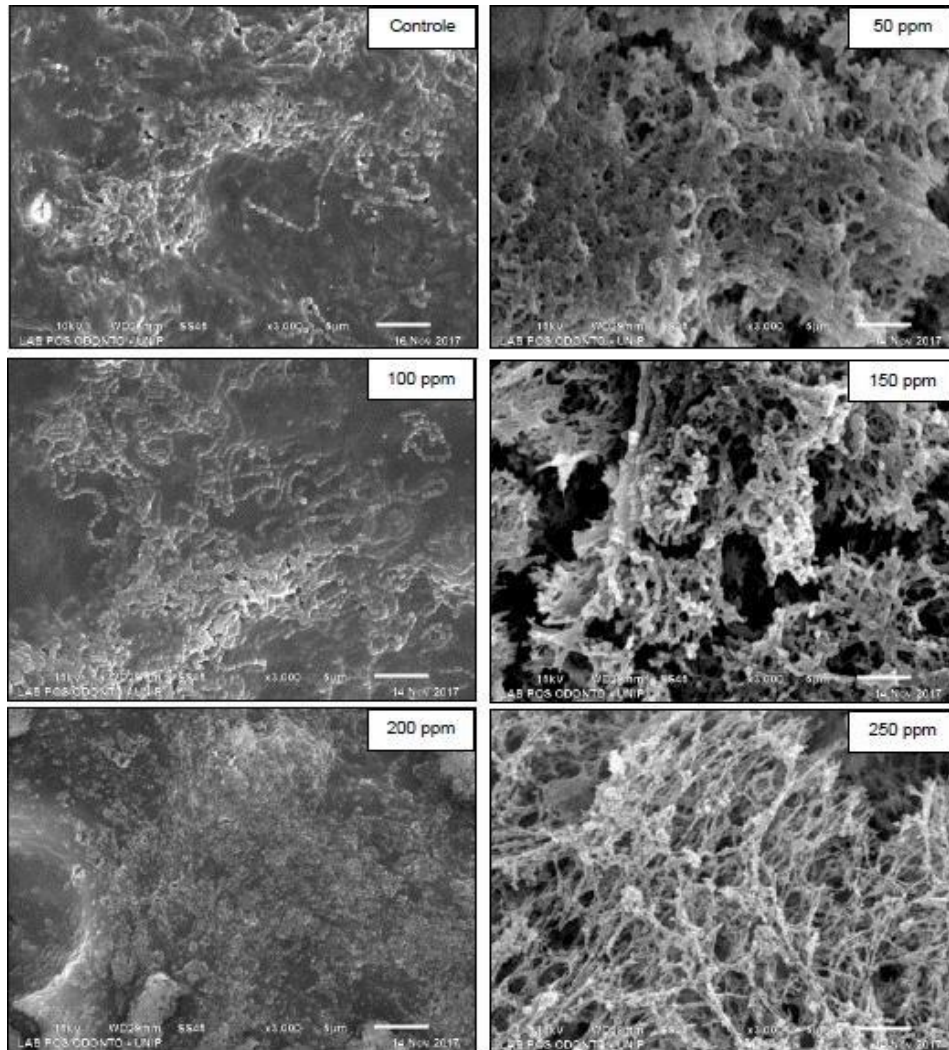


Fig. 4-9: Eletromicrografias do ensaio do biofilme, mostrando o Controle e os Grupos com diferentes concentrações de NAg, variando entre 50 ppm e 250 ppm . Barra= 5μm.

Gráficos:

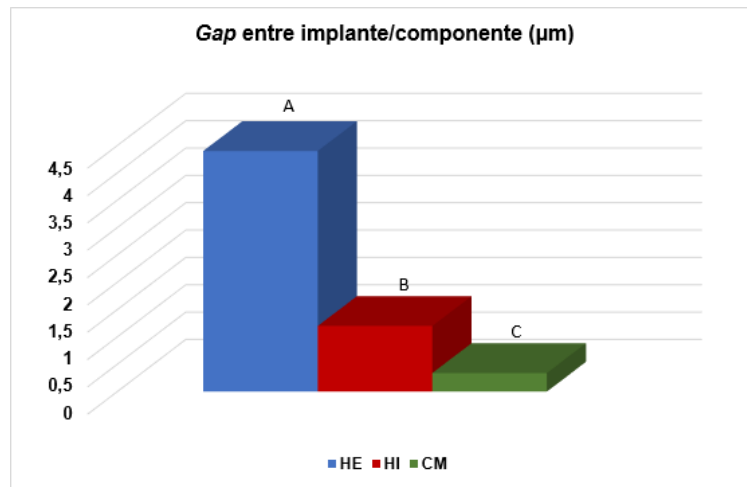


Gráfico 1: *Gap* (μm) entre implante/componente de diferentes modelos de implantes (HE, HI e Cone Morse). $p=0,003$. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa - Kruskal-Wallis.

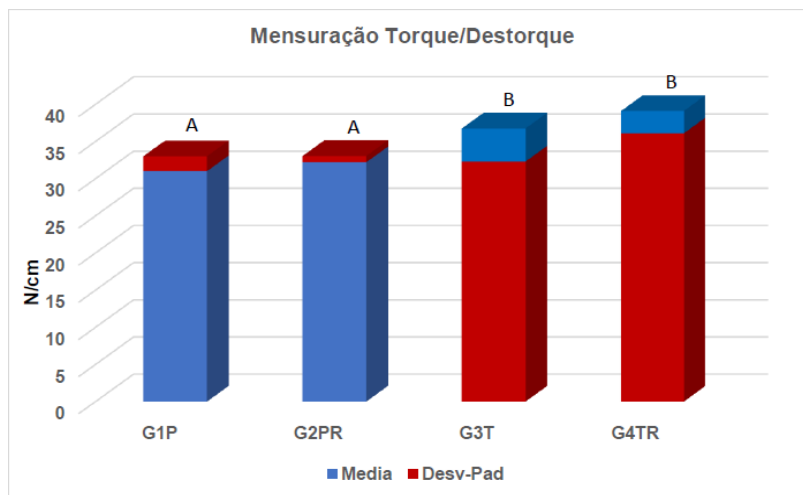


Gráfico 2: Resultados mostraram que não houve diferença entre os grupos com o mesmo tipo de tratamento de superfície, polido (P) ou tratado (T).

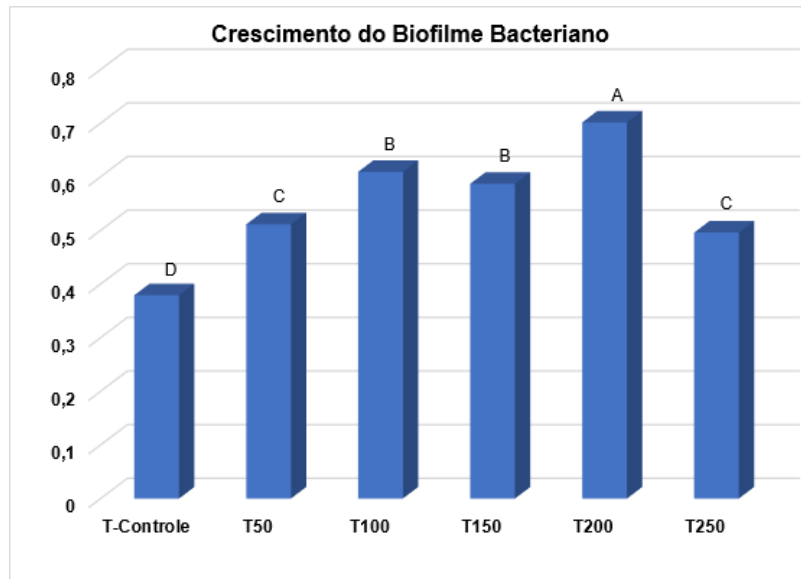


Gráfico 3: Resultados da Densidade Óptica para o crescimento do biofilme bacteriano em função da Concentração de NAg de 0 a 250 ppm.

Tabelas:

	<i>C-K</i>	<i>O-K</i>	<i>Si-K</i>
<i>50 ppm</i>	48.17	39.6	12.23
<i>100 ppm</i>	48.80	41.4	9.80
<i>150 ppm</i>	65.13	33.11	1.76
<i>200 ppm</i>	51.8	39.89	8.31
<i>250 ppm</i>	64.19	32.76	3.05

Tabela 1- Elementos químicos identificados na leitura do EDX, demonstrando a ausência das NAGs na superfície das amostras.

Tratamento	Ângulo de Contato (θ)	
	Polar (água deionizada)	Apolar (propanotriol=glicerol)
Disco Ti Usinado	43	45
Disco Ti Polido	48	48
Disco Ti Tratado	71	71
Sem NAG	49	53
50 ppm	48	53
100 ppm	35	46
150 ppm	50	33
200 ppm	35	35
250 ppm	57	57

Tabela 2: Ângulos de contato aferidos para comparação e avaliação da energia de superfície em relação aos tratamentos de superfície e concentração de NAG.