## EMBLOCAMENTO EM RESINA EPÓXI DE PEÇAS DIAFANIZADAS: TÉCNICA INOVADORA PARA EDUCAÇÃO EM BIOLOGIA E MANUTENÇÃO DE ACERVO BIOLÓGICO

Eric Guerra Michelini (IC) e Paola Lupianhes Dall´Occo (Orientadora)

**Apoio:PIBIC Mackenzie**

### RESUMO

Considerando a relevância da educação ambiental no contexto das mudanças climáticas, destaca-se o papel da educação formal na formação de cidadãos conscientes e comprometidos com a sustentabilidade. Nesse cenário, o uso de espécimes biológicos preservados surge como ferramenta didática eficaz para o ensino de biologia, favorecendo a compreensão de conceitos complexos e a sensibilização ambiental. Entre as técnicas de preservação, a diafanização se destaca por permitir a visualização detalhada das estruturas internas dos vertebrados; no entanto, sua conservação tradicional em glicerina acrescida de timol apresenta limitações ambientais e operacionais, como geração de resíduos, riscos à saúde e instabilidade das amostras. Diante disso, o estudo propõe a adaptação da técnica de diafanização para possibilitar o emblocamento dos espécimes em resina epóxi, visando maior durabilidade, segurança e sustentabilidade. Metodologicamente, o trabalho baseia-se em protocolos consolidados com adaptações experimentais, incluindo testes comparativos quanto à substituição da glicerina. Os resultados demonstraram que a retirada da glicerina e do timol, associada à realização de lavagens em gradiente alcoólico e às etapas sucessivas de impregnação em catalisador puro e resina epóxi pura, contribuiu para a redução da ocorrência de *blush* e do amarelamento do bloco, mantendo a transparência e a integridade dos espécimes diafanizados. O protocolo desenvolvido recomenda, portanto, a retirada da glicerina e do timol, seguida de lavagem do espécime em gradiente alcoólico, impregnação em catalisador puro, impregnação em resina epóxi pura e, posteriormente, emblocamento em resina. A adaptação proposta contribui para o aprimoramento do armazenamento e do uso didático de espécimes biológicos, alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, especialmente no que se refere à educação de qualidade e à adoção de práticas ambientalmente responsáveis.

**Palavras chaves:** Diafanização; Resina epóxi; Preservação de espécimes.

**ABSTRACT**

Considering the relevance of environmental education in the context of climate change, formal education plays a fundamental role in fostering environmentally conscious citizens committed to sustainability. In this context, the use of preserved biological specimens represents an effective teaching tool for biology education, facilitating the understanding of complex concepts and promoting environmental awareness. Among preservation techniques, diaphanization stands out for enabling detailed visualization of the internal structures of vertebrates; however, their traditional preservation in glycerin supplemented with thymol presents environmental and operational limitations, including waste generation, health risks, and sample instability. Therefore, this study proposes an adaptation of the diaphanization technique to enable the embedding of specimens in epoxy resin, aiming to improve durability, safety, and sustainability. Methodologically, the study is based on established protocols with experimental adaptations, including comparative tests evaluating the replacement of glycerin. The results demonstrated that the removal of glycerin and thymol, combined with washing in an alcohol gradient and successive impregnation steps using pure catalyst and pure epoxy resin, contributed to reducing *blush* formation and yellowing of the resin block while maintaining the transparency and integrity of the diaphanized specimens. The developed protocol therefore recommends the removal of glycerin and thymol, followed by washing of the specimen in an alcohol gradient, impregnation with pure catalyst, impregnation with pure epoxy resin, and subsequent embedding in resin. The proposed adaptation contributes to improving the storage and educational use of biological specimens, aligning with the Sustainable Development Goals, particularly those related to quality education and the adoption of environmentally responsible practices.

**Keywords:** Diaphanization; Epoxy resin; Specimen preservation.

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com o IPCC (2023), é inequívoca a influência humana no aquecimento global e frear suas consequências, como o aumento da frequência e intensidade de eventos climáticos extremos, a perda da biodiversidade e de serviços ecossistêmicos, exige a mobilização urgente e coordenada de todos os setores da sociedade.

Nesse contexto, é imprescindível que nos reconheçamos como corresponsáveis pelo futuro do planeta, desenvolvendo uma consciência que promova ações internas capazes de impulsionar práticas voltadas à sustentabilidade ambiental e de acordo com Souza (2020), a escola, como espaço formativo, desempenha um papel essencial nesse processo.

A educação em biologia é fundamental para a formação de cidadãos conscientes e responsáveis em relação ao meio ambiente e à saúde humana. No entanto, a aprendizagem de conceitos biológicos pode ser dificultada pela falta de recursos didáticos adequados (Jacobi, 2003).

Neste sentido, o uso de espécimes preservados é uma ferramenta que tem sido vista de forma positiva em relação à didática e à sensibilização ambiental, seja na educação formal como não formal (realizada em zoológicos, museus, aquários, parques, entre outros), funcionando como potencializador do interesse e da capacidade de compreensão (Lima; Ramos; Lima, 2007; Rocha, 2009; Silva *et al.*, 2011).

Para Alencar e Pereira (2015), os acervos didáticos e de pesquisa são importantes não somente nos intramuros da universidade, mas também como facilitadores do compartilhamento de informações e de materiais entre instituições, bem como na elaboração de ações de extensão, como exposições e visitações voltadas ao ensino básico, esta última com possibilidade de despertar nos estudantes o interesse vocacional na área.

Em instituições educacionais do ensino superior, a execução prática de técnicas de conservação de vertebrados, além do uso do material resultante, é recomendada por Carriço *et al.* (2014) e Silveira e Oliveira (2008). Esses autores afirmam sua importância para a pesquisa em zoologia, morfo-anatomia comparada, embriologia, ecologia e filogenia, além da promoção de atividades diferenciadas no processo de formação profissional desenvolvendo habilidades relevantes para a inserção no mercado de trabalho e para o contínuo enriquecimento das coleções institucionais.

Entre as técnicas de preservação de vertebrados a diafanização merece destaque, pois se trata de um método que permite a visualização do esqueleto mantendo-o íntegro e em sua posição original (Da Silva *et al.*, 2017). Porém os espécimes diafanizados são preservados em glicerina, um líquido viscoso e incolor, acrescida de timol, um antifúngico que apresenta classificações de perigo relevantes segundo a NBR 14725-2, sendo corrosivo à

pele (Categoria 1B), causador de lesões oculares graves (Categoria 1), tóxico por via oral (Categoria 4) e perigoso ao ambiente aquático, tanto em exposição aguda quanto crônica (Categoria 2) (NEON, 2023).

Assim a conservação de material diafanizado possui algumas limitações ambientais, pois necessita de substituição periódica do líquido de preservação (glicerina + timol) gerando um volume considerável de resíduos, que se não corretamente descartados, podem resultar na contaminação do solo e da água, impactando negativamente o meio ambiente. Do ponto de vista operacional apresenta riscos associados a vazamentos, os quais podem comprometer a saúde dos professores e dos alunos que irão manusear os frascos contendo os espécimes. Outro desafio é a instabilidade das amostras no meio líquido, que podem sofrer deslocamentos durante o transporte ou manipulação, aumentando o risco de danos às estruturas preservadas, reduzindo o tempo útil das peças (fig 1).

Figura 1. Frasco de vidro contendo espécime diafanizado evidenciando a problemática do vazamento de glicerina com timol após manipulação.



Fonte: próprio autor.

Assim, o emblocamento em resina epóxi das peças diafanizadas é uma alternativa sustentável ambientalmente que pode reduzir a geração de resíduos, melhorar a segurança no manuseio e preservar os espécimes de forma mais longeva. Porém alguns desafios para sua implementação se mostraram presentes como a ocorrência de reações químicas adversas que resultam na formação de um "*blush*" branco prejudicando a visualização do material de interesse (fig.2).

Portanto, o objetivo deste estudo foi adequar a técnica de diafanização para permitir o emblocamento do material biológico em resina epóxi visando otimizar seu armazenamento

e manuseio para fins educacionais.

Figura 2. Emblocamento em resina epóxi de animal diafanizado destacando a interferência na transparência que prejudica a visualização do espécime.



Fonte: próprio autor.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

As técnicas de preservação de material biológico foram criadas e vêm sendo aperfeiçoadas e aplicadas desde os primórdios da civilização, sendo utilizadas para fins didáticos, ornamentais e científicos (Salomão; Auricchio, 2002). De acordo com Reis (2011), existem várias formas de preservação de material biológico, entre elas estão: fixação em via úmida, gliceração à vácuo, taxidermia e diafanização.

A diafanização consiste na redução da cor óptica dos objetos em estudo com o objetivo de torná-los transparentes, por meio de descoloração enzimática e subsequente coloração das estruturas ósseas e cartilaginosas, mantendo sua estrutura morfológica. Sendo que a preparação das amostras, as proporções das soluções, o tempo de processamento e o método de armazenamento apresentam variações (Liutenko *et al.*, 2023).

Dingerkus e Uhler (1977), descreveram a técnica de clareamento de tecidos moles e coloração de cartilagens e ossos em pequenos vertebrados, onde a coloração das cartilagens é obtida com Alcian Blue, corante com afinidade pelos polissacarídeos sulfatados da matriz cartilaginosa, facilitada pela digestão com tripsina, enquanto a coloração dos ossos é feita com Alizarina Red, corante que tem afinidade por sais de cálcio. Já o clareamento de tecidos moles é realizado com o uso de solução de hidróxido de potássio ou de sódio a 5% e a glicerina acrescida de timol é o método de conservação convencional.

Diversos autores realizaram estudos a fim de minimizarem os problemas relacionados à técnica como o desgaste acentuado de tecidos conectivos que causam

fragmentação e desmembramento do corpo do animal comparando o resultado da maceração por soluções de hidróxidos cáusticos, como hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) (Dawson, 1926; Simões *et al*., 2015; Reed et *al*., 2019); bem como pela comparação entre o método de fixação *post mortem* do animal, feito por solução de formalina 10% ou álcool etílico 70% (Dawson, 1926; Dingerkus; Uhler 1977; Reed *et al*., 2019; Song; Wassersug, 1976).

No entanto, a discussão sobre as formas de armazenamento de espécimes diafanizados não tem sido tão presente na literatura, apesar dos inconvenientes práticos de manuseio da conservação em meio líquido como vazamentos, que podem comprometer a saúde de quem os manipula, além do desmembramento das peças, que reduzem sua longevidade. Assim, a constatação de Arango *et al.* (2012) de que protocolos de diafanização são amplamente utilizados em pesquisas, porém ainda não muito empregados como modelos didáticos, pode estar relacionada a esses inconvenientes.

O que para os processos educativos pode representar uma perda, pois segundo Krasilchik (2004), a manipulação de materiais e equipamentos e a observação de organismos desempenham funções únicas na educação, sendo fundamentais para auxiliar no processo de ensino e aprendizagem, pois aproximam os alunos do conteúdo abordado em sala de aula, gerando uma maior participação.

Assim, estudos que propõem alternativas à preservação tradicional (glicerina + timol) de peças diafanizadas representam não apenas um avanço técnico, mas também uma estratégia educativa alinhada aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (ONU, 2015).

Com peças mais duráveis, estáveis e de fácil visualização, o emblocamento amplia o acesso ao conhecimento científico, potencializando o processo de ensino-aprendizagem e estimulando uma formação cidadã crítica e comprometida com os princípios da sustentabilidade.

## 3. METODOLOGIA

O protocolo de diafanização foi executado com base nas metodologias descritas por Simões *et al.* (2015) e Reed *et al.* (2019), com adaptações desenvolvidas ao longo deste estudo.

O procedimento foi iniciado com a fixação do espécime em solução de formol a 10% por 48 horas, em recipiente hermeticamente fechado. Essa etapa tem como finalidade estabilizar os tecidos por meio da formação de ligações cruzadas entre proteínas, preservando a arquitetura tecidual e inibindo processos autolíticos e microbiológicos (Fox *et al.*, 1985; Helander, 1994; Bancroft; Gamble, 2008). Em seguida, o espécime foi transferido

para água destilada, permanecendo imerso por 72 horas, com renovação da solução a cada 24 horas. Essa lavagem promove a remoção do excesso de formaldeído residual, reduzindo possíveis interferências nas etapas subsequentes do protocolo (Bancroft; Gamble, 2008; Kiernan, 2000).

Após esse período, procedeu-se à remoção mecânica da pele, do tecido adiposo e das vísceras com auxílio de bisturi e pinças anatômicas. Essa etapa favorece a difusão homogênea dos reagentes ao longo do espécime, uma vez que tecidos ricos em lipídios apresentam caráter hidrofóbico, dificultando a penetração de soluções aquosas utilizadas durante a diafanização (Wassersug, 1976).

A coloração das cartilagens foi realizada por imersão do espécime em solução contendo 20 mg de Alcian Blue dissolvidos em 80 mL de álcool etílico a 95% e 20 mL de ácido acético glacial, permanecendo por 48 horas. Após a coloração, o espécime foi submetido a lavagens em gradiente alcoólico decrescente (95%, 90%, 80%, 70%, 40% e 15%), permanecendo 10 minutos em cada solução sob agitação constante no agitador orbital em 55 rpm, finalizando em água destilada. Essa etapa promove a remoção do excesso de corante e a reidratação gradual dos tecidos, reduzindo alterações estruturais decorrentes de mudanças bruscas na concentração dos solventes (Bancroft; Gamble, 2008).

Em seguida, o espécime foi imerso em solução de borato de sódio a 1,5% durante 1 a 2 horas, promovendo a alcalinização do meio e preparando os tecidos para a etapa de maceração química. Posteriormente, iniciou-se a maceração em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1%, permanecendo por período entre 15 e 30 dias, com substituição da solução a cada 48 horas. O processo foi considerado concluído quando as estruturas ósseas passaram a ser visualizadas através dos tecidos. Na sequência, realizaram-se lavagens sucessivas em soluções de NaOH nas concentrações de 0,6% e 0,3%, durante uma hora cada, sob agitação de 55 rpm, seguidas de lavagem final em água destilada por uma hora. A maceração alcalina promove a hidrólise dos tecidos moles, preservando estruturas mineralizadas, como ossos, fundamentais para a análise anatômica (Wassersug, 1976).

A coloração do tecido ósseo foi realizada por imersão em solução de Alizarina Red a 0,05%, com tempo de exposição entre 14 e 18 horas, evitando-se ultrapassar 24 horas. Esse corante apresenta elevada afinidade por íons cálcio presentes na matriz mineralizada, permitindo a diferenciação do tecido ósseo em relação às cartilagens previamente coradas com Alcian Blue (Pearse, 1985; Santos *et al.*, 2021).

Após essa etapa, os espécimes foram submetidos ao processo de clareamento. No protocolo original, essa fase foi realizada por meio de três banhos sequenciais, cada um com duração de 24 horas. O primeiro banho continha 150 mL de NaOH a 0,5%, 50 mL de glicerina

e 3 mL de peróxido de hidrogênio (10 volumes); o segundo, 100 mL de NaOH a 0,5%, 100 mL de glicerina e 1 mL de peróxido de hidrogênio; e o terceiro, 50 mL de NaOH a 0,5% e 150 mL de glicerina, sendo adicionado timol ao término do processo. Nessa etapa, o peróxido de hidrogênio atua como agente oxidante na remoção de pigmentos residuais, enquanto a glicerina, utilizada no protocolo original, contribui para o aumento da transparência óptica dos espécimes devido ao seu índice de refração semelhante ao dos tecidos biológicos (Wassersug, 1976; Bancroft; Gamble, 2008).

Como adaptação ao protocolo original, foi desenvolvida uma etapa inédita de emblocamento dos espécimes em resina epóxi. Para avaliação e otimização desse procedimento, foram conduzidos três ensaios experimentais utilizando diferentes combinações de resina epóxi, presença ou ausência de glicerina na etapa de clareamento e procedimentos de preparação prévios ao emblocamento.

Nos ensaios em que foi empregada a etapa de preparação prévia ao emblocamento, os espécimes permaneceram inicialmente imersos em catalisador puro por período de cinco a sete dias e, posteriormente, em resina epóxi pura por igual intervalo de tempo. Essa impregnação gradual foi adotada com o objetivo de favorecer a penetração progressiva dos componentes da resina no interior dos tecidos e reduzir possíveis interferências durante a polimerização.

Para o emblocamento definitivo, a resina epóxi e o catalisador foram homogeneizados na proporção estequiométrica de 2:1, conforme recomendação do fabricante. Os espécimes foram posicionados em moldes de silicone compatíveis com suas dimensões, totalmente recobertos pela mistura e mantidos em temperatura ambiente até a completa cura da resina.

A avaliação da técnica de emblocamento foi realizada considerando-se a transparência dos blocos, ocorrência do fenômeno de *blush*, formação de bolhas ou precipitados, homogeneidade da polimerização, qualidade óptica, tempo de endurecimento, estabilidade estrutural e comportamento durante o armazenamento, incluindo alterações como amarelamento, ressecamento, descoloração e possíveis deformações da matriz polimérica.

## 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

As primeiras adaptações foram direcionadas à etapa de preparação dos espécimes. Inicialmente, avaliou-se o uso de água aquecida, próxima à ebulição, como estratégia para facilitar a remoção da pele em regiões de difícil manipulação, como patas, cauda e orelhas. Entretanto, essa abordagem não promoveu melhora significativa na remoção tegumentar e

ocasionou danos estruturais em alguns espécimes, incluindo fraturas de extremidades, perda de dígitos e destacamento do pavilhão auricular.

Diante desses resultados, adotaram-se técnicas de dissecação inspiradas na taxidermia, permitindo maior controle durante a remoção mecânica da pele, tecido adiposo e vísceras.

Durante a etapa de coloração das cartilagens com Alcian Blue, observou-se inicialmente uma distribuição heterogênea do corante, com maior intensidade em um dos lados do espécime. Essa diferença indicou que a permanência dos espécimes em uma posição fixa durante a coloração poderia estar limitando a difusão do corante pela superfície corporal. Considerando que segundo Scott e Dorling (1965) e Steedman (1950), a coloração ocorre pela interação eletrostática entre o corante e os grupos aniônicos presentes nos glicosaminoglicanos da matriz cartilaginosa, alterações em sua distribuição podem estar relacionadas tanto às condições de exposição da amostra quanto às características do tecido analisado, especialmente em organismos jovens, onde áreas de ossificação endocondral podem apresentar coloração mais intensa pelo Alcian Blue, refletindo a elevada concentração de matriz cartilaginosa rica em glicosaminoglicanos (Junqueira; Carneiro, 2013). Como adaptação, os espécimes passaram a ser cuidadosamente rotacionados diariamente durante o período de coloração, promovendo maior uniformidade na marcação das estruturas cartilaginosas.

A etapa de maceração apresentou-se como uma das fases de maior influência sobre a qualidade final dos espécimes. Durante os ensaios, observou-se que concentrações superiores a 1% de NaOH e/ou KOH promoveram degradação excessiva dos tecidos, resultando em fragilidade estrutural e, em casos mais extremos, desintegração das amostras. Por outro lado, concentrações inferiores a 1% mostraram-se insuficientes para a remoção completa dos tecidos moles, reduzindo a transparência dos espécimes. A partir dessas observações, a concentração de 1% das soluções alcalinas foi adotada como condição de trabalho, proporcionando equilíbrio entre a remoção dos tecidos moles e a preservação das estruturas anatômicas.

Durante o primeiro teste de emblocamento utilizou-se resina Ohana OHR-22, em conjunto com o endurecedor OHE-63 (sistema epóxi de baixa viscosidade, elevada transparência e propriedades autonivelantes) e foi observada a formação de opacidade esbranquiçada na resina (*blush*), além da presença de bolhas e regiões com polimerização incompleta, o que comprometeu a transparência dos blocos e dificultou a visualização das estruturas. De acordo com Lee e Neville (2012) e FISPQ VIP Resinas, (s.d.), a reação de cura das resinas epóxi ocorre pela formação de uma rede tridimensional entre grupos epoxídicos

e endurecedores à base de aminas, o que é sensível à presença de água, compostos oxidantes e contaminantes químicos.

Considerando que a glicerina e o peróxido de hidrogênio utilizados na etapa de clareamento poderia permanecer como resíduo no espécime e interferir na reação de cura, foi realizado um primeiro ensaio com lavagem em gradiente alcoólico, seguido de impregnação em catalisador puro por sete dias e posterior permanência em resina epóxi pura pelo mesmo período. A impregnação progressiva foi realizada visando favorecer a remoção de compostos residuais e aumentar a compatibilidade entre o espécime biológico e a matriz polimérica.

Inicialmente, os pequenos blocos confeccionados com fragmentos do espécime apresentaram elevada transparência e ausência de blush. Entretanto, após o emblocamento de um espécime inteiro utilizando o mesmo protocolo, observou-se, após quatro a cinco dias de cura, a formação de bolhas, amarelamento da resina e perda da qualidade óptica (fig. 3). Esses resultados indicaram que, embora a lavagem e a impregnação prévia tenham reduzido alguns efeitos indesejáveis, outros fatores ainda estavam interferindo na qualidade ótica do bloco de resina epóxi.

Figura 3. Emblocamento em resina epóxi de espécime animal diafanizado lavado em gradiente alcoólico, seguido de impregnação em catalisador puro e resina pura, destacando a presença de bolhas e amarelamento do bloco.



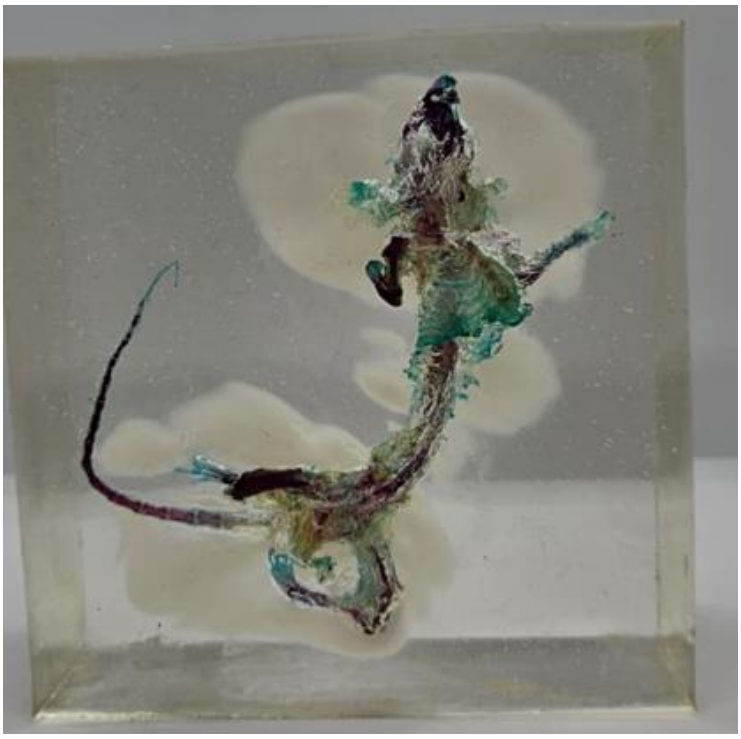
Fonte: próprio autor.

No segundo ensaio experimental, a glicerina foi completamente retirada do protocolo de diafanização com o objetivo de verificar sua influência sobre a formação do *blush*. Além

disso, substituiu-se a resina anteriormente utilizada por uma resina epóxi comercial da VIP Resinas, composta pela resina VR300 e pelo endurecedor VRE300, caracterizada por baixa viscosidade, elevada transparência, boa resistência mecânica e maior estabilidade frente à umidade e à radiação ultravioleta, apresentando proporção de mistura de 100:50 em massa. A substituição foi realizada em razão das características ópticas e de estabilidade apresentadas pelo novo sistema durante o processo de cura. A escolha da resina mostrou-se relevante, uma vez que propriedades como viscosidade, composição química, estabilidade e proteção contra radiação UV podem influenciar o comportamento do material durante a polimerização.

Nesse ensaio, optou-se por simplificar o protocolo, removendo as etapas de lavagem em gradiente alcoólico e impregnação prévia em catalisador e resina puros, buscando reduzir o tempo total do processamento. A primeira camada de resina apresentou excelente transparência, poucas bolhas e boa estabilidade óptica. Entretanto, após a inserção do espécime, ocorreu novamente a formação de *blush* (fig. 4). A persistência desse fenômeno mesmo após a retirada completa da glicerina do protocolo indicou que esse composto não era o principal responsável pela alteração observada. Dessa forma, passaram a ser considerados outros possíveis interferentes provenientes das etapas anteriores da diafanização, como resíduos da maceração alcalina, corantes ou outros compostos químicos remanescentes.

Figura 4. Emblocamento em resina epóxi de espécime animal diafanizado sem uso de glicerina e sem impregnação em catalisador e resina puros destacando a formação de *blush*.



Fonte: próprio autor.

Além disso, a ausência de alterações na transparência dos espécimes após a retirada

da glicerina demonstrou que sua utilização não era essencial para a manutenção da qualidade óptica das amostras. Esse resultado permitiu simplificar o protocolo de clareamento, reduzindo etapas e custos do processamento.

No terceiro ensaio experimental, foram mantidas as modificações consideradas adequadas, incluindo a utilização da resina epóxi VR300, em conjunto com o endurecedor VRE300. Foram reincorporadas as etapas de lavagem em gradiente alcoólico e impregnação sucessiva em catalisador puro e resina epóxi pura. Também foram utilizados espécimes menores, permitindo melhor controle das condições experimentais.

O bloco obtido nesse ensaio apresentou elevada transparência, ausência de *blush*, poucas bolhas e melhor qualidade óptica (fig. 5) quando comparado aos ensaios anteriores. Esses resultados indicaram que a remoção de resíduos químicos presentes no espécime antes da polimerização apresentou maior influência sobre a qualidade do bloco do que a presença isolada da glicerina durante a etapa de clareamento.

Figura 5. Emblocamento de espécime diafanizado com protocolo sem uso de glicerina, com lavagem em gradiente alcoólico, impregnação em catalisador puro seguido de resina pura, destacando a transparência do bloco e ausência de *blush*.



Fonte: próprio autor.

Com o objetivo de facilitar a visualização das modificações implementadas ao longo do desenvolvimento do protocolo, o quadro 1 apresenta uma síntese comparativa dos três ensaios experimentais realizados. Nele, estão reunidas as principais alterações metodológicas adotadas, permitindo a comparação e evidenciando a evolução das estratégias utilizadas para otimizar a qualidade do emblocamento em resina epóxi e a obtenção de blocos com maior transparência e integridade estrutural.

Quadro 1. Síntese comparativa dos procedimentos metodológicos empregados nos três ensaios, evidenciando as adaptações realizadas e os resultados obtidos

| Critério | 1º Ensaio | 2º Ensaio | 3º Ensaio |
|---|---|---|---|
| Resina utilizada | Ohana<br>OHR-22 e OHE-63 | VIP Resinas<br>VR300 e VRE300 | VIP Resinas<br>VR300 e VRE300 |
| Glicerina no protocolo | Sim | Não | Não |
| Lavagem em gradiente alcoólico | Sim | Não | Sim |
| Impregnação em catalisador e resina puros | Sim | Não | Sim |
| Formação de bolhas | Muitas | Poucas | Poucas |
| Fenômeno de *blush* | Ausente | Ausente inicialmente; observado durante a cura | Ausente |
| Qualidade óptica final | Regular | Boa | Excelente |

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos evidenciaram que o sucesso do emblocamento está diretamente relacionado ao controle integrado das etapas de preparação dos espécimes. A lavagem em gradiente alcoólico, associada à impregnação progressiva em catalisador e resina epóxi puros, mostrou-se essencial para a remoção de resíduos químicos capazes de interferir na polimerização, favorecendo a obtenção de blocos com elevada transparência, homogeneidade e estabilidade estrutural. Além disso, verificou-se que a formação do fenômeno de *blush* não esteve diretamente relacionada à presença de glicerina no protocolo de diafanização, mas à permanência desses resíduos, enquanto a escolha da resina influenciou significativamente a qualidade óptica e a ocorrência de bolhas durante a cura.

Dessa forma, este estudo não apenas comprovou a possibilidade de descartar o uso da glicerina com timol para preservação dos espécimes, como incorporou e padronizou uma etapa inédita de emblocamento ao protocolo de diafanização, e estabeleceu parâmetros metodológicos que poderão servir de base para a produção de materiais didáticos mais duráveis, seguros e ambientalmente mais sustentáveis.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização de estudos que avaliem quantitativamente a influência de diferentes concentrações de reagentes, tempos de exposição e tipos de resina sobre a qualidade final dos blocos obtidos, priorizando um resultado final com alta transparência, ausência de bolhas e com baixa taxa de amarelamento

progressivo, bem como a possibilidade de otimização do protocolo por meio da redução do tempo de processamento de suas diferentes etapas, desde que essa simplificação não comprometa a transparência, a pigmentação diferencial e a integridade dos espécimes, contribuindo para o contínuo aperfeiçoamento do protocolo proposto.

## 6. REFERÊNCIAS

ALENCAR, W. T.; PEREIRA, L. P. Coleção osteológica como recurso didático em aulas práticas no curso de ciências biológicas da UEME, São Luís - MA. **Pesquisa em foco**, v. 20, n. 1, p. 36-46, 2015.

ARANGO, L. J. T. *et al*. Didactic model of the chicken embryo development using modified Dawson´s diaphanization and staining technique. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 25, p. 620- 624, 2012.

AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M. G. (org.) **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos.** São Paulo: Arujá: Instituto Pau Brasil de História Natural. 2002.

BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2008.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, DF: Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011. Disponível em: http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=17214. Acesso em: 22 jul. 2026.

CARRIÇO, M. R. S. *et al*. A prática da taxidermia como estratégia de ensino na área de Zoologia. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. v. 6, n. 1, 2014.

DA SILVA, L. K. B. *et al*. A técnica de diafanização e a aprendizagem da anatomia e fisiologia do desenvolvimento fetal humano. **Salão do Conhecimento - XXV Seminário de Iniciação Científica.** UNIJUÍ. Rio Grande do Sul. 2017. Disponível em: file:///C:/Users/1137792/Downloads/anasilva,+Journal+manager,+7966-34084-1-CE%20(1).pdf. Acesso em: 11 abr. 2025

DAWSON, A. B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. **Stain Technology**, v. 1, n. 4, p. 123-124, 1926.

DINGERKUS, G.; UHLER, L. D. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. **Stain technology**, v. 52, n. 4, p. 229-232, 1977.

FIOCRUZ. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio. **Técnicas histológicas**. Rio de Janeiro: EPSJV, [s. d.]. Disponível em: https://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo_3_vol2.pdf. Acesso em: 9 nov. 2025.

FOX, C. H. *et al*. Formaldehyde fixation. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 33, n. 8. p. 845-53, 1985.

HELANDER, K. G. Kinetic studies of formaldehyde binding in tissue. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 69, n. 3, p. 177-9, 1994.

INCOR. Instituto do Coração. **Técnicas histológicas laboratoriais**. São Paulo: USP, [s. d.]. Disponível em: https://www.incor.usp.br/onadocs/APAT/ONA%20DOCUMENTOS_NOVO/ONADOCS _Rotinas/ONADOCS_rotinas_Laboratório/Tecnicas_Histológicas_LAP.pdf. Acesso em: 9 nov. 2025.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate Change 2023 Synthesis Report**. IPCC, Geneva, Switzerland, p. 35-115. 2023. Disponível em: https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/. Acesso em: 11 abr. 2025.

JACOBI, P. Educação ambiental, cidadania e sustentabilidade. **Cadernos de Pesquisa**, n. 118, p. 189- 205, 2003.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KIERNAN, J. A. **Histological and histochemical methods**: theory and practice. 3. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000.

KRASILCHIK, M. **Prática de Ensino de Biologia**. 4 ed. São Paulo: Edusp, 2004. 197p.

LEE, H.; NEVILLE, K. **Handbook of epoxy resins**. New York: McGraw-Hill, 2012.

LIMA, T. A. G.; RAMOS, C. L.; LIMA, R. N. O uso da osteotécnica como estratégia de educação ambiental. In: **Anais Do VIII Congresso de Ecologia Do Brasil**. n. VIII, 2007, Caxambu. Caxambu: 2007. p. 2. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://abrapec.com/atas_enpec/viiienpec/resumos/R1718-1.pdf. Acesso em: 09 abr. 2025.

LIUTENKO, M. A. *et al*. History of origin, advantages and disadvantages, vectors of application of the diaphonization method: current state of the problem. **Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego**, v. 51, n. 6, p. 632-637, 2023.

NEON. **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos – FISPQ. 2023.** Disponível em: /https://neon2api.mercanteweb.com.br/api/Produto/produtoFicha?codProduto=2089 Acesso em: 11 abr. 2025.

ONU. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: ODS 4 – Educação de Qualidade**. Brasília: Nações Unidas Brasil, 2015. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/4. Acesso em: 09 abr. 2025.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry**: theoretical and applied. 4. ed. London: Churchill Livingstone, 1985.

REED, R. B. *et al*. Clearing and staining small vertebrates for demonstrating ossification of the skeletal system using the KOH and glycerine clearing method. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 48, n. 6, p. 605-608, 2019.

REIS, C. F. **Avaliação da percepção de alunos de graduação em ciências biológicas acerca da prática de taxidermia como ferramenta técnica e didático pedagógica.** Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Centro Universitário de Brasília - UniCEUB. 2011. Disponível em: https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/235/6429. Acesso em: 09 abr. 2025.

ROCHA, E. V. O ensino da educação ambiental com o auxílio de animais taxidermizados. **Revista da Católica, Uberlândia**, v. 1, n. 1, p. 201-211, 2009

SANTOS, F. R. dos; SILVA, K. de L.; ARAÚJO, M. S. de. **Manual de técnica histológica de rotina e de colorações**. Recife: UFPE, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/40530/1/Manual%20de%20Técnica%20Histológica%20de%20Rotina%20e%20de%20Colorações.%20SANTOS%20et%20al.%2C%202021.pdf. Acesso em: 9 nov. 2025.

SCOTT, J. E.; DORLING, J. Differential staining of acid glycosaminoglycans by Alcian blue. **Histochemie**, v. 5, 221–233, 1965.

SILVA, R. K. A. *et al.* Vantagens e desvantagens das técnicas de preparação de materiais didáticos para as aulas práticas de morfologia. **Revista Didática Sistêmica**, v. 13, n. 2, p. 25-41, 2011.

SILVEIRA, M. J.; OLIVEIRA, E. F. Importância das coleções osteológicas para o estudo da biodiversidade. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 3, n. 1, p. 1-4, 2008.

SIMÕES, G. *et al.* Preparação de coleção didática de zoologia no campus São Roque utilizando-se as técnicas de incrustação em resina e de diafanização e coloração de ossos. **Scientia Vitae**, v. 3, n. 9, p. 10-15, 2015.

SOUZA, F. R. da S. Educação Ambiental e sustentabilidade: uma intervenção emergente na escola. **Revista Brasileira de Educação Ambiental,** v. 15, n. 3, p. 115-121. 2020.

STEEDMAN, H. F. Alcian blue 8GS: a new stain for mucin. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 91, p. 477–479, 1950.

VIP RESINAS. **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ)**: resina epóxi e catalisador. VIP Resinas, [s. d.]. Disponível em: https://www.vipresinas.com.br. Acesso em: 27 mar. 2026.

WASSERSUG, R. J. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates**. Stain Technology**, v. 51, n. 2, p. 131-134, 1976.

**Contatos:** 10730987@mackenzista.com.br e paola.occo@mackenzie.br