

Maria da Graça Rosa Henriques Rodrigues

MONITORIZAÇÃO DA CINÉTICA DE FORMAÇÃO DE MICROCÁPSULAS USANDO UMA TÉCNICA DE DISPERSÃO DE LUZ.

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pela Professora Doutora Maria da Graça Rasteiro e pelo Professor Doutor Jorge António Ribeiro Salvador e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro 2012



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

INDÍCE

RESUMO.....	4
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS.....	8
OBJECTIVOS	12
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
1.1 - Microencapsulação pelo método de emulsificação/evaporação do solvente ...	13
1.2 – Variáveis que condicionam a formação das microcápsulas	15
1.2.1 - Materiais	16
1.2.1.1- Fármaco a encapsular: aspirina	16
1.2.1.2- Polímero encapsulante	17
1.2.1.3 – Solvente orgânico.....	19
1.2.1.4- Surfactante.....	21
1.2.2 – Condições processuais	22
1.2.2.1- Geometria do reactor e velocidade de agitação.....	22
1.2.2.2- Fracção Volumétrica da fase dispersa.....	24
1.2.2.3 – Pressão e temperatura.....	25
1.2.2.4 – Concentração de surfactante	26
1.3 - Mecanismos de formação das microcápsulas	27
1.4 – Monitorização da formação das microcápsulas.....	31
1.4.1 – Monitorização de outros processos de formação de micropartículas.....	35
1.5 – Definição das estratégias adoptadas no presente estudo.....	38
CAPÍTULO 2 - MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS.....	39
2.1- Materiais	39
2.2- Métodos experimentais	39
2.2.1- Método de emulsificação/evaporação do solvente	39

2.2.1.1- Formulação e produção das microcápsulas.....	39
2.2.1.2- Monitorização da formação das microcápsulas	41
2.2.2 – Métodos analíticos de caracterização das microcápsulas	46
2.2.2.1 – Determinação da eficiência de encapsulação	46
2.2.2.2 – Medição do Potencial Zeta.....	48
2.2.2.3 – Determinação do tamanho e distribuição de tamanhos das partículas	50
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS.....	53
3.1- RESULTADOS - Produção das microcápsulas pelo método de emulsificação /evaporação do solvente	53
3.1.1 – Eficiência da encapsulação, rendimento do processo e aspirina encapsulada.	53
3.1.2 – Determinação do Potencial Zeta das microcápsulas	54
3.1.3 – Tamanho e distribuição de tamanhos das microcápsulas.....	54
3.1.4 – Microscopia	55
3.2- RESULTADOS - Monitorização da formação das microcápsulas.....	61
3.2.1- Influência da variação da velocidade de rotação	68
3.2.2- Influência do aumento da quantidade de surfactante	72
3.2.3- Influência do aumento da quantidade de surfactante e da velocidade de rotação	76
3.2.4- Caracterização das microcápsulas formadas	80
3.2.4.1- Eficiência da encapsulação, rendimento do processo e aspirina encapsulada.	80
3.2.4.2 – Determinação do Potencial Zeta das microcápsulas	80
3.2.4.3- Tamanho e distribuição de tamanhos das microcápsulas	80
3.2.4.4 – Microscopia	81
3.3 - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	87
CAPÍTULO 4 - CONCLUSÕES E PROPOSTAS PARA TRABALHO FUTURO.	92

BIBLIOGRAFIA	95
ANEXO I.....	105
ANEXO II.....	108
ANEXO III.....	111
ANEXO IV	114
ANEXO V.....	116
ANEXO VI	118
ANEXO VII.....	124
ANEXO VIII.....	128

RESUMO

A monitorização da formação das microcápsulas durante o processo de microencapsulação, permitindo o conhecimento do efeito da variação dos materiais e das condições processuais nas microcápsulas formadas, é essencial para o desenvolvimento, optimização e scale-up do processo de microencapsulação. Assim é muito importante dispor de metodologias para avaliar a formação das microcápsulas. A caracterização das microcápsulas tem sido muito estudada, havendo muitos relatos descritos na literatura, contudo, no referente à monitorização online da formação dessas micropartículas, a informação é escassa.

Neste trabalho, numa primeira fase, foi estabelecida a formulação que permitiu produzir microcápsulas de etilcelulose com aspirina usando o método de emulsificação/evaporação do solvente. O solvente utilizado foi o acetato de etilo e o surfactante o tween 80. O processo de microencapsulação desenvolvido permitiu produzir microcápsulas pequenas, esféricas, cuja parede é constituída por etilcelulose e aspirina e de interior esponjoso.

Numa segunda fase foi feita a monitorização da formação das microcápsulas no equipamento Mastersizer Hydro2000, que usa a técnica de difração de luz laser (LDS). Foi ainda estudada a influência da variação da velocidade de rotação e da quantidade de surfactante na formação das microcápsulas.

Os testes efectuados permitiram concluir que a monitorização é possível, mesmo para um sistema complexo como o que foi objecto deste estudo. Assim, conseguiu monitorizar-se a formação dinâmica das microgotas com quebra e coalescência a ocorrer em simultâneo, originando um aumento de tamanho, até ser atingido o equilíbrio, altura a partir da qual apenas há evaporação do solvente, com consequente diminuição de tamanho das microcápsulas.

O facto da hidrodinâmica do Mastersizer favorecer a agregação das micropartículas, introduziu dificuldades adicionais, fazendo com que alguns testes não fossem conclusivos, nomeadamente no referente ao aumento da quantidade de surfactante onde era expectável que as microcápsulas formadas fossem mais pequenas, o que não ficou demonstrado devido à agregação das microcápsulas durante a monitorização.

No referente ao estudo da variação da velocidade de rotação foi possível monitorizar a formação das microcápsulas aumentando a velocidade de rotação no Mastersizer, de 750 rpm para 1000 rpm, o que origina partículas mais pequenas. Porém ao aumentar mais a velocidade de rotação, as microgotas formadas na emulsificação são mais pequenas e tendem a agregar devido ao maior número de choques.

Este trabalho permitiu mostrar que a monitorização da formação das microcápsulas, usando a técnica LDS, é possível. Espera-se, por isso, que esta tese possa ser uma base de trabalho para futuros estudos.

ABSTRACT

Monitoring the formation of microcapsules during microencapsulation processes, allowing the knowledge of the effect of varying materials and process conditions in the microcapsules formed, is essential for development, optimization and scale-up of the microencapsulation process. So it is very important to have methodologies to assess the formation of microcapsules. The characterization of microcapsules has been studied, with many studies reported in the scientific community, however, with regard to monitoring online the formation of these microcapsules, information is scarce.

The first step was to establish the formulation which allowed the production microencapsulation of aspirin in ethylcellulose, using the emulsification / solvent evaporation technique. Ethyl acetate was used as solvent and Tween 80 as surfactant. The microencapsulation process developed allowed the production of small spherical microparticles, where the wall consists of ethylcellulose and aspirin and a spongy interior.

The second step was to monitor the formation of microcapsules in the Mastersizer Hydro2000 equipment, from Malvern, which uses the laser diffraction technique (LDS). In this equipment, it was studied the influence of the agitation rate and of the amount of surfactant in the formation of microcapsules. The tests carried out showed that monitoring is possible even for a complex system such as that object of this study. Thus, we were able to monitor the formation of droplets with dynamic breaking and coalescence occurring simultaneously, resulting in an increase in size until equilibrium is reached. From this moment only solvent evaporation was occurring with consequent reduction in size of the microcapsules.

The hydrodynamics of the Mastersizer promote aggregation of the microparticles, introducing additional difficulties and making certain tests not conclusive, particularly regarding the influence of increase of the amount of surfactant. It was expected that the microcapsules formed should be smaller, with the increase of the amount of surfactant, which was not demonstrated due to aggregation of the microcapsules during monitoring by LDS.

As regards the influence of the agitation rate it was possible to monitor the formation of microcapsules increasing the rotational speed in the Mastersizer from 750 rpm to 1000 rpm, which results in smaller particles. But if the agitation rate, will increases more, the microdroplets formed during emulsification will be smaller and will aggregate as a result of collisions between the droplets.

This work has shown that the monitoring of the formation of microcapsules using the LDS technique is possible. We hope that this thesis may be a working basis for future studies.

LISTA DE FIGURAS

Fig.1.1- Processo de microencapsulação por evaporação do solvente. (Fonte: Li et al., 2008) .	14
Fig.1.2- Mecanismo de hidrólise do ácido acetilsalicílico (fonte: Melo et al.,2006).	16
Fig.1.3- Estrutura da etilcelulose (fonte: catálogo Hercules)	19
Fig.1.4- (A)- reactor sem chicanas, existência de vórtice, enquanto em (B) reactor com chicanas, não há formação de vórtice. (fonte: Benita, 2006, cap.6)	23
Fig.1.5- Reactor para emulsificação (fonte: Benita, 2006, cap.6).....	24
Fig.1.6- Surfactante numa emulsão óleo em água. A partir da CMC, o surfactante organiza-se em micelas. (fonte: Schramm, 2006).....	26
Fig.1.7- Difusão e evaporação do solvente (Fonte: Li et al. 2008).....	28
Fig.1.8- Modelo de transferência de massa para uma gota. (Fonte: Li et al. 2008).....	30
Fig.1.9- Imagens PVM tiradas durante 4h de forma a acompanhar a formação e o crescimento das microcápsulas (fonte: Zidan et al.2010).....	32
Fig.1.10- Desenho da posição das sondas relativamente ao agitador (fonte: Zidan et al., 2010).	33
Fig.1.11- Equipamento FlowCAM (fonte: www. fluidimaging.com).....	34
Fig.1.12-Imagens recolhidas em diferentes tempos da reação (fonte: www. fluidimaging.com).	35
Fig.1.13- Equipamento para a monitorização online do tamanho de partículas de alumina (fonte: Belhabri et al, 2004).....	37
Fig.2.1- Difração do feixe de luz: a) partículas maiores, b) partículas menores. (fonte: Cunha, 2007).	41
Fig.2.2- Representação esquemática de um equipamento para a determinação do tamanho da partícula, por difração laser (fonte: www.malvern.com)	42
Fig.2.3- Mastersizer Hydro2000 com acessório Hydro 2000MU (fonte: Oliveira, 2010).	44
Fig.2.4- Mastersizer Hydro2000 com acessório Hydro 2000MU, utilizado no presente estudo.	45
Fig.2.5- Esquema exemplificativo Potencial Zeta (fonte: Pereira, 2010).	49
Fig.2.6- Alguns dos diâmetros que se podem definir na projecção bidimensional da partícula: DM – diâmetro maior; Dm – diâmetro menor, DMt – diâmetro de Martin; DF – diâmetro de Feret. (fonte: Dias, 2004).....	51

Fig.3.1- Microcápsulas produzidas no teste 19 (ampliação: foto esquerda-40x; foto direita-200x).	55
Fig.3.2- Microcápsulas produzidas no teste 20 (ampliação: foto esquerda-40x; foto direita-200x).	56
Fig.3.3- Imagens SEM das microcápsulas produzidas no teste 19.....	56
Fig.3.4- Imagens SEM das microcápsulas produzidas no teste 20.....	56
Fig.3.5- Imagens de SEM das microcápsulas produzidas no teste 19 depois de cortadas.	57
Fig.3.6- Imagens obtidas ao microscópio das microcápsulas formadas no teste 2 (escalas: 200µm; 100µm; 50 µm e 20µm)	58
Fig.3.7- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no início da emulsão, teste 2 (escalas: 200µm e 20 µm).	59
Fig.3.8- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no início do aquecimento, teste2 (escalas: 100µm, 20µm).	60
Fig.3.9- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio na evaporação, teste2. (escalas: 100µm, 50µm).	60
Fig.3.10- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no teste 2, antes de filtrar (escalas: 200µm, 50µm).	60
Fig.3.11- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste sem aspirina (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).	61
Fig.3.12- Evolução de d_{10} com o tempo.	61
Fig.3.13- Evolução de d_{50} com o tempo.	62
Fig.3.14- Evolução de d_{90} com o tempo.	62
Fig.3.15- Imagens obtidas ao microscópio das microcápsulas no teste sem aspirina durante a etapa da evaporação (escalas: 200 µm e 50 µm).	63
Fig.3.16- Emulsificação para o teste 23 (primeiros 15 minutos: __ 1 ^a , __ 2 ^a , __ 3 ^a e __ 4 ^a aquisições).	64
Fig.3.17- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 23 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).	64
Fig.3.18- Evolução de d_{10} com o tempo para o teste 23.	65
Fig.3.19- Evolução de d_{50} com o tempo para o teste 23.	65
Fig.3.20- Evolução de d_{90} com o tempo para o teste 23.	65
Fig.3.21- Evolução da largura da distribuição com o tempo para o teste23.	66

Fig.3.22- Imagens das microcápsulas no teste 23 obtidas ao microscópio, 1h após o início da monitorização (escalas: 50 μm e 200 μm).	67
Fig.3.23- Imagens das microcápsulas no teste 23 obtidas ao microscópio, no final da evaporação (escalas: 200 μm e 100 μm).	68
Fig.3.24- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste com 750 rpm, teste22 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).....	69
Fig.3.25- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste com 1250rpm, teste 28 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).....	69
Fig.3.26- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.....	70
Fig.3.27- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.....	70
Fig.3.28- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.....	70
Fig.3.29- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 22 e 23.....	71
Fig.3.30- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 22 e 23.....	71
Fig.3.31- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 22 e 23.....	71
Fig.3.32- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 29 (5,94ml de surfactante) (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).....	73
Fig.3.33- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 30 (6,15ml de surfactante) (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).....	73
Fig.3.34- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.....	73
Fig.3.35- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.....	74
Fig.3.36- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.....	74
Fig.3.37- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, no início da emulsificação.....	75
Fig.3.38- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, na evaporação, 2h após o início da monitorização.....	75
Fig.3.39- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, no final da evaporação.....	76
Fig.3.40- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 32 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).....	76
Fig.3.41- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 32 e 30.	77
Fig.3.42- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 32 e 30.....	77

Fig.3.43- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 32 e 30.....	78
Fig.3.44- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 32 e 28.....	78
Fig.3.45- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 32 e 28.....	79
Fig.3.46- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 32 e 28.....	79
Fig.3.47- Microcápsulas produzidas no teste sem aspirina, analisadas sem surfactante.....	82
Fig.3.48- Microcápsulas produzidas no teste sem aspirina, analisadas com surfactante	82
Fig.3.49- Microcápsulas produzidas no teste 22, analisadas sem surfactante.....	82
Fig.3.50- Microcápsulas produzidas no teste 22, analisadas com surfactante.	83
Fig.3.51- Microcápsulas produzidas no teste 23, analisadas sem surfactante.....	83
Fig.3.52- Microcápsulas produzidas no teste 23, analisadas com surfactante.	83
Fig.3.53- Microcápsulas produzidas no teste 28, analisadas sem surfactante.....	84
Fig.3.54- Microcápsulas produzidas no teste 28, analisadas com surfactante.	84
Fig.3.55- Microcápsulas produzidas no teste 29, analisadas sem surfactante.....	85
Fig.3.56- Microcápsulas produzidas no teste 29, analisadas com surfactante.	85
Fig.3.57- Microcápsulas produzidas no teste 30, analisadas sem surfactante.....	86
Fig.3.58- Microcápsulas produzidas no teste 30, analisadas com surfactante.	86
Fig.3.59- Microcápsulas produzidas no teste 32, analisadas sem surfactante.....	86
Fig.3.60- Microcápsulas produzidas no teste 32, analisadas com surfactante.	87

OBJECTIVOS

- Estabelecer uma formulação de base que permita a encapsulação de aspirina, em microcápsulas de etilcelulose, usando a técnica de microencapsulação por emulsificação/evaporação do solvente.
- Monitorizar online a formação das microcápsulas de etilcelulose com aspirina usando uma técnica de dispersão de luz laser.
- Monitorizar a influência da variação de alguns parâmetros do processo.
- Caracterizar morfológicamente as microcápsulas formadas.
- Definir metodologias para a avaliação da eficiência da encapsulação.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A microencapsulação é definida como a tecnologia de encapsulamento de materiais sólidos, líquidos e gasosos, em minúsculas cápsulas seladas, isolando e protegendo esses materiais, das condições ambientais adversas, como luz, oxigénio, humidade e interações com outros compostos.

Essas embalagens chamadas microcápsulas, podem variar de sub-micron a alguns milímetros de tamanho e são idealmente esféricas; sendo a sua estrutura fortemente influenciada pela estrutura do material original. O material encapsulante é denominado filme ou material de parede, enquanto o encapsulado é chamado material activo, núcleo ou fase interna (Dziezak, 1998; Matioli et al. 2003; Bastos, 2007).

1.1 - Microencapsulação pelo método de emulsificação/evaporação do solvente

A técnica de microencapsulação por emulsificação/evaporação do solvente é muito utilizada, tendo em vista a simplicidade dos procedimentos envolvidos na obtenção das partículas e as possibilidades de modulação das características físicas e físico-químicas das partículas por meio da escolha dos componentes da formulação e das condições de preparação (Bhardwaj et al., 1995; Khidr et al., 1998; Zanetti, 2002).

Para fármacos pouco solúveis ou insolúveis em água, fármacos lipofílicos, como a aspirina, utiliza-se o método o/w (óleo em água).

Consiste em 4 passos (fig.1.1):

- 1- Dissolução do fármaco hidrofóbico num solvente orgânico contendo o polímero.
- 2- Emulsificação desta fase orgânica, chamada Fase Dispersa (DP), numa fase aquosa, chamada Fase Contínua (CP).
- 3- Extração do solvente da fase dispersa pela fase contínua, acompanhada da evaporação do solvente, transformando gotículas de fase dispersa em partículas sólidas.
- 4- Recuperação e secagem das microcápsulas, para eliminar o solvente residual.

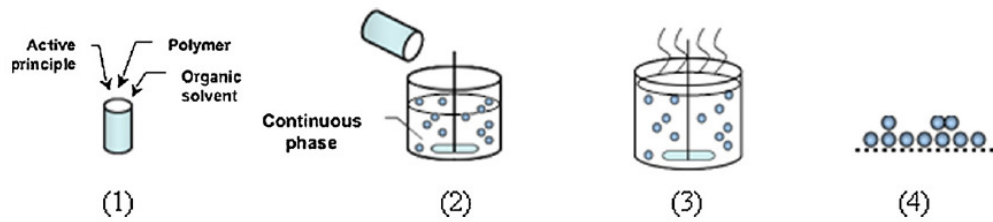


Fig.1.1- Processo de microencapsulação por evaporação do solvente. (Fonte: Li et al., 2008)

O método terá que ser adaptado para o sistema em estudo, podendo ser necessário, por exemplo em situações em que o solvente é miscível com a água, fazer pré-emulsão, isto é adicionar a fase dispersa numa pequena quantidade de fase contínua e de seguida adicionar a restante fase contínua (Freytag et al., 2000).

Yang et al.,1999, apresentaram um estudo de microencapsulação de aspirina em etilcelulose pela técnica de emulsificação evaporação do solvente, usando como solvente o diclorometano. Quantidades iguais de etilcelulose e de aspirina foram dissolvidas em diclorometano, constituindo a fase dispersa. Os constituintes da fase contínua foram água, previamente saturada com aspirina, e surfactante. Foi adicionado um não-solvente. Após a emulsificação foi aplicado vácuo. A eficiência de encapsulação, a distribuição do tamanho das partículas, bem como a libertação da aspirina foram alguns dos parâmetros analisados, tendo os autores concluído que um aumento da concentração do polímero na fase dispersa origina um aumento do tamanho das microcápsulas bem como um aumento da eficiência da encapsulação e do rendimento do processo, mas uma diminuição da velocidade de libertação.

Noutro estudo posterior, os mesmos autores apresentam um processo de microencapsulação para a aspirina em etilcelulose, pelo método de emulsificação evaporação do solvente, mas usando etanol na fase dispersa e óleo de soja na fase contínua (emulsão água em óleo). (Yang et al.,2000), tendo concluído que um aumento da temperatura de evaporação origina um aumento do tamanho das microcápsulas, mas diminui a eficiência da encapsulação e o rendimento do processo.

Dash et al., 2009, preparam microcápsulas de aspirina em etilcelulose, em acetofalato de celulose e em misturas destes dois polímeros, usando o método de emulsificação evaporação do solvente. Na preparação das microcápsulas foi usado etanol e acetona.

As microcápsulas de etilcelulose preparadas apresentaram uma velocidade de libertação da aspirina, inferior às microcápsulas de acetofalato e às microcápsulas resultantes da mistura destes dois polímeros.

Yang et al. 2000a, apresentaram um estudo de encapsulação da aspirina em etilcelulose, numa emulsão óleo/água, por aplicação de uma gelatina. Os resultados mostraram que o rendimento do processo aumenta com o aumento da concentração da gelatina.

1.2 – Variáveis que condicionam a formação das microcápsulas

A encapsulação de fármacos em matrizes poliméricas tem como objectivo permitir a libertação controlada do fármaco, de forma a cumprir a meta terapêutica requerida, permitindo desta forma um tratamento eficaz da doença. (Wischke, et al. 2008).

A eficiência de encapsulação do fármaco nas microesferas é influenciada por diversos factores, como as características físico-químicas do fármaco e dos polímeros e também as variáveis do processo, como a velocidade de agitação, os solventes utilizados, a velocidade de evaporação do solvente, entre outros (Freitas et al., 2004).

Por sua vez a libertação de fármacos a partir das microesferas é influenciada por diversos factores, como, por exemplo, a presença de cristais de fármaco próximos à superfície externa das partículas, a porosidade da matriz polimérica e o tamanho das microesferas, entre outros (Freitas et al., 2004). De acordo com Oliveira et al. 2010, é possível modular a libertação do fármaco alterando os parâmetros que condicionam a formação das microcápsulas.

No processo de microencapsulação a formação das microcápsulas é condicionada pelas propriedades dos materiais escolhidos, bem como pelas condições processuais: velocidade de agitação e tipo de agitador, geometria de reactor, pressão e temperatura, fracção de fase dispersa e da fase contínua.

1.2.1 - Materiais

1.2.1.1- Fármaco a encapsular: aspirina

A aspirina, ácido acetilsalicílico (AAS), é um fármaco anti-inflamatório e anti-pirético. Inibe a agregação plaquetária, e é muito utilizado no alívio da dor. Porém a aspirina tem um efeito irritante na mucosa gástrica podendo causar úlceras e hemorragias (Dash et al., 2009).

A microencapsulação de aspirina permite o desenvolvimento de fórmulas de libertação controlada, ou seja, aquelas com a capacidade de libertar os agentes activos apenas nos órgãos onde devem agir ou onde serão absorvidos. Assim, o princípio activo protegido é libertado gradativamente por meio de estímulos adequados, tais como mudança de pH, rompimento físico, intumescimento, dissolução etc. Esta libertação é devida a mecanismos complexos (Fredenberg et al. 2011), que ocorrem após a sua entrada no organismo. Além disso, mascarar odor e/ou sabor desagradável de princípios activos é outra aplicação do processo de microencapsulação na indústria farmacêutica.

Desta forma os efeitos indesejáveis da aspirina são minimizados, e a frequência de administração é reduzida.

A aspirina é sintetizada, industrialmente, pela acetilação do ácido salicílico utilizando anidrido acético em meio ácido. Durante o processo de síntese, pode ocorrer a produção de ácido acetilsalicílico contendo pequenas quantidades de ácido salicílico, como impureza. O ácido salicílico (AS), apesar de possuir propriedades farmacológicas semelhantes às do ácido acetilsalicílico (AAS), possui gosto amargo e provoca irritações estomacais.

Da mesma forma durante a conservação, a aspirina deve ser mantida em local seco, pois o ácido acetilsalicílico pode sofrer hidrólise, originando ácido salicílico e ácido acético, o que é perceptível pelo cheiro a vinagre. O mecanismo da reacção de hidrólise é ilustrado na figura 1.2.

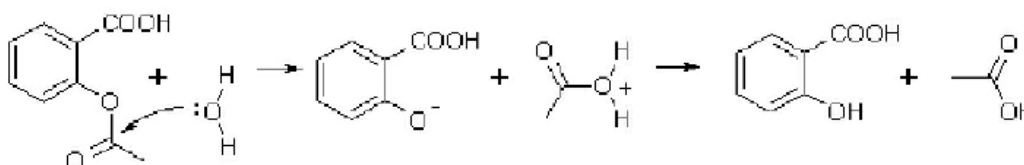


Fig.1.2- Mecanismo de hidrólise do ácido acetilsalicílico (fonte: Melo et al.,2006).

1.2.1.2- Polímero encapsulante

O material encapsulante é seleccionado em função das propriedades físicas e químicas do agente activo, da aplicação pretendida e do método utilizado para formar as micropartículas.

Segundo Santos et al. (2000), o encapsulante ideal deve:

- apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas;
- ser de fácil manipulação durante o processo;
- possuir baixa higroscopicidade, para facilitar a manipulação e evitar aglomeração;
- não ser reactivo com o material a ser encapsulado;
- ter habilidade de selar e segurar o material activo dentro da estrutura da cápsula;
- permitir a libertação fácil do solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação;
- proporcionar máxima protecção ao material activo contra condições adversas, tais como luz, pH, oxigénio e ingredientes reactivos;
- ser solúvel no solvente usado;
- não apresentar sabor desagradável no caso de consumo oral;
- ser económico.

Os materiais mais utilizados como encapsulantes incluem (Suave et al. 2006)

- Carbohidratos: amido, dextrinas, açúcar, xarope de milho, celulosas;
- Gomas: goma arábica, alginato de sódio, carragena;
- Lipídeos: cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monoglicerídeos e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas;
- Poliésteres naturais: poli(hidroxialcanoatos), tais como poli(3-hidroxitirato) P(3HB), poli(3-hidroxitirato) P(3HV) e seus copolímeros;

- Polímeros sintéticos: poli(D, L-ácido láctico) (PDLA), poliacrilatos, copolímeros de polietileno, *co*-propileno, poli(ϵ -caprolactona) (PCL);
- Proteínas: glúten, caseína, gelatina, albumina;
- Quitosana: fonte alternativa extraída da casca de crustáceos.

Nas aplicações farmacêuticas as propriedades essenciais dos polímeros são a biodegradabilidade, ou seja a capacidade de degradação dos constituintes do polímero em compostos inofensivos que são metabolizados e excretados e a biocompatibilidade, ou seja a capacidade dos constituintes do polímero serem fisiologicamente tolerados, não podendo causar reacções adversas quer locais, quer sistémicas, após a administração.

Uma variedade de polímeros biodegradáveis de origem natural têm sido descritos, porém poucos são biocompatíveis.

Polímeros biodegradáveis naturais como o soro a albumina bovina e humana, o colagénico, a gelatina e a hemoglobina têm sido avaliados, mas o seu uso é limitado pelo alto custo e/ou dificuldade de reprodução de lotes. (Oliveira et al. 2010).

Uma alternativa consiste no uso de polímeros biodegradáveis sintéticos tais como o ácido láctico (**PLA**), o ácido glicólico (**PGA**) e o seu co-polímero ácido láctico-co-glicólico (**PLGA**) que têm sido alvo de muitos estudos devido à sua excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, tendo sido aprovados pela FDA para a utilização em seres humanos (Kissel et al 2006, Li et al. 2008). São poliésteres relativamente hidrofóbicos, instáveis na presença de humidade e biodegradáveis a produtos atóxicos (ácido láctico, ácido glicólico, água e dióxido de carbono). São fisiologicamente inertes e biocompatíveis, uma vez que degradam no meio fisiológico, por hidrólise, gerando metabolitos semelhantes aos existentes no organismo.

A grande desvantagem destes polímeros PLA e PLGA reside no facto de apenas serem solúveis em solventes orgânicos tóxicos tais como diclorometano, clorofórmio, etil acetato e etil formato. (Benita, 2006).

Outros polímeros biodegradáveis tais como poli-3-hidroxibutirato e os seus copolímeros com o hidroxivalerato, **PHVB**, foram estudados para fins farmacêuticos e médicos

(Amass et al. 1998, Farago et al. 2006, Coimbra et al. 2008). São produzidos biossinteticamente por bactérias a partir de materiais naturais e quebram rapidamente por acção de microorganismos, em condições específicas.

Polímeros não biodegradáveis tais como **etilcelulose**, (degradável mas não biodegradável) e o **polimetilmetacrilato** (biocompatível, mas não-degradável), são também utilizados, acima de tudo por serem mais económicos.

A **etilcelulose** é um polímero muito resistente, solúvel numa larga gama de solventes, flexível para temperaturas baixas e de baixo custo, tendo sido aprovado pela FDA para aplicações farmacêuticas (Li et al. 2008). É caracterizado pela sua baixa inflamabilidade. Pode ser administrado oralmente para proteger o fármaco contra o tracto gastrointestinal (Stulzer et al. 2007) ou pode ser administrado intra duodenal para prolongar a absorção intestinal (Takishima et al 2002).

A estrutura deste polímero está representada na fig.1.3.

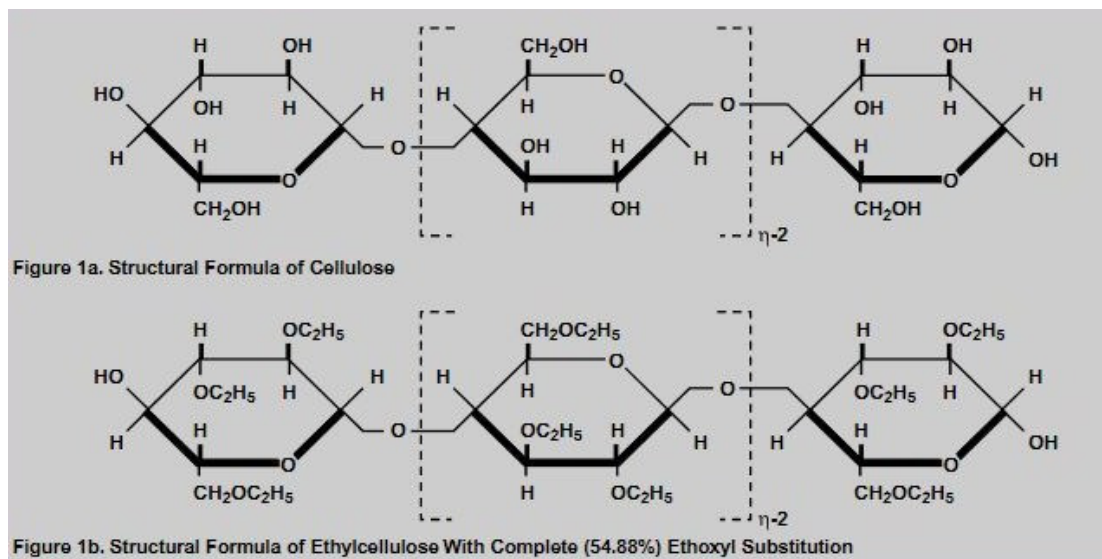


Fig.1.3- Estrutura da etilcelulose (fonte: catálogo Hercules)

1.2.1.3 – Solvente orgânico

O solvente deve reunir os seguintes critérios:

- ser capaz de dissolver o polímero escolhido;
- ser fracamente solúvel na fase contínua;

- ter uma volatilidade elevada e um ponto de ebulição baixo;

- ter baixa toxicidade.

Os solventes mais utilizados são: o clorofórmio, o diclorometano, o acetato de etilo e o formato de etilo (Li et al. 2008).

O **clorofórmio** era muito utilizado, mas devido à sua elevada toxicidade e baixa pressão de vapor, foi sendo gradualmente substituído pelo diclorometano.

O **diclorometano** é o solvente mais utilizado, devido à sua elevada volatilidade, baixo ponto de ebulição, elevado poder de solvatação para uma ampla gama de polímeros e alta imiscibilidade na água. A sua elevada pressão de saturação comparada com outros solventes (no mínimo duas vezes superior) conduz a uma alta velocidade de evaporação, a qual encurta a duração do fabrico das microesferas. Porém este solvente é cancerígeno de acordo com a EPA e têm sido feitos esforços no sentido da sua substituição.

O **formato de etilo** é substituto do diclorometano, tendo Sah et al.2000 produzido microesferas de PLGA com formato de etilo.

O **acetato de etilo** é substituto do diclorometano, dado que apresenta uma toxicidade muito inferior, mas devido à sua miscibilidade parcial com a água, 4 a 5 vezes superior à do diclorometano, as microesferas não se formam se a fase dispersa for introduzida directamente na fase contínua. Para resolver o problema originado pela miscibilidade do solvente na água, três métodos podem ser utilizados (Li et al., 2008):

- . pré-saturar a solução aquosa com o solvente;
- . a fase dispersa é pré-emulsificada numa pequena quantidade de solução aquosa e após a formação de gotas é adicionada a restante fase contínua;
- . a fase dispersa é emulsificada numa pequena quantidade de solução aquosa, a solução é agitada e o solvente evapora levando à solidificação das microesferas.

Outros solventes têm sido propostos para o processo de microencapsulação tendo como finalidade a redução de toxicidade tais como: o **glicofurol** (Alhenn et al. 2011), o **dimetilsulfóxido** (Elkharraz et al. 2011) ou a utilização de fluídos em condições supercríticas (Kulgea et al. 2009, Porta et al.2010).

O **metil-ter-butil éter**, tem também vindo a ser objeto de estudo. Porém as suas características físicas, nomeadamente a sua inflamabilidade, classificação 3 do guia de seleção de solventes da GlaxoSmithKline , GSK, (Henderson et al. 2011), faz com que seja um solvente menos utilizado.

1.2.1.4- Surfactante

O surfactante ou agente tensoactivo é frequentemente utilizado para dispersar uma fase em outra fase imiscível estabilizando a emulsão. O surfactante reduz a tensão superficial da fase contínua, evita a coalescência e a aglomeração das gotas e estabiliza a emulsão, criando uma barreira hidrodinâmica à superfície das gotas.

Um surfactante deve ser capaz de originar microesferas com um tamanho regular (uniforme), com uma distribuição de tamanhos uniforme, garantindo uma previsível e estável libertação do fármaco (Youan et al., 2003). Antes de escolher o tipo de surfactante e a sua concentração é importante conhecer a polaridade das duas fases imiscíveis, o tamanho desejado para as microesferas e a esfericidade pretendida nas microesferas.

Os surfactantes são grandes moléculas anfífilas, têm uma parte polar (afinidade para a água) e uma parte apolar (afinidade para o solvente orgânico). Quando presente numa solução o surfactante cobre a superfície das gotas com a sua parte hidrofóbica na gota (fase orgânica) e a sua parte hidrófila na água. Há três tipos de surfactantes:

- aniónicos: os que apresentam carga negativa na solução aquosa. Têm um balanço hidrofília-lipofília elevado, uma vez que são propensos a ser hidrófilos. Ex: dodecilssulfato.
- catiónicos: os que apresentam carga positiva na solução. Ex: CTBA brometo de cetilmetilamónio.
- não-iónicos não têm carga. Ex: PVA (álcool polivinílico), metilcelulose, Tween (polisorbato).

Dependendo do tipo de emulsão pretendida, assim deve ser escolhido o surfactante. Atendendo à regra de Bancroft (que estabelece que a fase em que o surfactante é mais

solúvel tende a ser o meio dispersante), para emulsões óleo em água, o surfactante deve ser mais solúvel na água do que no solvente orgânico.

Um dos critérios de selecção do surfactante é o valor de HLB (balanço lipofílico - hidrofílico), que pode ser determinado por diferentes métodos (Rojas, 2007), porém para emulsões óleo em água, deve situar-se entre 8 e 18 (Schramm, 2006).

1.2.2 – Condições processuais

1.2.2.1- Geometria do reactor e velocidade de agitação

Na produção das microcápsulas pelo método da emulsificação/evaporação do solvente, uma etapa determinante, é a da emulsificação.

Uma emulsão pode ser definida como uma mistura de dois líquidos imiscíveis ou parcialmente miscíveis, onde uma das fases se encontra dispersa na outra, sob a forma de gotas de tamanho microscópico, (Schramm, 2006). As duas fases são, usualmente, estabilizadas pela presença de agentes emulsificantes, ou surfactantes, localizados na interface óleo/água.

Assim, para a formação de uma emulsão três requisitos são fundamentais: coexistência de dois líquidos imiscíveis, agitação suficiente para que um dos líquidos se apresente na forma de gotas e um emulsificante para estabilizar as gotas dispersas (Cunha, 2007).

Desta forma, a velocidade de agitação é um dos parâmetros que influencia directamente a emulsificação e a evaporação do solvente (Li et al. 2007), podendo ser manipulada para alterar as propriedades das microcápsulas formadas, nomeadamente o seu tamanho.

André-Abrant et al. 2001, apresentaram um estudo onde verificaram que o aumento da velocidade de agitação, quando se forma a emulsão, origina a diminuição do tamanho das gotas de fase orgânica, aumentando assim a superfície de troca entre a fase orgânica (fase dispersa DP) e a fase aquosa (fase contínua CP), o que favorece a transferência de fármaco para a fase contínua.

O tamanho das microcápsulas é função do tamanho das gotas formadas na emulsão, podendo por isso ser explicada a diminuição de tamanho das microcápsulas com o aumento da velocidade de agitação.

Heiskanen et al. 2010 concluíram também que o tamanho das microcápsulas decresce com o aumento da velocidade de agitação e o aumento da quantidade de surfactante. Porém quando a concentração do surfactante é baixa, mesmo aumentando a velocidade de agitação, o diâmetro das partículas aumenta, e a distribuição de tamanhos alarga. Isto é explicado pelo taxa da coalescência das gotas ser maior do que a quebra das gotas.

Outros factores relacionados com a agitação tais como a geometria do reactor, a existência de chicanas, para evitar a formação de vórtice (fig.1.4), têm também influência no tamanho das microcápsulas formadas (Maa et al., 1996).

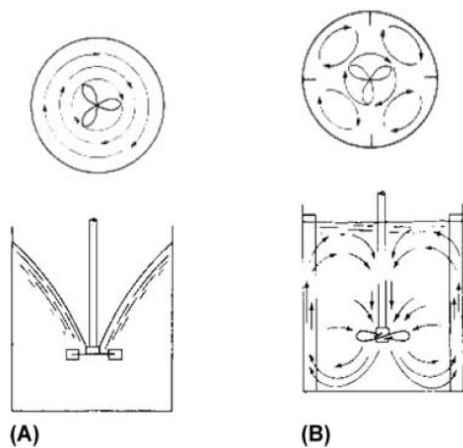


Fig.1.4- (A)- reator sem chicanas, existência de vórtice, enquanto em (B) reator com chicanas, não há formação de vórtice. (fonte: Benita, 2006, cap.6)

Para obter uma circulação dos fluídos uniforme e conseqüentemente uma mistura uniforme e uma boa emulsificação as seguintes condições devem ser verificadas (Benita, 2006, cap.6):

- O agitador deve ser colocado a uma altura da base do reactor, H_A , fig.1.5, que deve ser $1/3$ da altura total do líquido, H .
- O diâmetro do agitador, D_A , deve ser $1/3$ a $1/2$ da largura do reactor, T .
- A altura de líquido no reactor deve ser sensivelmente igual à largura do reactor. ($H=T$)

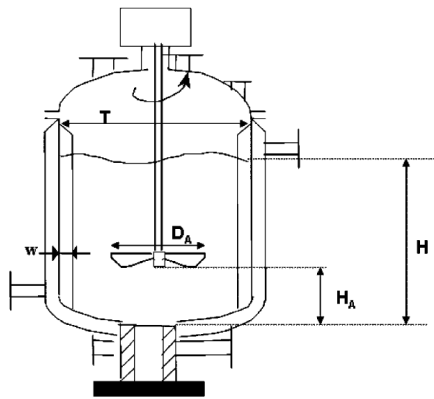


Fig.1.5- Reator para emulsificação (*fonte: Benita, 2006, cap.6*)

1.2.2.2- Fracção Volumétrica da fase dispersa

A razão entre os volumes de fase dispersa e fase contínua é um parâmetro muito importante. Mao et al. 2008, estudaram a encapsulação de um fármaco hidrofóbico (ABT627) em cápsulas de PLGA, pelo método óleo em água, usando como solvente diclorometano e como surfactante PVA, tendo verificado que quando a razão entre o volume da fase contínua e o volume da fase dispersa aumenta, a eficiência da encapsulação e a porosidade interna das microcápsulas diminuem, apresentando-se as partículas com forma esférica e superfície lisa.

No processo de microencapsulação por emulsificação/evaporação do solvente, a emulsificação é uma etapa determinante. A fracção volúmica da fase dispersa, ϕ , permite relacionar os volumes das duas fases, sendo definida por:

$$\phi = \frac{V_D}{V_D + V_C}$$

Onde,

V_D - Volume da fase dispersa.

V_C - Volume da fase contínua.

A fracção volumétrica da fase dispersa máxima numa emulsão, varia numa larga gama em função dos parâmetros de formulação: natureza do surfactante, temperatura,

natureza das fases oleosa e aquosa; e ainda das condições do processo: tipo de agitador, protocolo de incorporação e hidrodinâmica do equipamento utilizado (Rojas, 2007).

Um aumento da concentração da fase dispersa resulta num rápido aumento da viscosidade da emulsão, que é devida às interações entre as gotas. Quando se atinge 50-60% de fase interna, os contactos entre as gotas tornam-se mais frequentes e a partir de 70-80% estes contactos originam coalescência das gotas (Rojas, 2007), não se conseguindo desta forma produzir microcápsulas. Existe, por isso, um óptimo para a concentração da fase dispersa, tendo em conta os objectivos da encapsulação.

1.2.2.3 – Pressão e temperatura

A temperatura e a pressão estão directamente relacionadas com a velocidade de evaporação do solvente, e conseqüentemente com a estrutura das microcápsulas.

A temperatura é um dos parâmetros que pode ser alterado a fim de melhorar a eficiência do processo de encapsulação. Para temperatura baixa a coalescência das gotas diminui, produzindo-se assim microcápsulas mais pequenas (Heiskanen et al. 2010).

Aumentando a temperatura aumenta a velocidade de evaporação do solvente, porém este aumento de temperatura tem muitos inconvenientes:

- a massa total recuperada diminui
- a distribuição de tamanhos evolui no sentido dos tamanhos grandes
- a eficiência da encapsulação do fármaco decresce
- a morfologia das partículas torna-se grosseira, partículas com superfície grosseira (Freitas et al., 2004).

Se a temperatura for muito alta o fármaco pode desnaturar: o ácido acetilsalicílico degrada no intervalo de temperaturas de 102°C a 430°C (Mamede et al., 2006).

Assim para aumentar a velocidade de evaporação do solvente a melhor escolha parece ser a redução de pressão.

O efeito de redução da pressão depende do sistema a encapsular e do processo escolhido para tal. Assim alguns estudos, concluem que operar a pressão reduzida reduz o tempo

de produção das microcápsulas (Li et al., 2007, Meng et al. 2004) e melhora a eficiência da encapsulação; porém Chung et al. (2001) mostraram que a eficiência da encapsulação feita a pressão reduzida é inferior à feita a pressão atmosférica. Concluíram ainda que microesferas preparadas a pressão reduzida têm um tamanho mais pequeno do que o conseguido para as mesmas microesferas mas preparadas a pressão atmosférica. As microesferas obtidas a pressão reduzida apresentam uma superfície lisa, enquanto as obtidas à pressão atmosférica apresentam superfície rugosa com poros na superfície.

Assim o efeito de redução da pressão terá que ser analisado em função do sistema em estudo, uma vez que depende dos materiais utilizados e do processo escolhido.

1.2.2.4 – Concentração de surfactante

A adição de surfactante baixa a tensão superficial da fase contínua o que origina a diminuição do tamanho das partículas. (Jeffery et al. 1991, Yang et al. 2001, Heiskanen et al. 2010). Porém devido à concentração micelar crítica (CMC) a tensão superficial não decresce indefinidamente. Quando a concentração do surfactante atingir um certo valor limite, a interface fica completamente carregada. Qualquer acréscimo de surfactante irá organizar-se como micelas, Fig.1.6, e a tensão superficial da fase aquosa não vai diminuir mais (Li et al., 2008).

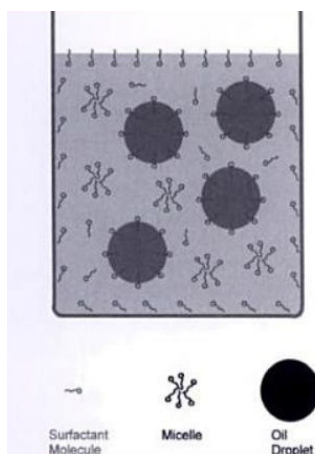


Fig.1.6- Surfactante numa emulsão óleo em água. A partir da CMC, o surfactante organiza-se em micelas. (fonte: Schramm, 2006).

Pachua et al., 2009, encapsularam sulfato de salbutamol em cápsulas de etilcelulose pelo método da evaporação do solvente, fazendo estudos de variação da concentração do surfactante adicionado. Concluíram que o aumento da concentração do surfactante origina uma redução do tamanho das partículas, e aumento da libertação do fármaco. A eficiência de encapsulação aumenta com o aumento da concentração do surfactante, até um determinado valor de concentração, porém, aumentando mais a concentração de surfactante a eficiência da encapsulação diminui. A explicação reside no facto de ser necessário um valor mínimo da concentração de surfactante para que as gotas fiquem estabilizadas. Enquanto não se atingir esse mínimo o sistema é instável e existe tendência à coalescência. A partir dessa concentração mínima como as gotas vão ficando cada vez mais pequenas, a eficiência pode diminuir.

A mesma conclusão tinha sido retirada por Mao et al. 2007, ao aumentar a concentração de PVA na preparação de microcápsulas de PLGA.

A presença de moléculas de surfactante na interface óleo/água, facilita a formação de pequenas gotas de emulsão fazendo diminuir a energia livre do sistema e permitindo um aumento da área interfacial, levando a uma redução do tamanho final das microesferas.

1.3 - Mecanismos de formação das microcápsulas

O processo de formação de microcápsulas por emulsificação/evaporação do solvente é composto por duas etapas fundamentais: a emulsificação da solução de polímero que contém a substância encapsulada; e a evaporação do solvente durante a qual ocorre o endurecimento das partículas e precipitação do polímero.

Durante a emulsificação a solução de polímero é dividida em microgotículas devido à tensão de cisalhamento produzida pela agitação na presença de um agente tensoactivo. Esta primeira etapa determina o tamanho e a distribuição de tamanhos das microcápsulas.

Na segunda etapa a emulsão inicial é transformada nas microcápsulas finais por eliminação de solvente e precipitação do polímero. Esta etapa determina a morfologia das microcápsulas e tem grande influência no encapsulamento e na libertação da substância encapsulada (Rosca et. al, 2004).

Assim vários mecanismos têm de ser tidos em conta durante o processo de formação das microcápsulas e como tal influenciam a cinética da formação das mesmas. Os dois principais mecanismos são:

Evaporação do solvente

Na figura 1.7 estão representados os fluxos de difusão do solvente

F_1 – Fluxo de difusão do solvente das gotas para a fase contínua

F_2 – Fluxo difusão do solvente da fase contínua para o ar (velocidade de evaporação)

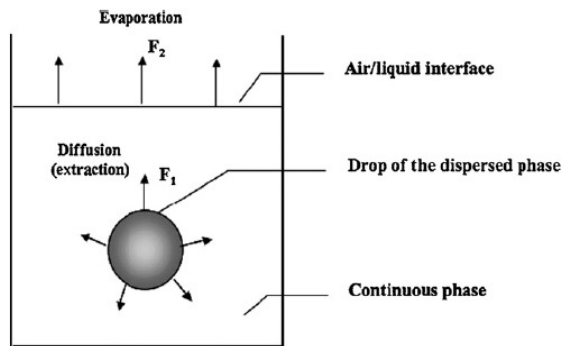


Fig.1.7- Difusão e evaporação do solvente (*Fonte: Li et al. 2008*)

O processo de evaporação do solvente é constituído por três etapas devido à interacção entre estes dois fluxos de massa, F_1 e F_2 .

Etapa A: No início a difusão do solvente das gotas para a fase contínua, F_1 , é maior do que a velocidade de evaporação, F_2 , uma vez que a fase dispersa é mais rica em solvente. Assim, a fase contínua fica rapidamente saturada com o solvente, atingindo rapidamente a concentração de solvente na fase contínua (C_s) o valor de saturação. Uma vez que esta etapa é muito rápida, alguns segundos, pode ser desprezada (Li et al. 2008).

Etapa B: A quantidade de solvente evaporada é compensada pela difusão do solvente da fase contínua e assim C_s permanece constante. A duração desta fase depende da quantidade inicial da fase dispersa e da fase contínua (razão fase dispersa/fase contínua).

Etapa C: A difusividade do solvente na fase dispersa diminui com o aumento da concentração do polímero na interface (Li et al. 2008). F_1 fica menor do que F_2 , o que origina um decréscimo de C_s .

O tempo para o qual ocorre a transição entre a etapa B e a etapa C é designado por tempo crítico (t_c).

Com base nestes mecanismos, Li et al.2008, propuseram um modelo para a evaporação do solvente baseado na lei de Fick, Porém este modelo apenas prevê o perfil de evaporação para o solvente puro.

Li et al., 2007, estabeleceram ainda um modelo para a evaporação do solvente puro em sistemas a pressão reduzida, tendo concluído que o coeficiente de transferência massa entre o solvente e o ar é a soma de duas parcelas: uma correspondente à transferência entre a interface água /ar e outra correspondente à transferência entre a interface gota/água.

Katou et al., 2008 desenvolveram um modelo matemático para prever a duração da extracção do solvente e estimar o coeficiente de difusão, D_p , que tem um papel muito importante no modelo. Foi ainda estudada a influência da quantidade de solvente residual na fase de extracção, na morfologia do produto final, tendo os autores concluído que quando a concentração de solvente orgânico residual é superior a 0,2%, as microcápsulas agregam durante a filtração e secagem.

O modelo matemático foi validado com os resultados experimentais da produção de microcápsulas de PLGA.

Solidificação das microcápsulas

Durante a solidificação da gota da fase dispersa para formar uma microesfera sólida, dois fenómenos de transferência de massa têm lugar:

Difusão do solvente no interior da gota

Difusão do solvente na fronteira da fase dispersa com a fase contínua (Fig.1.8)

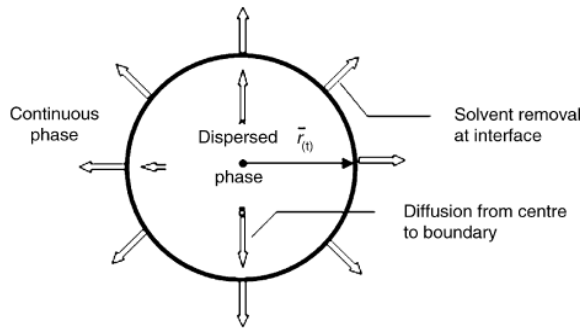


Fig.1.8- Modelo de transferência de massa para uma gota. (Fonte: Li et al. 2008).

Li et al 2008, apresentaram modelos para a solidificação das microcápsulas que envolvem:

- Equação de Fick, que descreve a difusão no interior da gota.
- Equação para as condições de fronteira que prevê a difusão do solvente na fronteira da fase dispersa para a fase contínua.
- Equação que prevê o encolhimento da gota, sendo necessário conhecer o valor do diâmetro a cada momento.

Li et al., 1995 desenvolveram um modelo matemático baseado na transferência de massa, incorporando variáveis intrínsecas tais como a interação solvente-polímero e variáveis extrínsecas tais como a razão DP/CP, a temperatura e a composição da fase dispersa, sendo esse modelo utilizado para prever as propriedades das microesferas.

Assim foram propostas equações:

- para o processo de remoção do solvente, o qual envolve a difusão do solvente para fora da fase dispersa, seguido de evaporação
- e para a solidificação das microesferas.

O modelo proposto para a solidificação das microesferas é capaz de prever:

- o solvente residual nas microesferas
- o tamanho da microesfera

- o gradiente de concentração do polímero e do solvente em diferentes zonas no interior da partícula.

O modelo foi testado na formação de microcápsulas de PLGA, podendo também ser aplicado a outros polímeros. (Li et al., 1995a.)

Wang et al., 1999, apresentaram um modelo teórico para prever a cinética da solidificação (do endurecimento) das microesferas durante a encapsulação e simultaneamente fazer a monitorização da cinética de evaporação na fase contínua. Fazendo um balanço mássico ao solvente no banho de endurecimento, o perfil de solidificação das microcápsulas foi correctamente previsto.

Estes resultados têm potencial para a formulação de microesferas e para o scale-up da produção de microesferas.

1.4 – Monitorização da formação das microcápsulas

O conhecimento dos efeitos de diferentes parâmetros e processos nas características das micropartículas é essencial para o desenvolvimento, optimização e scale-up de um processo de encapsulação. Assim é muito importante dispor de metodologias para avaliar a formação das microcápsulas.

Com a evolução da tecnologia, um grande número de técnicas e equipamentos analíticos podem hoje ser utilizados, para caracterizar as micropartículas, havendo muitos relatos descritos na literatura. Contudo, no referente à monitorização online da formação dessas micropartículas, a informação é escassa.

Zidan et al. 2010 monitorizaram online a formação das microcápsulas de PLGA, pelo método da emulsão simples óleo/água, associando as técnicas FBRM “ Focused Beam Reflectance Microscopy”, e PVM “Particle Vision Microscopy”.

Na técnica de FBRM uma sonda que usa um feixe focalizado de luz laser, é introduzida no meio reaccional, fazendo o varrimento numa trajectória circular. Quando uma partícula passa em frente à janela da sonda a luz é dispersa em todas as direcções. A luz, que bissecta a imagem da partícula, é difractada de volta para a sonda e usada para

medir um comprimento da corda. Muitos milhares de cordas são medidos por segundo, proporcionando uma medição robusta que é sensível à mudança no tamanho ou número de partículas (Zidan et al. 2010). Um dos problemas desta técnica é o do tamanho da sonda que, no mínimo, tem 10mm de diâmetro. Trata-se assim de uma técnica intrusiva.

A técnica de PVM consiste numa sonda com vídeo-microscópio de alta resolução, que fornece imagens das micropartículas e da sua estrutura durante o processo de produção (fig. 1.9).

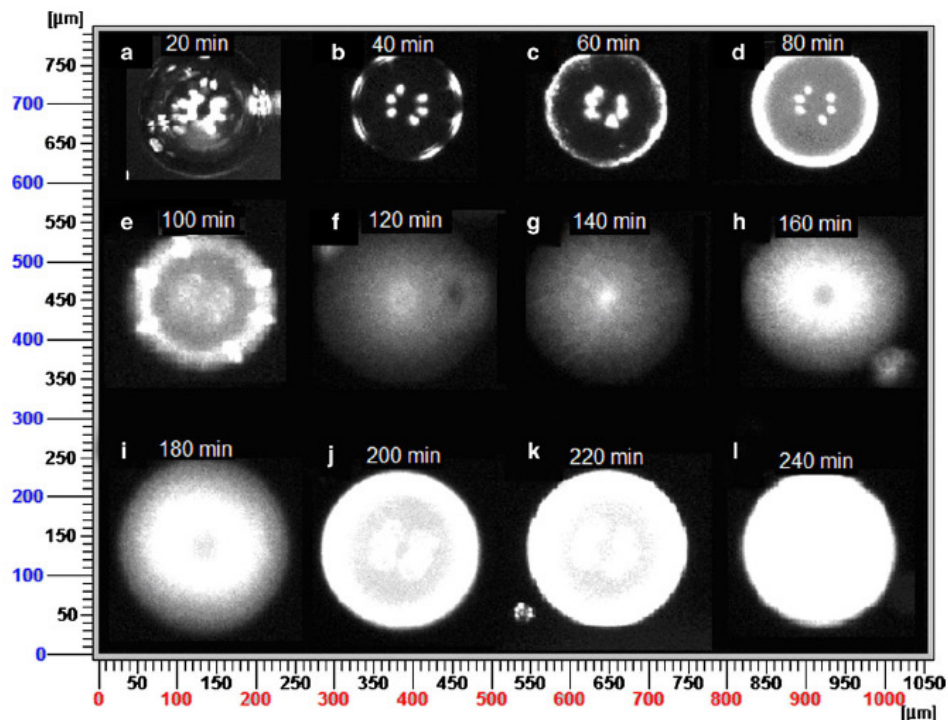


Fig.1.9- Imagens PVM tiradas durante 4h de forma a acompanhar a formação e o crescimento das microcápsulas (*fonte:* Zidan et al.2010).

Assim, inserindo as sondas FBRM e PVM no vaso da reacção, fig.1.10, de formação de partículas de PLGA, as imagens obtidas, pela técnica PVM, ajudaram a ilustrar a forma das micropartículas, mas mais importante mostraram as etapas do crescimento dessas micropartículas, durante a evaporação do solvente. A técnica FBRM, permitiu analisar a distribuição de tamanhos das micropartículas durante a sua produção.

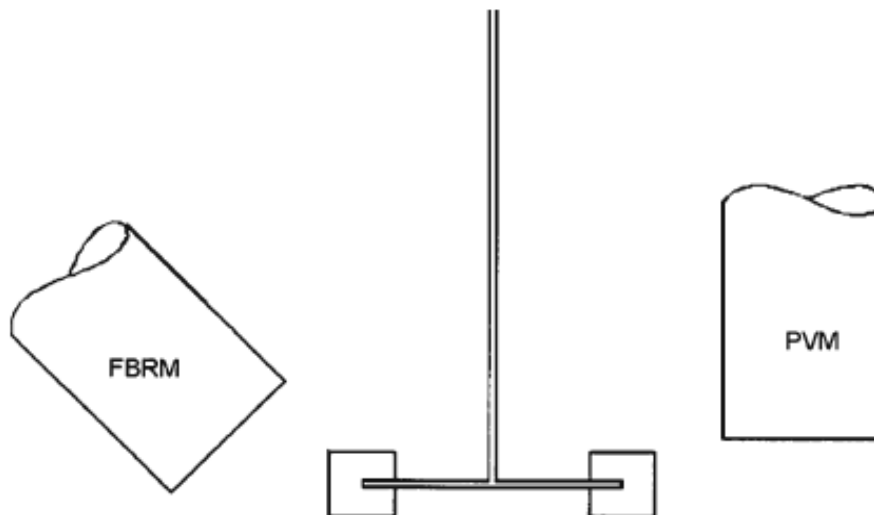


Fig.1.10- Desenho da posição das sondas relativamente ao agitador (*fonte: Zidan et al., 2010*).

Estas técnicas constituem uma poderosa ferramenta, dado que permitem a monitorização online das etapas de formação e crescimento das micropartículas durante o processo de fabrico, contribuindo desta forma para melhor entender, otimizar e controlar os sistemas de formação de micropartículas.

Wan et al., 2011 prepararam microcápsulas de poliestireno com núcleo de parafina sendo a polimerização do estireno realizada *in situ*. O processo de formação das microcápsulas foi monitorizado utilizando a técnica “confocal laser scanning fluorescence microscopy” CLSM associada a microscopia electrónica de varrimento SEM. Imagens tridimensionais são reconstruídas por CLSM, permitindo avaliar as transformações morfológicas que ocorrem no processo de polimerização para vários tempos de reação. De novo, neste caso, a técnica usada é uma técnica intrusiva, o que é sempre um inconveniente na monitorização de qualquer processo.

A empresa “Fluidimaging Technologies” monitorizou online a formação de microcápsulas por coacervação (2011) recorrendo a um equipamento de análise de imagem, FlowCAM, (site: www.fluidimaging.com).

Este equipamento (fig.1.11) permite recolher imagens digitais e informação para cada partícula individual que passa na célula de medição. O tamanho, a área, a largura, o

comprimento de cada partícula, são alguns dos parâmetros que podem ser determinados. Os dados são processados e guardados e as partículas são identificadas com recurso a um software de padrões.



Fig.1.11- Equipamento FlowCAM (*fonte: www. fluidimaging.com*).

As microcápsulas de coacervado são formadas pela combinação de dois hidrocolóides de forma a produzir uma cápsula em torno das gotículas do ingrediente activo. A amostra, mantida em agitação, foi bombeada de forma contínua diretamente do vaso de reação para o FlowCAM. As imagens foram recolhidas a cada 15 a 30 minutos ou sempre que uma alteração significativa o justificava (fig.1.12).

O software VisualSpreadsheet TM foi utilizado para realizar um reconhecimento de padrões para cada execução, a fim de quantificar o número de coacervados encontrado em cada aquisição.

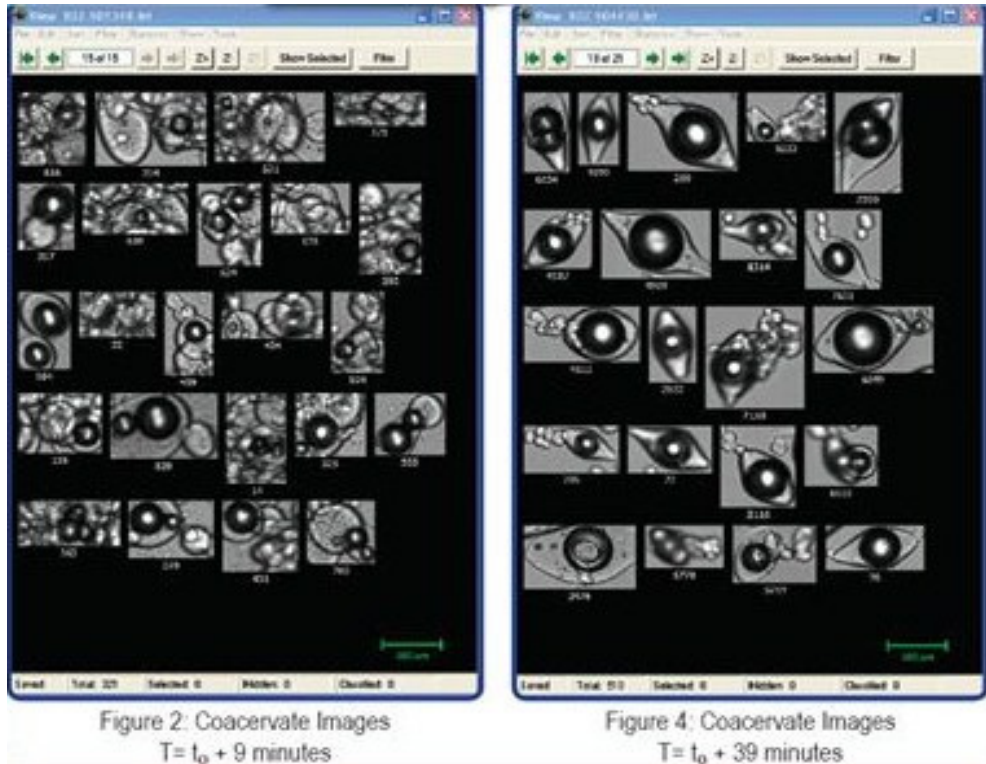


Fig.1.12-Imagens recolhidas em diferentes tempos da reação (*fonte: www. fluidimaging.com*).

A análise das imagens recolhidas para diferentes tempos, permitiu determinar o tempo óptimo para que se formem as cápsulas de coacervado sem que haja aglomeração. Assim esta técnica de monitorização permite a optimização do processo, apresentando muitas potencialidades.

1.4.1 – Monitorização de outros processos de formação de micropartículas

Outras técnicas recorrendo a métodos de análise de imagem têm vindo a ser usadas para a monitorização online de tamanhos de micropartículas.

Khalil et al., 2010 apresentam um estudo de distribuição de tamanhos de gotas durante a emulsificação, usando uma sonda vídeo acoplada a um sistema de análise de imagem.

Maaß et al., 2011, implementaram um sistema de análise de imagem através de um algoritmo que permitiu contar e medir o tamanho de partículas em sistemas multifásicos.

Ritter et al. 2000, monitorizaram online a distribuição de partículas em sistemas líquido/líquido com fração volumétrica de fase dispersa elevada (tolueno em água com fração de fase dispersa de 50% em volume), utilizando uma técnica de análise de imagem, recorrendo a um endoscópio.

A técnica da difração laser, LDS, uma técnica muito utilizada para a caracterização das microcápsulas formadas na microencapsulação (Chung et al. 2001, Stulzer et al. 2007, Mao et al. 2008, Katou et al. 2008, Scarfato et al. 2008, Dash et al. 2009, Khoee et al. 2009, Kluge et al. 2009, Della Porta et al. 2011, Mahboubian et al. 2010, Nasr et al. 2010, Kietzmann et al. 2009, Rawat et al. 2010, Alhenn et al. 2011, Elkharraz et al. 2011, Gasparini et al. 2011, Feczko et al. 2011, Martins et al. 2011), tem vindo a ser adoptada à monitorização contínua de processos de formação de partículas, nomeadamente em processos de emulsificação, de dispersão e de agregação. Porém não foram encontrados registos na literatura de monitorização online de formação de microcápsulas.

Chatzi et al. 1991 apresentaram um estudo de monitorização online da distribuição de partículas formadas em sistemas agitados, recorrendo a uma técnica de difração de luz. Neste estudo foram analisados o efeito da variação da temperatura e da velocidade de agitação na distribuição das partículas para um sistema de estireno em água a 1% estabilizado com álcool polivinílico (PVA). O sistema apresenta distribuição bimodal. Um aumento da velocidade de agitação traduziu-se numa redução do tamanho das partículas, sem afectar a sua forma ou a sua distribuição. Um aumento de temperatura traduziu-se numa redução de tamanho e num estreitamento do pico mais largo da distribuição.

Belhabri et al, 2004 apresentaram um estudo para a determinação online da distribuição de tamanhos de partículas de alumina dispersa em água recorrendo a um método de difração de luz laser, fig.1.13.

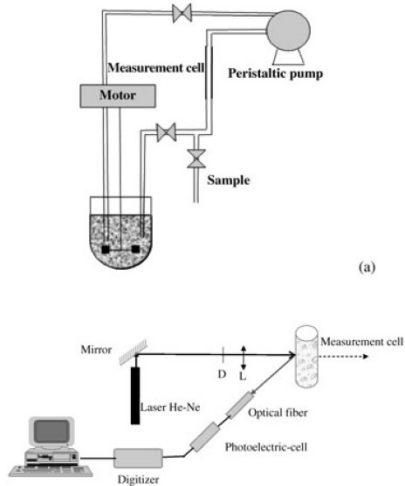


Fig.1.13- Equipamento para a monitorização online do tamanho de partículas de alumina (*fonte:* Belhabri et al, 2004).

Estudos da monitorização contínua de processos de floculação, usando LDS, mostraram que esta técnica é uma ferramenta valiosa para o estudo da dinâmica da floculação e para avaliar a influência da dosagem do floculante (Rasteiro et al. 2007).

Rasteiro et al., 2008 demonstraram que a técnica pode ser usada para monitorizar on-line o processo de floculação e refloculação quando os flocos são submetidos a forças mecânicas (sonicação) ou a quebras hidrodinâmicas.

A avaliação do desempenho de polielectrólitos na floculação do PCC (carbonato de cálcio precipitado) foi também monitorizada online usando a técnica LDS (Antunes et al., 2010).

Jager et al., 1992, utilizaram a técnica LDS, para medir online o tamanho dos cristais em suspensões concentradas (lamas). Para tal adaptaram a técnica de difração laser construindo uma unidade de diluição que foi combinada com o equipamento de difração laser, Malvern 2600, conseguindo desta forma controlar o processo de cristalização.

Ma et al, 2001 adaptaram a técnica LDS, para medir o tamanho e a forma dos cristais, formados durante um processo de cristalização, conseguindo assim controlar o processo.

1.5 – Definição das estratégias adoptadas no presente estudo.

Face à bibliografia consultada, optou-se por seleccionar como solvente o acetato de etilo e como surfactante o Tween 80.

Numa fase inicial foi estabelecido o procedimento que permitiu a produção das microcápsulas de etilcelulose com aspirina.

Esse procedimento foi de seguida adaptado ao Mastersizer Hydro 2000, equipamento de LDS, onde foi feita a monitorização da formação das microcápsulas. A monitorização foi feita para a emulsificação e para a evaporação do solvente, durante 5h de 5 em 5 min.

As microcápsulas produzidas foram posteriormente caracterizadas, tendo-se determinado o tamanho e a distribuição de tamanhos das microcápsulas, o potencial zeta, a eficiência da encapsulação, a percentagem de aspirina encapsulada e o rendimento do processo. As microcápsulas foram ainda analisadas ao microscópio.

CAPÍTULO 2 - MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS

2.1- Materiais

- Acetato de etilo, Fisher, PA.
- Ácido acetilsalicílico, Acofarma, > 99,0%.
- Ácido salicílico, Acofarma, 99,0%.
- Água destilada
- Etanol absoluto, Fisher, PA.
- Etilcelulose, Acros, 48%, 22cps.
- Tween 80 BP228-500, polyoxyethylene-20 Sorbitan MonoOleate, Fisher

2.2- Métodos experimentais

2.2.1- Método de emulsificação/evaporação do solvente

2.2.1.1- Formulação e produção das microcápsulas.

As microcápsulas foram preparadas pelo método de emulsificação/evaporação do solvente. Para tal foi preparada uma emulsão óleo/água, onde a fase oleosa, fase dispersa, é constituída pelo polímero (etilcelulose), pelo fármaco (ácido acetilsalicílico) e pelo solvente (acetato de etilo) e a fase contínua é constituída por água, saturada com acetato de etilo e previamente saturada com aspirina, e pelo surfactante (tween 80).

O procedimento de emulsificação/evaporação do solvente encontra-se descrito no ANEXO I.

Os ensaios experimentais foram efectuados com uma montagem onde se tentaram respeitar os factores: geometria do reactor (copo de 600ml), colocação de chicanas, relação entre a altura do agitador e do líquido, velocidade de agitação, etc. (ponto 1.2.2.1), que conduzem a uma boa emulsão.

Assim o copo usado, como reactor, tem um diâmetro de 8cm e a altura de líquido foi de 9cm. O agitador mecânico usado, um propeller, foi colocado a uma distância do fundo do copo de aproximadamente 3cm.

A formulação de base foi estabelecida tendo como ponto de partida um estudo de encapsulação de aspirina em etilcelulose usando como solvente o diclorometano (Yang, et al., 2000).

Assim e depois de vários testes, foi estabelecida a seguinte formulação:

fase dispersa: 4% etilcelulose (% mássica)

2% aspirina (% mássica)

23 ml de acetato etilo

fase contínua: 400ml água com 0,9 g aspirina (sat. 80%) e 28ml acetato etilo

0,5% tween 80 (%volúmica)

Uma vez que o acetato de etilo é parcialmente miscível com a água foi necessário saturar parcialmente a água com acetato de etilo, para evitar a transferência de acetato etilo da fase dispersa para a água, fase contínua, arrastando consigo a etilcelulose. A percentagem de saturação escolhida foi de 80%.

Da mesma forma, e dado que a aspirina é solúvel, embora fracamente solúvel na água, (concentração de saturação, $C_s=3\text{g/L}$), para evitar a transferência de aspirina da fase dispersa para a fase contínua, foi necessário saturar parcialmente a água, tendo-se optado, depois de vários ensaios, por uma concentração de 80% de aspirina na fase contínua.

Optou-se por efectuar pré-emulsão, que antecedeu a emulsificação, para evitar que a extracção do acetato de etilo da fase dispersa fosse muito rápida, o que conduziria a uma solidificação brusca logo a uma precipitação precoce da etilcelulose.

A fracção volumétrica da fase dispersa, ϕ_{FD} , na pré-emulsão foi de 0,4; sendo ϕ_{FD} na emulsão de 0,05.

Para obter microcápsulas pequenas a adição da fase dispersa na fase contínua, na pré-emulsão, foi feita gota a gota e com velocidade de agitação magnética, elevada. Da mesma forma, a adição da FC à pré-emulsão foi feita muito lentamente e a velocidade de agitação mecânica foi também elevada, 600 rpm.

O processo desde a preparação das fases dispersa e contínua, até à evaporação, foi mantido a uma temperatura constante de 25°C. Após a emulsificação, elevou-se a temperatura para 50°C, durante 2h, até o acetato de etilo evaporar. Para determinar o tempo que o acetato de etilo demora a evaporar foi feito um ensaio no qual foram retiradas amostras de emulsão de 30 em 30 minutos e, após extracção com diclorometano, foi feito o doseamento por cromatografia gasosa. Para as condições usadas o tempo necessário foi de 2h.

As microcápsulas foram recolhidas por filtração em vácuo, lavadas com água destilada para eliminar todo o surfactante e secas em estufa a 50°C, durante 24h, sendo guardadas em exsiccador.

2.2.1.2- Monitorização da formação das microcápsulas

A monitorização da formação das microcápsulas foi feita usando a técnica de difração laser. Esta técnica é baseada na passagem de um feixe de luz monocromática, luz laser, através de um meio contendo partículas, as quais promovem a dispersão do feixe luminoso cuja intensidade e ângulo de dispersão estão relacionadas com o tamanho das partículas. Para partículas esféricas, quanto menor o tamanho das partículas presentes no meio, maior será o ângulo de difração da luz, conforme ilustrado na fig.2.1a) e quanto maior o tamanho das partículas, menor será o ângulo de difração fig.2.1b). A luz dispersa é analisada através de um fotomultiplicador ou, mais recentemente, de fotodíodos.

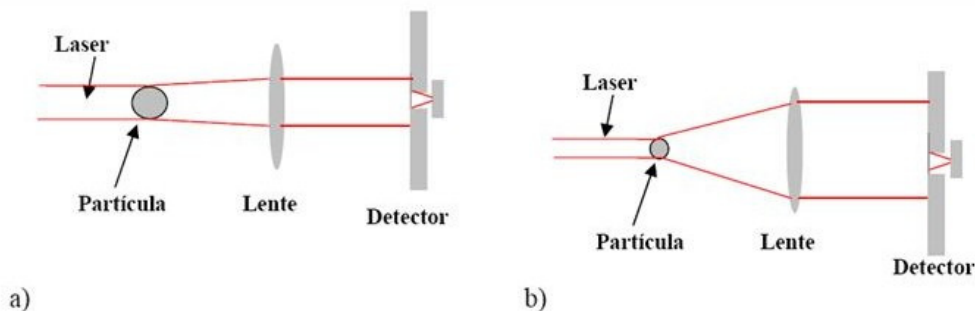


Fig.2.1- Difração do feixe de luz: a) partículas maiores, b) partículas menores. (fonte: Cunha, 2007).

A dispersão da luz é um fenómeno complexo e influenciado por vários factores, tais como o comprimento de onda da luz incidente, as propriedades ópticas das partículas e do meio dispersante (índices de refacção), a rugosidade e superfície dessas partículas e ainda pela concentração de partículas a analisar, (Cunha, 2007). Uma concentração de partículas elevada origina dispersão múltipla da luz, conduzindo a resultados mais difíceis de analisar (Papini, 2003). Assim, a concentração limite é determinada pelo projecto do instrumento e varia dependendo da natureza da fonte da luz incidente, geometria óptica e sistema de detecção de luz.

Um sistema típico para a caracterização da distribuição do tamanho de partículas por difracção laser é ilustrado na fig.2.2, sendo composto por um laser, que fornece a luz de comprimento de onda fixo; por um sistema de detectores que medem o padrão de luz produzido numa ampla gama de ângulos; e por um sistema de alimentação da amostra, que garanta que a amostra passa através do feixe de luz laser como um fluxo homogéneo e bem disperso de partículas.

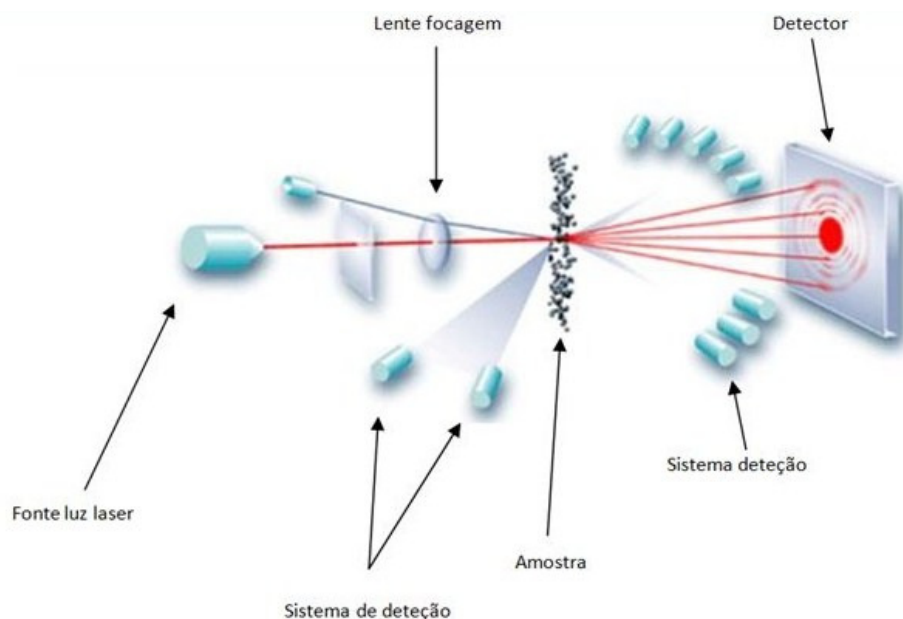


Fig.2.2- Representação esquemática de um equipamento para a determinação do tamanho da partícula, por difracção laser (fonte: www.malvern.com)

Estes equipamentos possuem detectores posicionados em ângulos distintos para monitorizar a intensidade da luz dispersa. Este sinal é convertido em curvas de

distribuição de tamanho de partícula através de modelos adequados, com destaque para as teorias de Mie e Fraunhofer (Cunha, 2007).

A teoria de Fraunhofer é considerada como um caso especial da teoria de Mie, não tomando em consideração o índice de refração das partículas. Nesta teoria é assumido que as partículas que estão a ser medidas são opacas e que a luz dispersa é apenas devida à interferência do feixe de luz laser com o contorno da partícula. Como resultado, esta teoria apenas é aplicável para partículas grandes e com uma relação índice de refração sólido/líquido elevada, dando estimativas pouco precisas para partículas pequenas (Antunes, 2009).

A teoria de Mie consegue prever tamanhos para todas as partículas: grandes ou pequenas, opacas ou transparentes; dando uma solução mais rigorosa para o cálculo da distribuição de tamanhos. É assumido que:

- as partículas a medir são esféricas e homogéneas.
- a suspensão é diluída não havendo dispersão múltipla.
- as propriedades óticas das partículas e do meio são conhecidas.

Assim esta teoria prevê a resposta primária da dispersão observada a partir da superfície da partícula, onde a intensidade da luz dispersa é corrigida com base na diferença entre os índices de refração da partícula e do meio de dispersão. Prevê, ainda como a absorção da luz incidente pela partícula afecta o sinal de dispersão secundária causado pela refração da luz dentro da partícula - isto é especialmente importante para partículas abaixo de 50 micra de diâmetro e é extremamente importante quando a partícula é transparente, como indicado na norma internacional para medição por difração de raios laser, ISO13320-1 (1999) Antunes et al, 2009.

Os resultados da distribuição de tamanhos disponibilizados pelo equipamento incluem parâmetros estatísticos da curva de distribuição de tamanhos, tais como:

- $d(3,2)$ diâmetro médio de Sauter (diâmetro de uma partícula que tem a mesma relação volume área superficial que a média de todas as partículas em análise),
- $d(4,3)$ diâmetro médio volumétrico,
- $d(10)$ diâmetro abaixo do qual se encontra 10% do volume total das partículas,
- $d(50)$ diâmetro abaixo do qual se encontra 50% do volume total das partículas,
- $d(90)$ diâmetro abaixo do qual se encontra 90% do volume total das partículas.

- span ou largura da distribuição, dada por:

$$Span = \frac{D_{v0.9} - D_{v0.1}}{D_{v0.5}}$$

Estes parâmetros permitem a interpretação e análise dos resultados obtidos para as diferentes situações em estudo.

O equipamento utilizado no presente trabalho foi o Mastersizer Hydro2000, com unidade de dispersão da amostra (acessório Hydro 2000MU) que assegura que as partículas são entregues à área de medição na concentração correcta e num estado de dispersão adequado, fig.2.3. Possui capacidade para caracterização de tamanhos no intervalo de 0,02 a 2000 micra (www.malvern.com).

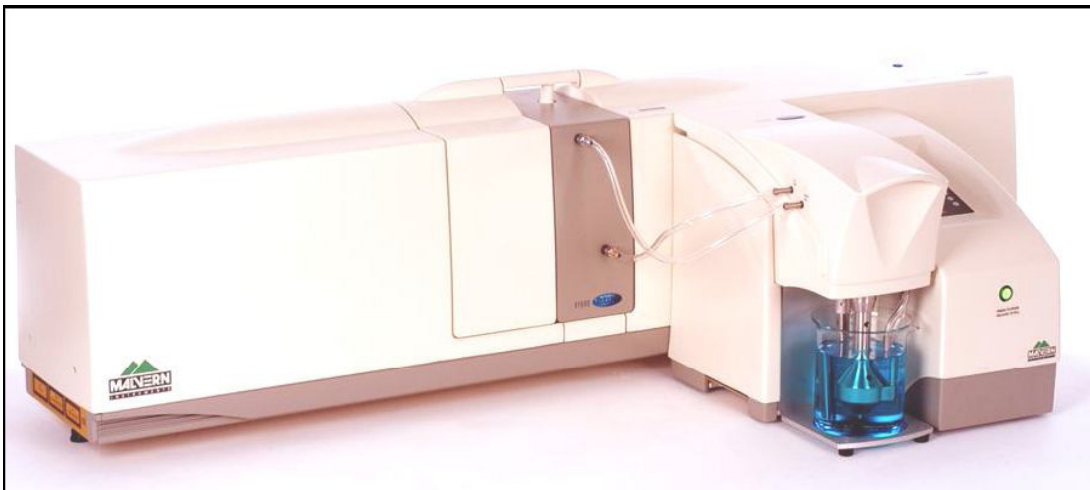


Fig.2.3- Mastersizer Hydro2000 com acessório Hydro 2000MU (fonte: Oliveira, 2010).

Dado que o volume mínimo de operação nestas condições é de cerca de 500ml a preparação das fases contínua e dispersa e a pré-emulsão foram feitas fora do equipamento de acordo com o descrito em 2.2.1.1. Imediatamente após a adição da restante FC à pré-emulsão, iniciou-se a aquisição dos tamanhos das gotas/partículas no Mastersizer Hydro 2000. As aquisições foram feitas de 5 em 5 minutos durante 5 horas. O tempo de emulsificação, a 25°C, foi de 15 minutos. A temperatura de evaporação foi de 50°C.

O alinhamento do equipamento foi feito com uma solução saturada em aspirina a 80%.

O índice de refração da água fornecido foi de 1,33 e o da etilcelulose foi 1,45, por forma a permitir o tratamento do sinal adquirido com base na teoria de Mie.

Para fazer a monitorização foi ainda necessário fazer algumas adaptações ao procedimento descrito em 2.2.1.1.

- Pelos motivos anteriormente expostos o volume de FC foi aumentado.
- Uma vez que uma concentração de partículas elevada origina dispersão múltipla da luz, conduzindo a resultados errados, foi necessário diluir a emulsão, usando-se um ϕ_{FD} de 0,02 para a emulsão. Na pré-emulsão foi mantido o ϕ_{FD} de 0,4.
- A percentagem de saturação em acetato de etilo na FC foi de 90%, dado que experimentalmente verificou-se que nas condições hidrodinâmicas do equipamento, com 80% de saturação não se formavam partículas.
- A quantidade de surfactante, Tween80, usada foi de 4,32ml (0,8%, % volúmica).
- Para aquecer e controlar a temperatura de evaporação, utilizou-se um banho térmico, colocando o copo do LDS dentro de um banho com temperatura controlada, de acordo com o ilustrado na fig. 2.4.



Fig.2.4- Mastersizer Hydro2000 com acessório Hydro 2000MU, utilizado no presente estudo.

O procedimento de produção de microcápsulas por emulsificação/evaporação do solvente com monitorização por LDS, encontra-se descrito no ANEXO II.

2.2.2 – Métodos analíticos de caracterização das microcápsulas

Antes de proceder à análise das microcápsulas obtidas no processo de emulsificação/evaporação do solvente, foi necessário proceder à sua divisão em fracções de amostra representativas. Essa divisão foi feita no equipamento, Rotary Micro Riffler, existente no Instituto Pedro Nunes, sendo cada amostra dividida em 8 fracções idênticas.

2.2.2.1 – Determinação da eficiência de encapsulação

A eficiência da encapsulação foi definida como:

Eficiência de encapsulação, (%) = (Massa de aspirina encapsulada) / (Massa de aspirina inicial) x 100

Foram ainda definidos os parâmetros, % aspirina encapsulada e rendimento do processo.

Aspirina encapsulada, (%) = (massa de aspirina encapsulada) / (massa total de microcápsulas no final) x 100

Eficiência global (rendimento), % = (massa microcápsulas) / (massa inicial de aspirina + massa inicial de polímero) x 100

A quantidade de aspirina encapsulada foi determinada por espectrofotometria de UV-VIS.

Método de UV-VIS

Uma fracção das microcápsulas produzidas foi dissolvida em etanol durante 2h e de seguida foi medida a absorvância no espectrofotómetro de UV/Vis a 275nm (correspondente ao máximo para o ácido acetilsalicílico) e a 302nm (máximo para o ácido salicílico). Estes valores de comprimento de onda mais adequado para os testes foram determinados previamente, com soluções puras de cada um dos compostos.

Foram ainda preparados padrões com etilcelulose em etanol a fim de verificar possíveis interferências da etilcelulose, o que não se verificou.

Para quantificar a aspirina, e dado que o ácido acetilsalicílico, AAS sofre hidrólise originando o ácido salicílico, AS de acordo com a reacção fig.1.2 ponto 1.2.1.1, foram feitas duas calibrações: uma com padrões de AAS em etanol e outra com padrões de AS em etanol (Iwunze, 2008).

Estes dois compostos têm espectros de absorção de UV diferentes, podendo ser analisados simultaneamente através da medição da absorvância da solução nos dois comprimentos de onda e resolvendo o sistema de duas equações. Assim a absorvância total da solução da amostra a cada comprimento de onda é devida à soma das contribuições dos dois componentes de acordo com a propriedade da aditividade da Lei de Beer (Santos et al. 2010).

Desta forma, e considerando A_{275} e A_{302} as absorvâncias nos dois comprimentos de onda, pode escrever-se:

$$A_{275} = d_{AAS,275} C_{AAS} + d_{AS,275} C_{AS}$$

$$A_{302} = d_{AAS,302} C_{AAS} + d_{AS,302} C_{AS}$$

onde d são as quatro absorvidades dos dois componentes nos dois comprimentos de onda e C as concentrações dos dois componentes.

Traçando as curvas de calibração para o AAS e AS para 275nm e 302nm, respectivamente, ver anexo IV, verificou-se que $d_{AAS,302}$ é desprezável dado os baixos valores de absorvância obtidos para esse comprimento de onda, podendo o sistema de equações ser simplificado:

$$A_{275} = d_{AAS,275} C_{AAS} + d_{AS,275} C_{AS} \quad (\text{eq.1})$$

$$A_{302} = d_{AS,302} C_{AS} \quad (\text{eq.2})$$

A resolução deste sistema de equações permite determinar as concentrações de AAS e de AS. A concentração de aspirina total na amostra é determinada convertendo a concentração de AS em concentração de AAS, atendendo à estequiometria da reacção

de hidrólise do AAS (fig.1.2) e somando o valor resultante desta conversão com o valor de C_{AAS} obtido da resolução do sistema.

O Procedimento de análise da aspirina por espectrofotometria UV-VIS encontra-se descrito no ANEXO III, e os resultados das calibrações encontram-se no ANEXO IV.

Sabendo a concentração de aspirina e o volume de amostra utilizado é possível determinar a massa de aspirina na amostra dissolvida. Sabendo a massa final das microcápsulas, por pesagem, é possível determinar a aspirina encapsulada e a eficiência de encapsulação.

2.2.2.2 – Medição do Potencial Zeta

As micropartículas em contacto com a água adquirem uma carga eléctrica superficial. Esta carga superficial afecta a distribuição de iões da solução na sua vizinhança, que por sua vez vai levar ao aumento de contra-íões à sua volta, formando desta forma uma camada eléctrica dupla (Fig.2.5). Esta camada é composta por uma região interna em que os iões se encontram ligados fortemente à superfície e uma região externa variável, dependente da concentração dos iões, das forças electrostáticas e da temperatura. O potencial nesta camada exterior decresce com o afastamento da partícula até atingir o valor nulo (potencial zero).

Ao aplicar um campo eléctrico as micropartículas e a camada interna vão mover-se em unísono, causando um arrastamento da camada externa. A interface entre a camada interna e externa vai sofrer forças contrárias levando ao rompimento das ligações. À região em que este fenómeno ocorre dá-se o nome de plano de quebra. O potencial zeta pode ser definido como a diferença de potencial eléctrico entre o plano de quebra e um ponto no fluido da suspensão a uma distância infinita da partícula (Fig.2.5).

Ao aplicar um campo eléctrico as partículas vão migrar em direcção ao eléctrodo contrário à sua carga, com uma velocidade proporcional à magnitude do seu potencial zeta. Ou seja, através da medida da mobilidade electroforética é possível determinar o potencial zeta das partículas, isto é, dá-nos uma medida das cargas superficiais da amostra.

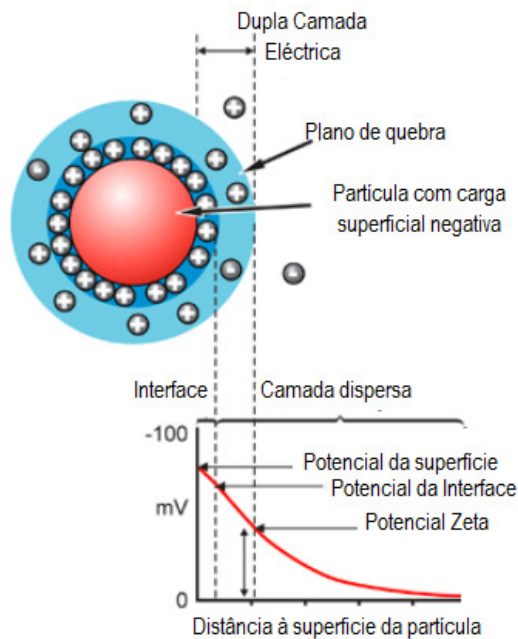


Fig.2.5- Esquema exemplificativo Potencial Zeta (fonte: Pereira, 2010).

Esta determinação dá uma ideia sobre a estabilidade das partículas em suspensão. Assim, se todas as partículas em suspensão têm um valor de potencial zeta muito negativo ou muito positivo, elas tendem a repelir-se mutuamente e não há tendência a agregarem. No entanto, se as partículas têm valores potenciais zeta baixos, elas irão agregar. Partículas com potenciais zeta mais positivos do que 30 mV ou mais negativos do que de -30mV são normalmente consideradas estáveis.

O potencial zeta das microcápsulas formadas foi determinado no Zetasizer Nano-Zs, Malvern, que utiliza uma técnica de “laser doppler” para detectar o movimento das partículas. Para tal, a uma das fracções de amostra adicionaram-se 9 gotas de Tween 80, a 5% (v/v), e 50ml de água. Com vista a preparar uma suspensão das partículas perfeitamente desaglomeradas, a suspensão foi agitada durante 10 minutos e de seguida foi medido o potencial zeta.

2.2.2.3 – Determinação do tamanho e distribuição de tamanhos das partículas

Microscopia

a) Microscopia óptica

Nesta técnica as partículas são observadas directamente, avaliando-se a forma e a dimensão dessas partículas através da sua imagem bidimensional. Apesar de nos últimos anos a microscopia estar a ser substituída por técnicas automáticas mais avançadas e rápidas, ela ainda permanece como técnica de referência devido às suas capacidades e facilidades, tais como (Santos, 2001):

- fornecer informações sobre tamanho, forma, cor, índice de refração, cristalografia;
- a quantidade de amostra necessária para análise é pequena;
- a observação directa das partículas dá um certo grau de credibilidade e confiança aos resultados;
- a observação directa permite ao analista obter ou deduzir informações sobre a presença de aglomerados, corpos defeituosos ou outras indicações de falta de homogeneidade;
- baixo custo do equipamento comparado ao de outros tipos de equipamentos destinados à mesma finalidade.

Uma das maiores desvantagens da análise de tamanhos por microscopia reside no facto de, em cada análise, apenas se considerar uma quantidade muito pequena de amostra, o que faz aumentar o desvio padrão das medições.

As medições podem ser efectuadas manualmente, ou automaticamente utilizando equipamento de processamento de imagem. Existe software dedicado que viabiliza a fácil determinação das dimensões, designadamente dos eixos maior e menor (fig.2.6), bem como do diâmetro de Feret (comprimento do eixo que liga os pontos mais afastados do perímetro da partícula), do diâmetro de Martin (comprimento do eixo que divide a partícula em duas metades com áreas iguais), do diâmetro de Crofton (diâmetro médio de eixos aleatórios), do diâmetro equivalente (diâmetro do círculo com a mesma área projectada da partícula), etc.

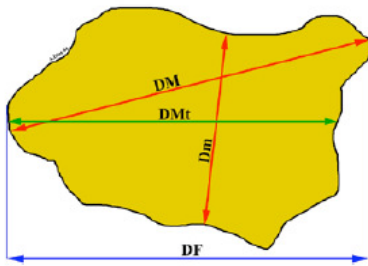


Fig.2.6- Alguns dos diâmetros que se podem definir na projecção bidimensional da partícula: DM – diâmetro maior; Dm – diâmetro menor, DMt – diâmetro de Martin; DF – diâmetro de Feret. (fonte: Dias, 2004)

O cuidado na preparação da amostra destinada à medição de tamanho é uma das recomendações mais importantes. As partículas devem ser representativas da população da qual elas são obtidas e devem estar dispersas uniforme e aleatoriamente sobre a lâmina de microscópio, sem preferência de tamanho ou forma.

No presente trabalho foi utilizado o microscópio óptico, OLYMPUS BH-2, para avaliar a forma e a possível aglomeração das partículas. Este microscópio está acoplado a um sistema de análise de imagem “Analysis S”. O tamanho foi um dado indicativo, uma vez que a sua determinação foi feita por LDS.

Assim, para cada amostra prepararam-se suspensões adicionando a uma das fracções de amostra, 9 gotas de Tween 80, a 5% (v/v), e 50ml de água. As suspensões foram agitadas durante 10 minutos. Retiraram-se gotas das suspensões preparadas e colocaram-se em lâminas de vidro cobertas com lamela, tendo sido fotografadas com diferentes ampliações :40x, 100x, 200x e 400x.

b) Microscopia eletrónica de varrimento, SEM

Esta técnica é uma ferramenta poderosa na observação de partículas, uma vez que fornece imagens tridimensionais das amostras. Assim, podem ser observados com clareza detalhes de superfície, contaminações, impurezas, forma e textura das partículas.

As principais desvantagens da microscopia eletrónica são o alto custo do equipamento, o custo e complexidade de operação e manutenção e o alto nível de experiência do

operador. A preparação das amostras pode também, por vezes, alterar as características das partículas.

As análises de SEM, foram efectuadas no Departamento de Engenharia Mecânica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Difracção Laser, LDS

A análise do tamanho e da distribuição de tamanhos foi feita por difracção laser, usando o Mastersizer Hydro 2000, Malvern Instruments, já descrito anteriormente.

As amostras foram preparadas, pesando duas fracções de amostra, adicionando 10ml de água e 3 gotas de tween80 a 5% (v/v). A suspensão, foi agitada durante 10 min, adicionada no copo do LDS e medidos os tamanhos das partículas. De seguida a amostra foi submetida a ultrassons (15Kz durante 30segundos) no próprio equipamento de medida, medindo-se novamente os tamanhos das partículas.

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS

3.1- RESULTADOS - Produção das microcápsulas pelo método de emulsificação /evaporação do solvente

A título de exemplo, apresentam-se de seguida os resultados obtidos em dois testes realizados de acordo com o procedimento de emulsificação/evaporação de solvente que se encontra no Anexo I, os quais diferem na quantidade de aspirina usada para saturar a fase contínua. No teste 19 a percentagem de saturação usada foi de 80% (0,9g de aspirina), e no teste 20 foi de 100% (1,2g de aspirina). Como o objectivo deste trabalho se centrou no processo de monitorização da formação das microcápsulas, não serão aqui apresentados todos os testes conduzidos no reactor externo.

Apresentam-se também os resultados para um teste, designado por teste 2, realizado com uma fracção volumétrica de fase dispersa, ϕ_{FD} , de 0,02 (inferior à usada nos testes 19 e 20) com percentagem de saturação para a aspirina de 80% e com uma percentagem de saturação para o acetato de etilo de 90%. Este teste foi realizado com o objectivo de trabalhar com a mesma concentração de fase dispersa que o equipamento de LDS permite, sem que se verifique dispersão múltipla.

3.1.1 – Eficiência da encapsulação, rendimento do processo e aspirina encapsulada.

Na tabela 3.1 estão registadas para cada um dos testes as quantidades de etilcelulose e de aspirina pesadas no início, a quantidade de microcápsulas obtidas e ainda o rendimento do processo (R), a eficiência de encapsulação (E.E.) e a percentagem de aspirina encapsulada (aspirina), de acordo com o definido em 2.2.2.1.

A eficiência de encapsulação foi determinada de acordo com o procedimento de análise da aspirina por espectrofotometria de UV-Vis (Anexo III), usando as curvas de calibração do Anexo IV. Os cálculos encontram-se no Anexo V.

Comparando os testes 19 e 20, pode verificar-se que embora o rendimento do processo seja praticamente idêntico em ambos os testes, a eficiência da encapsulação obtida para o teste 20 é superior obtida para o teste 19. O mesmo pode ser observado para a percentagem de aspirina encapsulada. Tal seria de esperar atendendo à existência de

uma maior saturação de aspirina na fase contínua, no teste 20, o que deverá minimizar a eventual transferência da fase dispersa para a fase contínua.

Tabela 3.1- Resultados do rendimento, encapsulação da aspirina num reactor externo

Teste	m _{etilcelulose} (g)	m _{aspirina} (g)	microcápsulas(g)	R(%)	E.E.(%)	aspirina(%)
19	0,8806	0,4419	0,9578	72,4	13,3	6,2
20	0,8839	0,4403	0,9655	72,9	16,6	7,6
2	0,3415	0,1721	0,2798	54,5	8,5	5,2

3.1.2 – Determinação do Potencial Zeta das microcápsulas

O potencial zeta foi determinado de acordo com o descrito em 2.2.2.2. Os valores médios estão registados na tabela 3.2, e os gráficos encontram-se no ANEXO VII.

Foram ainda determinados o potencial zeta da etilcelulose e da aspirina apresentando a etilcelulose um valor de -41,7 mV e a aspirina um valor de 2,1 mV. Os gráficos constam do ANEXO VII.

Quando juntamos aspirina ao sistema, o potencial zeta das cápsulas fica mais próximo de zero, ou seja do potencial zeta da aspirina, o que indica que a superfície das partículas deverá ser constituída por uma mistura etilcelulose/aspirina.

O teste 20 apresenta um potencial zeta menos negativo do que o teste 19, uma vez que a percentagem de saturação da aspirina no teste 19 foi de 80% e no teste 20 foi de 100%, o que conduz a uma maior quantidade relativa de aspirina nas cápsulas neste teste.

3.1.3 – Tamanho e distribuição de tamanhos das microcápsulas

A distribuição de tamanhos foi determinada de acordo com o descrito em 2.2.2.4, usando uma velocidade de rotação de 1600 r.p.m, e submetendo depois a amostra a ultrassons 15KHz durante 30segundos. Os resultados estão registados na tabela 3.2 e os gráficos encontram-se no ANEXO VIII.

Tabela3.2 - Resultados da caracterização das microcápsulas (potencial zeta e distribuição de tamanhos) para os testes 19, 20 e 2.

Teste	Potencial zeta (mV)	Tamanho (μm) sem ultra-sons			Tamanho (μm) com ultra-sons		
		d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀	d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀
19	-13,0	82,687	123,511	194,014	82,618	127,083	182,056
20	-9,8	70,397	119,995	205,058	67,292	110,497	183,315
2	-9,2	86,692	138,189	243,813	86,189	139,444	244,219

No teste 20 foram obtidas partículas um pouco mais pequenas do que as obtidas no teste 19. Aparentemente, a presença de aspirina na superfície das microcápsulas conduz a uma maior compactação da superfície e conseqüentemente a uma dimensão um pouco menor, fenómeno que carece de investigação adicional.

Da análise da tabela 3.2, pode verificar-se que a utilização de ultra-sons não tem grande efeito nos resultados.

3.1.4 – Microscopia

TESTE 19 e TESTE 20

As amostras foram preparadas e analisadas de acordo com o descrito em 2.2.2.3. (fig.3.1 e fig.3.2).

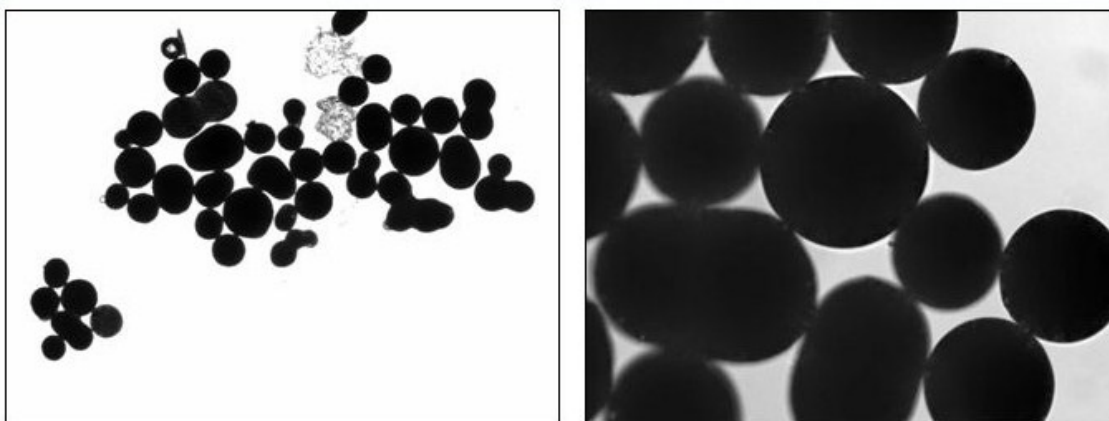


Fig.3.1- Microcápsulas produzidas no teste 19 (ampliação: foto esquerda-40x; foto direita-200x).

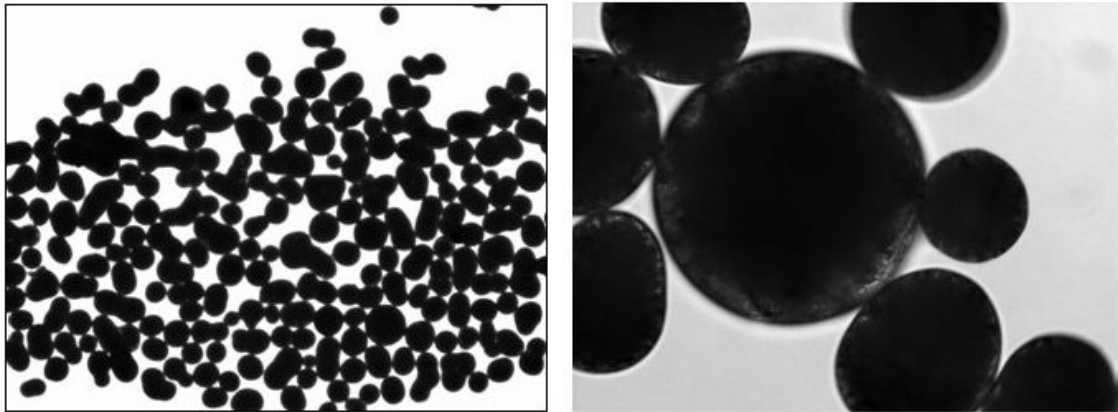


Fig.3.2- Microcápsulas produzidas no teste 20 (ampliação: foto esquerda-40x; foto direita-200x).

As micropartículas dos testes 19 e 20 foram também analisadas por SEM, figs.3.3 e 3.4. As microcápsulas produzidas no teste 19 foram cortadas e analisadas novamente, fig.3.5, o que permite visualizar a sua estrutura interior.

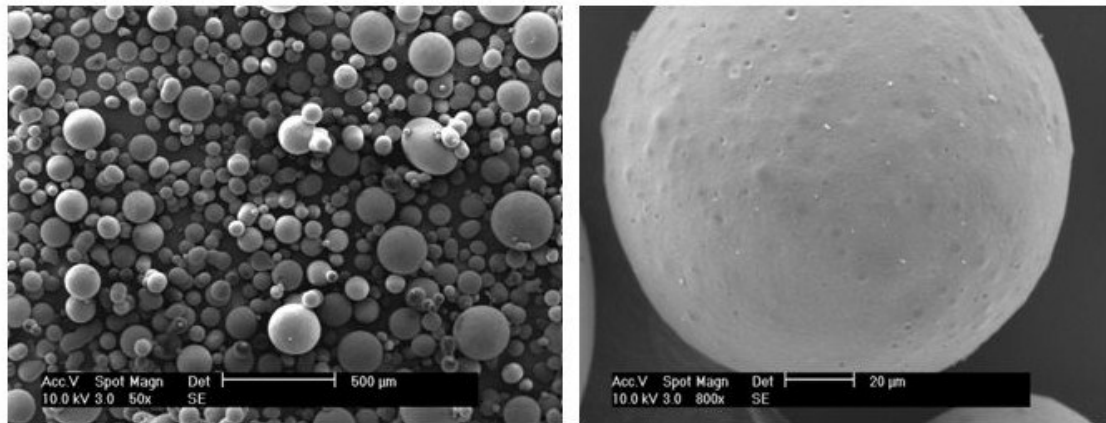


Fig.3.3- Imagens SEM das microcápsulas produzidas no teste 19.

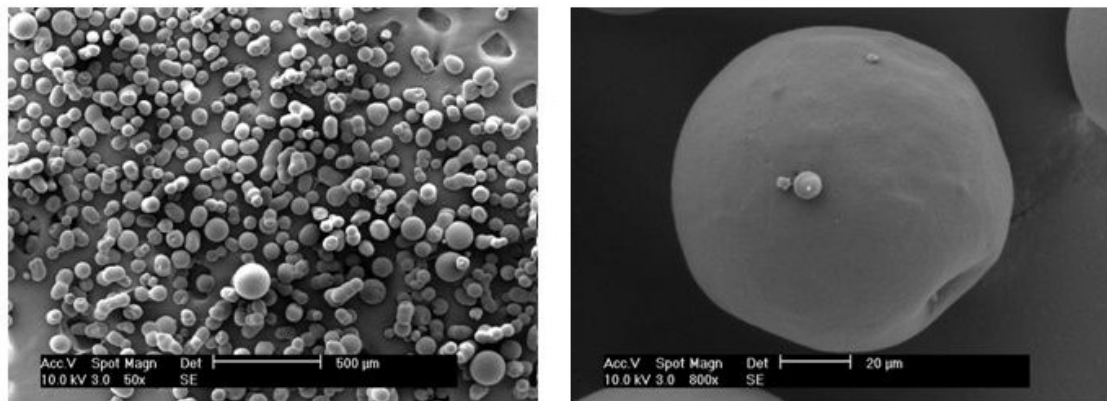


Fig.3.4- Imagens SEM das microcápsulas produzidas no teste 20.

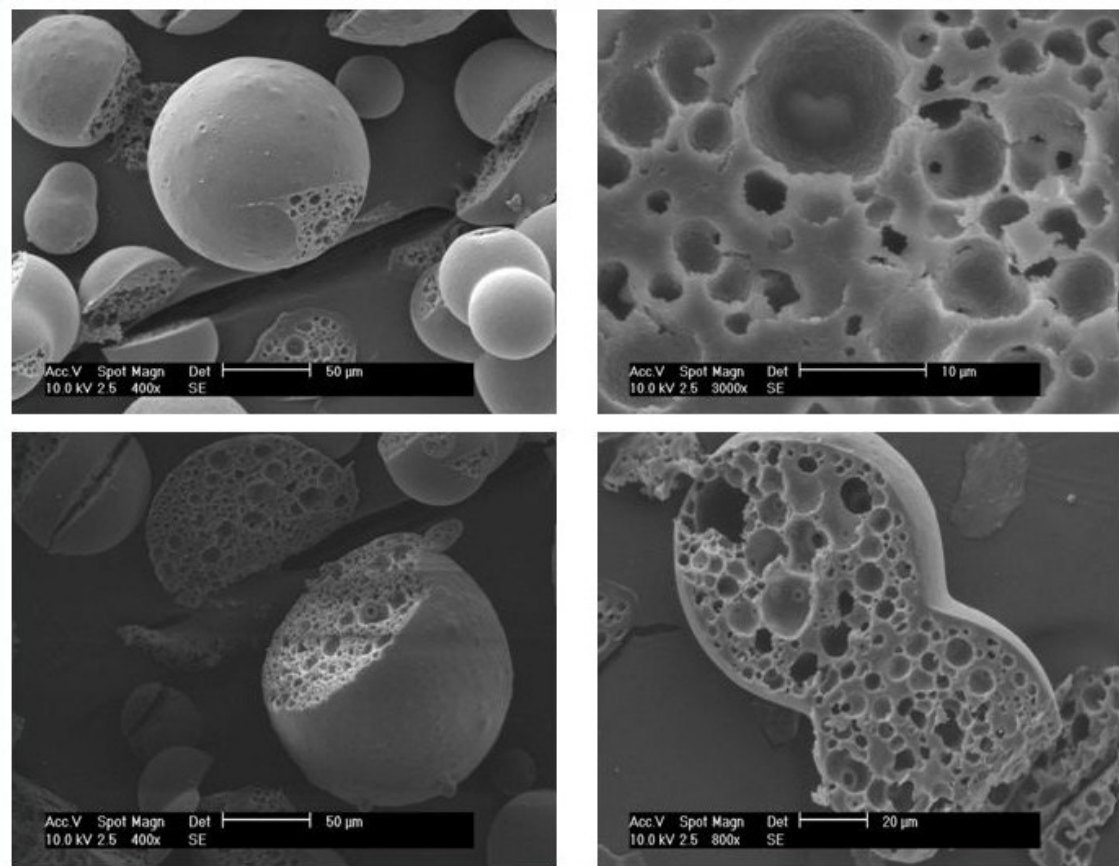


Fig.3.5- Imagens de SEM das microcápsulas produzidas no teste 19 depois de cortadas.

As microcápsulas produzidas são pequenas apresentando um interior esponjoso. Por outro lado, de um modo geral, as microcápsulas produzidas nos testes 19 e 20 são esféricas e bem formadas, embora as imagens de SEM indiquem algumas irregularidades na superfície. Verifica-se ainda, comparando as imagens da esquerda das figuras 3.1 e 3.2, uma maior aglomeração das partículas no teste 20, o que é compatível com o valor do potencial zeta mais próximo de zero para as microcápsulas produzidas neste teste.

TESTE 2

Na fig.3.6 estão representadas imagens, obtidas ao microscópio, das microcápsulas produzidas no teste 2 (realizado com uma fracção volumétrica de fase dispersa, ϕ_{FD} , de 0,02, com percentagem de saturação para a aspirina de 80% e com uma percentagem de saturação para o acetato de etilo de 90%) com diferentes ampliações, podendo verificar-se que as partículas são pequenas e esféricas, embora algumas se encontrem rebentadas.

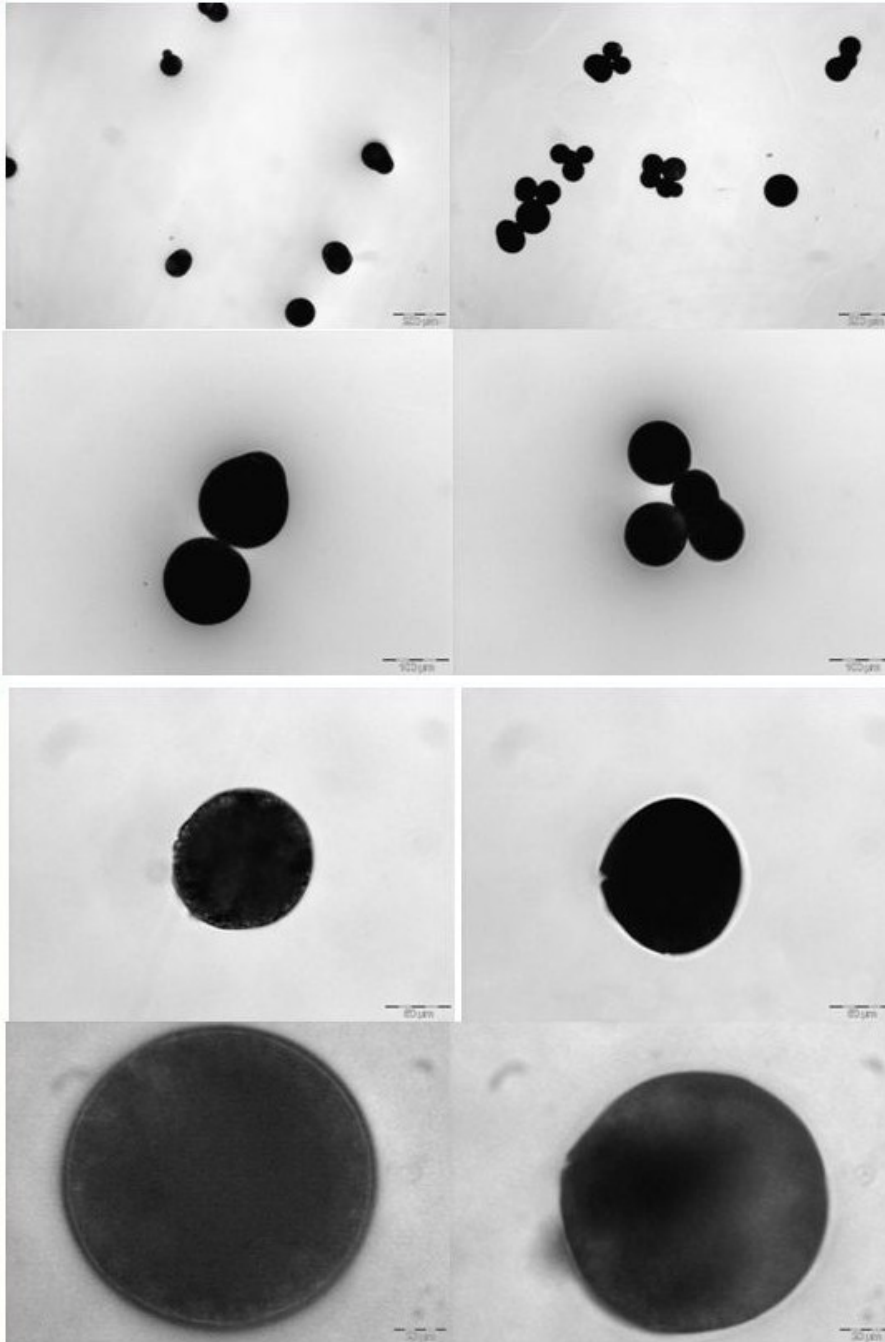


Fig.3.6- Imagens obtidas ao microscópio das microcápsulas formadas no teste 2 (escalas: 200 μm ; 100 μm ; 50 μm e 20 μm)

Para o teste 2 foram ainda recolhidas amostras ao longo do processo tendo estas amostras sido observadas ao microscópio

- Início da emulsão, fig.3.7
- Início da rampa de aquecimento, fig.3.8
- Evaporação, fig.3.9
- Antes de filtrar, fig.3.10

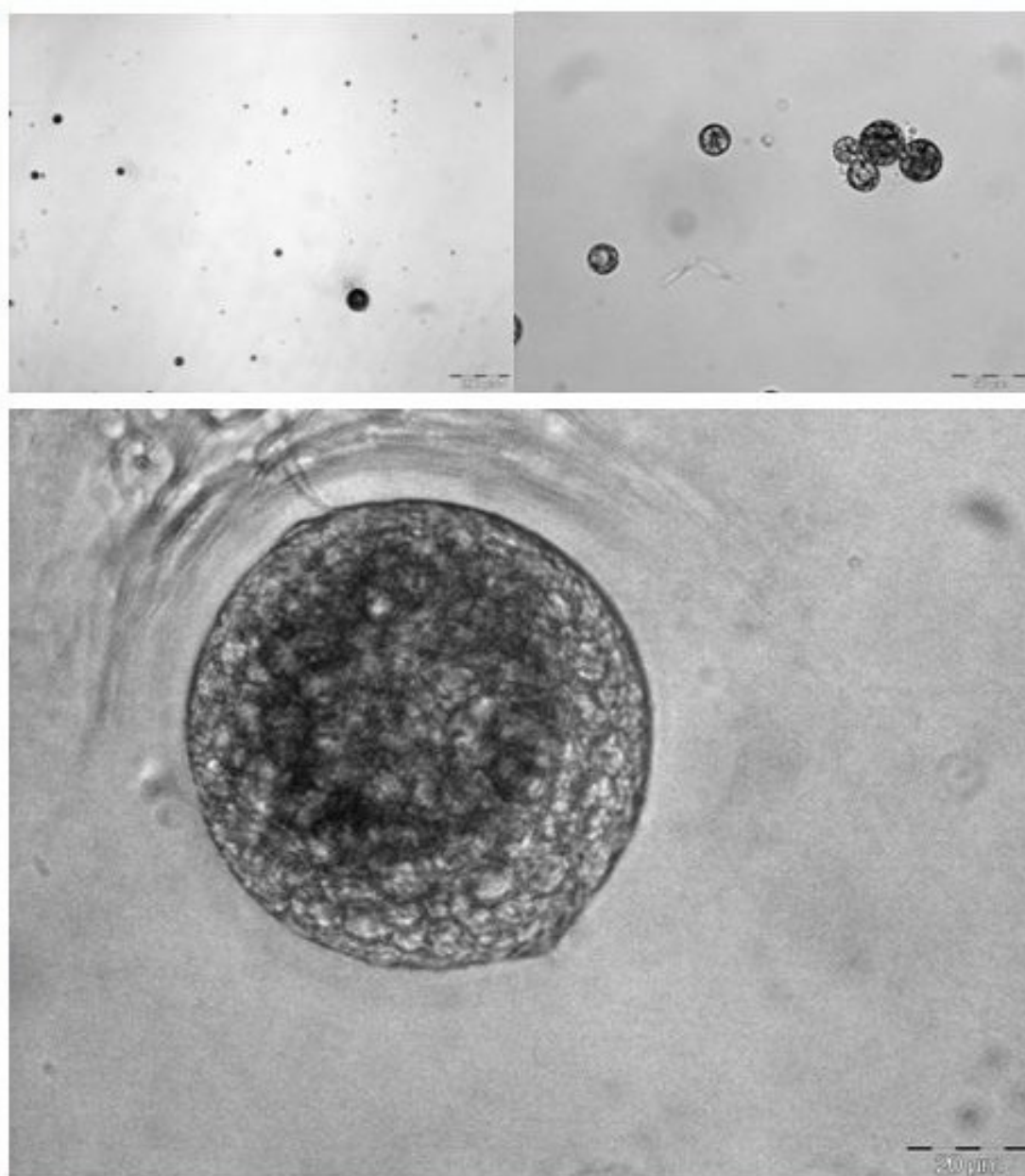


Fig.3.7- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no início da emulsão, teste 2 (escalas: 200 μ m e 20 μ m).

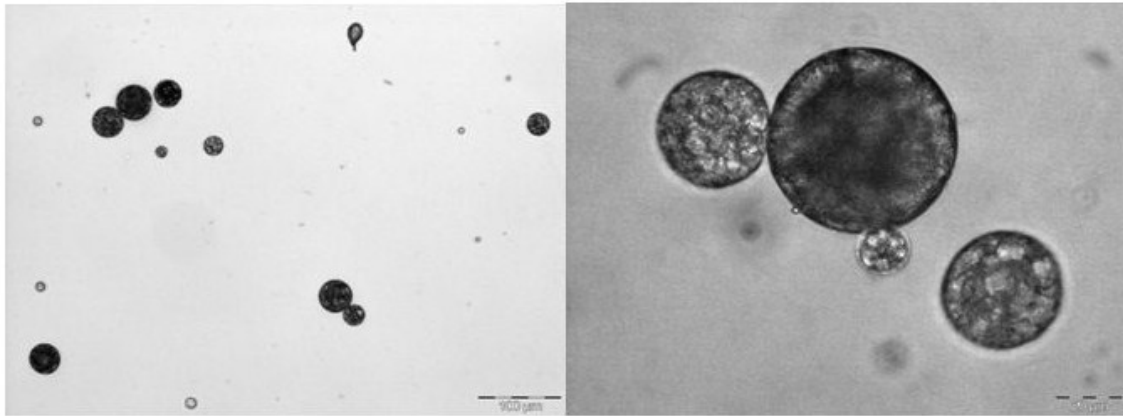


Fig.3.8- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no início do aquecimento, teste2 (escalas: 100 μ m, 20 μ m).

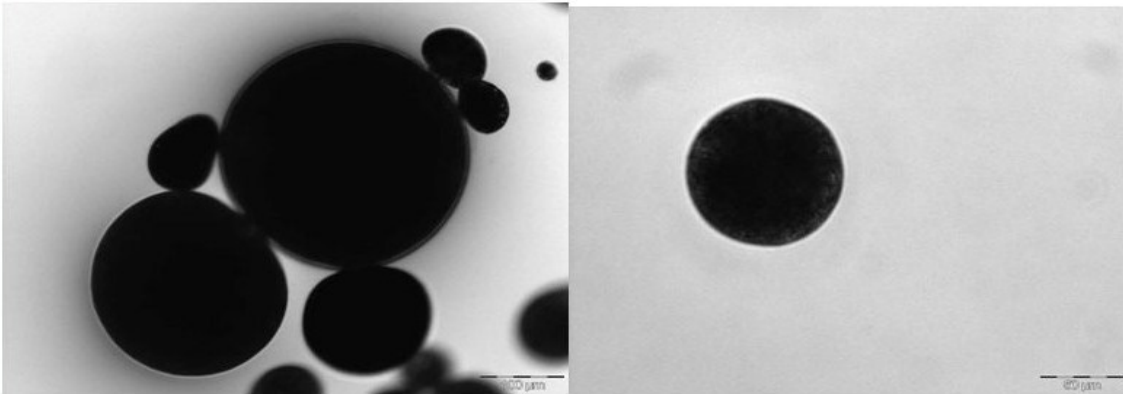


Fig.3.9- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio na evaporação, teste2. (escalas: 100 μ m, 50 μ m).

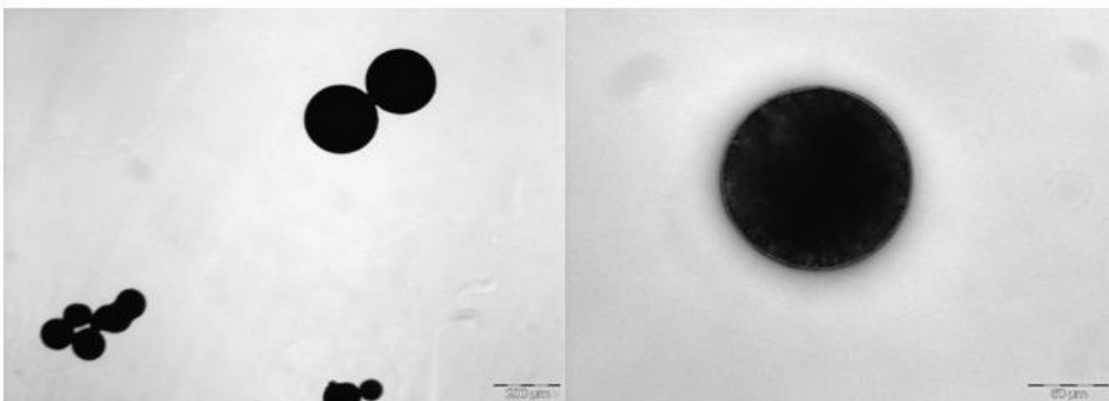


Fig.3.10- Imagens das microcápsulas obtidas ao microscópio no teste 2, antes de filtrar (escalas: 200 μ m, 50 μ m).

As imagens das microcápsulas obtidas permitem observar diferentes fases do processo de microencapsulação, nomeadamente a formação de microgotas no início (fig.3.7) que

originam microcápsulas no final (fig.3.10). É possível assim observar a diferença de estrutura entre as gotas de emulsão e as microcápsulas finais, quando a evaporação está terminada.

3.2- RESULTADOS - Monitorização da formação das microcápsulas

Os primeiros testes de monitorização da formação das microcápsulas, recorrendo à técnica de LDS, foram feitos sem aspirina.

Na fig.3.11 estão representadas as curvas de distribuição de tamanhos para um teste sem aspirina, com velocidade de rotação de 750rpm, 3,7ml de surfactante num volume total de emulsão de 550ml e temperatura de evaporação de 50°C.

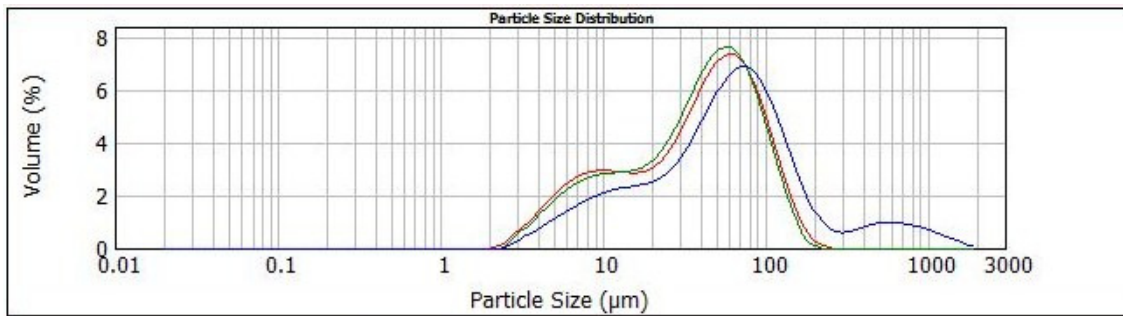


Fig.3.11- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste sem aspirina (___ início da emulsificação; ___ início da evaporação; ___ fim da evaporação).

Nas figs. 3.12, 3.13 e 3.14 apresentam-se os gráficos da evolução dos diâmetros d_{10} , d_{50} e d_{90} , com o tempo. Os valores fornecidos pelo equipamento que permitiram traçar estes gráficos, encontram-se no ANEXO VI.

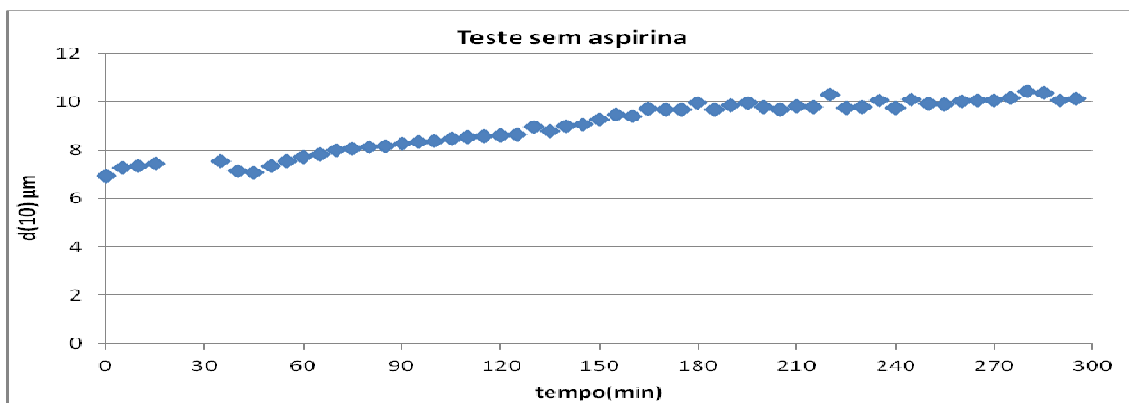


Fig.3.12- Evolução de d_{10} com o tempo.

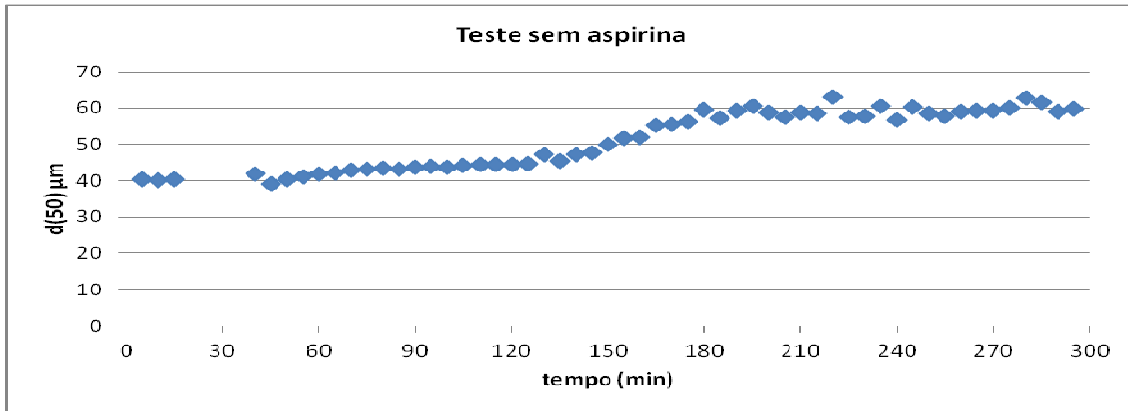


Fig.3.13- Evolução de d_{50} com o tempo.

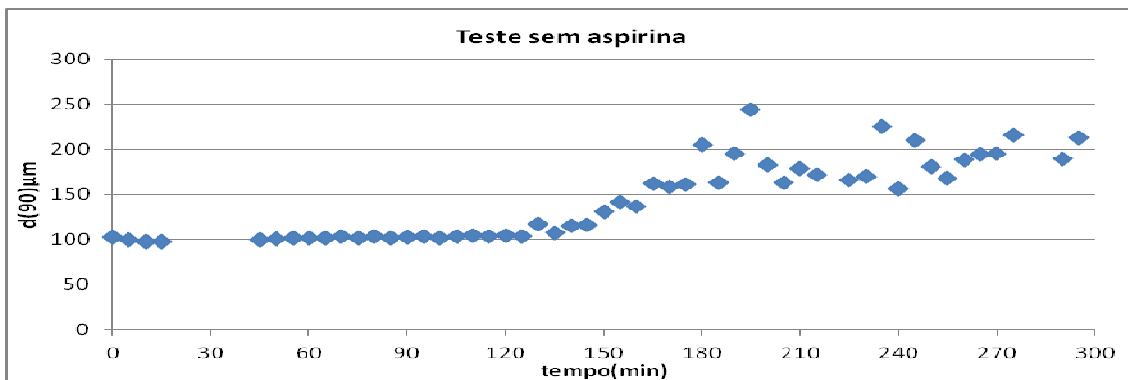


Fig.3.14- Evolução de d_{90} com o tempo.

Como se pode verificar nestes gráficos há uma tendência para o crescimento das partículas a partir da etapa de emulsificação, com a formação de alguns agregados durante a etapa de evaporação, o que é visível na distribuição granulométrica completa (aparecimento de um segundo pico na zona dos $1000\mu\text{m}$, fig.3.11) e também no valor do d_{90} . Com este teste confirmou-se a viabilidade de utilizar a técnica de LDS para monitorizar a formação das microcápsulas.

Na fig.3.15 podem observar-se as microcápsulas de etilcelulose na etapa da evaporação, podendo verificar-se que estas microcápsulas são bem formadas, muito pequenas e esféricas, havendo já partículas agregadas.

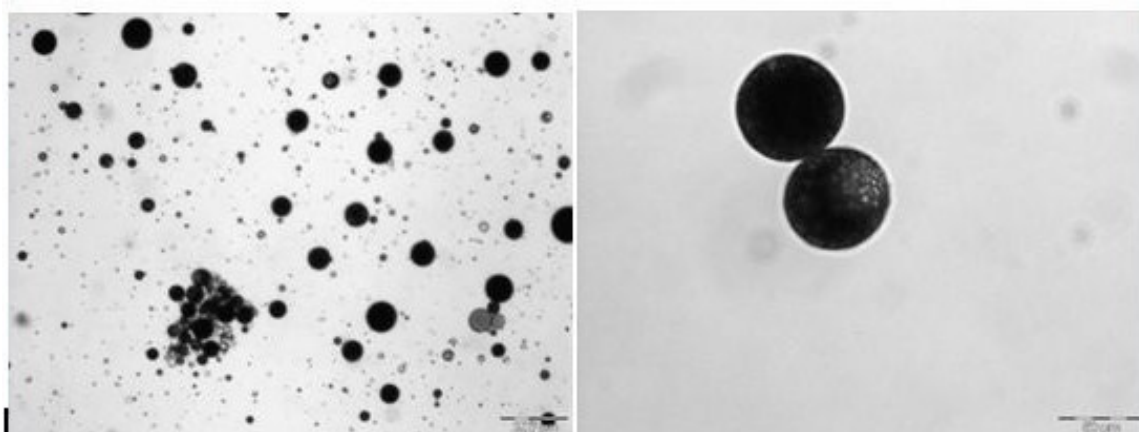


Fig.3.15- Imagens obtidas ao microscópio das microcápsulas no teste sem aspirina durante a etapa da evaporação (escalas: 200 μm e 50 μm).

A introdução da aspirina no processo levou a novos ajustes, nomeadamente na velocidade de rotação e na quantidade de surfactante. Os testes com aspirina foram realizados de acordo com o procedimento de emulsificação/evaporação de solvente apresentado para a monitorização por LDS, descrito no ANEXO II, variando a velocidade de rotação e a quantidade de surfactante. Na tabela 3.3 estão resumidas as velocidades de rotação e a quantidade de surfactante utilizadas nos testes apresentados.

Tabela 3.3 – Condições para os testes realizados

Teste	vel. rot.(rpm)	$V_{\text{surfactante}}$ (ml)	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	$V_{\text{emul.sem surfactante}}$ (ml)
23	1000	4,32	50	550
22	750	4,32	50	550
28	1250	4,32	50	550
29	1000	5,94	50	550
30	1000	6,15	50	550
32	1250	6,15	50	550

Assim o teste 23 foi realizado de acordo com o procedimento padrão de emulsificação/evaporação de solvente apresentado para a monitorização por LDS (ANEXO II).

De seguida apresentam-se os resultados da monitorização, curvas de distribuição de tamanhos, da formação das microcápsulas de etilcelulose com aspirina (emulsificação e evaporação). Para o teste 23, apresentam-se as curvas de distribuição de tamanhos para os primeiros 15 minutos correspondentes à emulsificação (fig.4.16) e na fig.4.17 estão representadas as curvas de distribuição referentes ao início da emulsificação (1ª aquisição), ao início da evaporação (4ª aquisição) e ao final do processo.

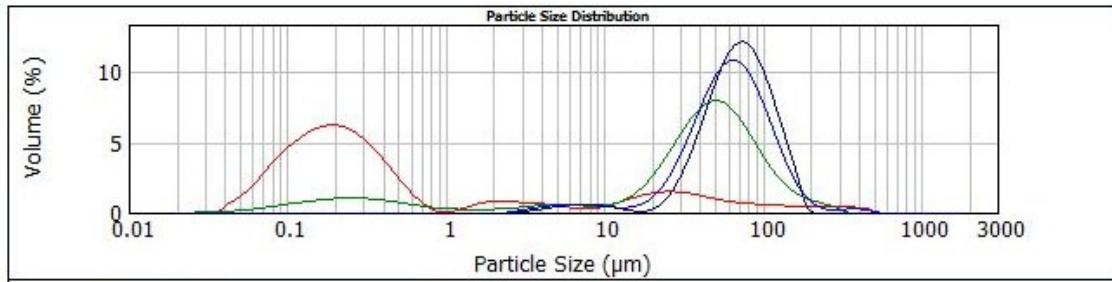


Fig.3.16- Emulsificação para o teste 23 (primeiros 15 minutos: 1ª, 2ª, 3ª e 4ª aquisições).

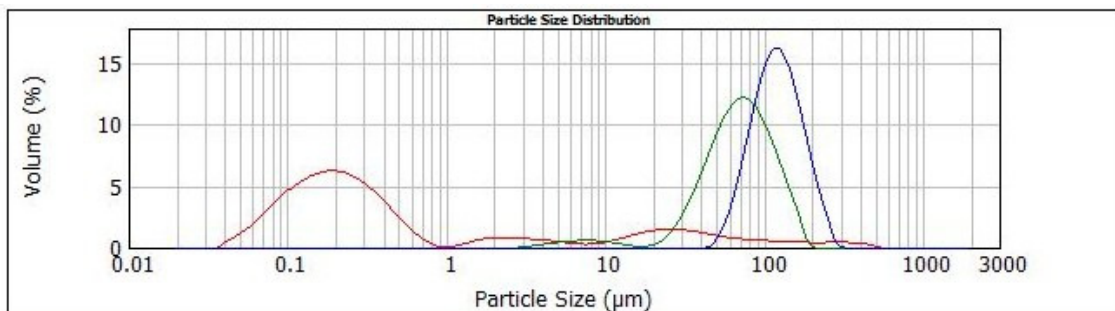


Fig.3.17- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 23 (início da emulsificação ; início da evaporação; fim da evaporação)

As curvas de distribuição de tamanhos permitem observar a evolução do tamanho das partículas, verificando-se um crescimento, logo durante os 15 minutos correspondentes à emulsificação (fig. 3.16).

Com base nos valores fornecidos pelo equipamento, que se encontram no ANEXOVI, foram traçados os gráficos que mostram a evolução dos diâmetros com o tempo, fig.3.18 até fig.3.20 e ainda a evolução da largura da distribuição com o tempo, fig.3.21.

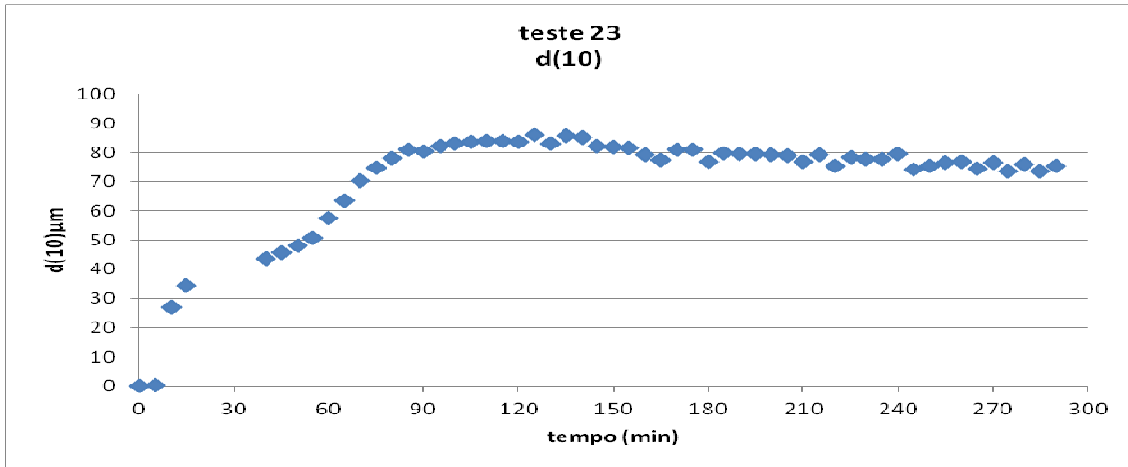


Fig.3.18- Evolução de d_{10} com o tempo para o teste 23.

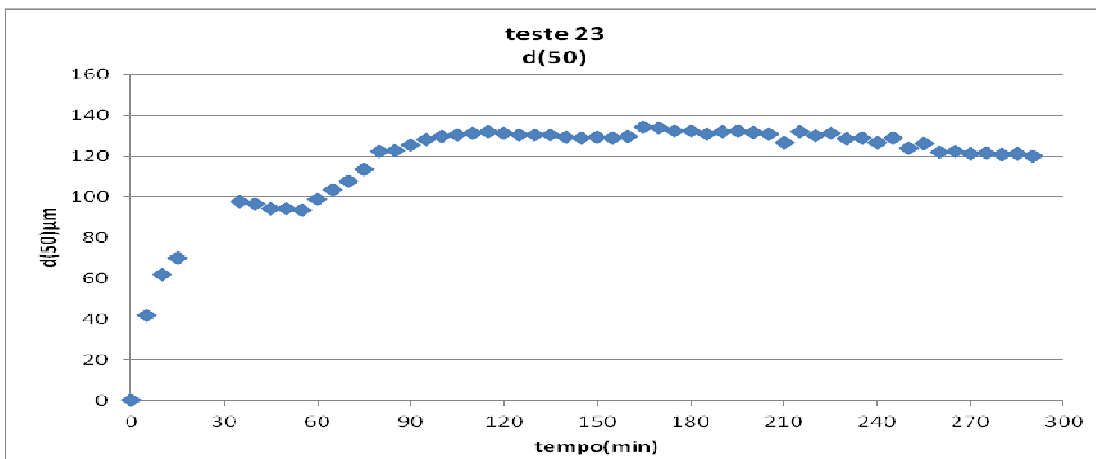


Fig.3.19- Evolução de d_{50} com o tempo para o teste 23.

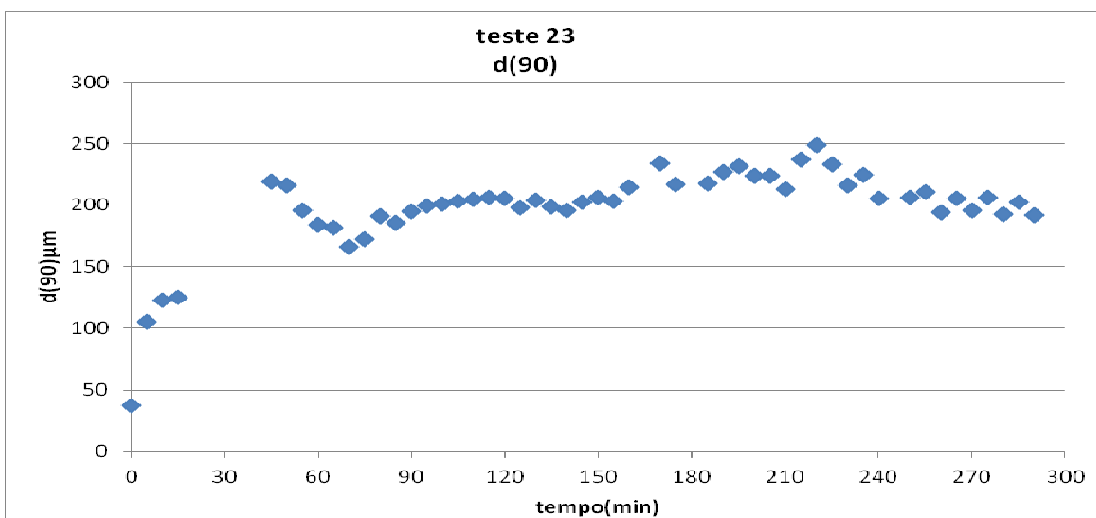


Fig.3.20- Evolução de d_{90} com o tempo para o teste 23.

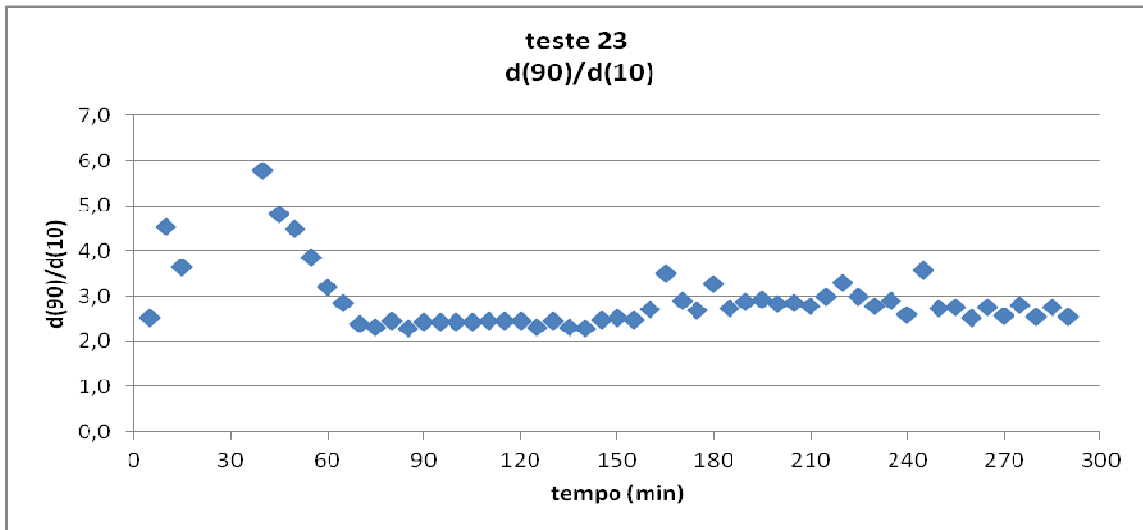


Fig.3.21- Evolução da largura da distribuição com o tempo para o teste23.

Estes gráficos ilustram a dinâmica do crescimento das partículas desde a emulsificação até à evaporação. Durante os 15 minutos de emulsificação verifica-se um crescimento acentuado das microgotas. Quando se inicia a evaporação, verificam-se algumas perturbações na aquisição de dados, devidas às alterações introduzidas pelo aumento de temperatura da emulsão. O crescimento continua até um tempo de aproximadamente de 180 minutos, verificando-se a partir desse tempo um ligeiro decréscimo de tamanho das micropartículas.

Durante a monitorização da formação das microcápsulas para o teste 23, foram retiradas amostras da emulsão e analisadas ao microscópio. De seguida apresentam-se algumas dessas imagens, para 1h depois de iniciada a monitorização, fig.3.22, e no final, fig.3.23, podendo observar-se a tendência das partículas para aglomerarem.

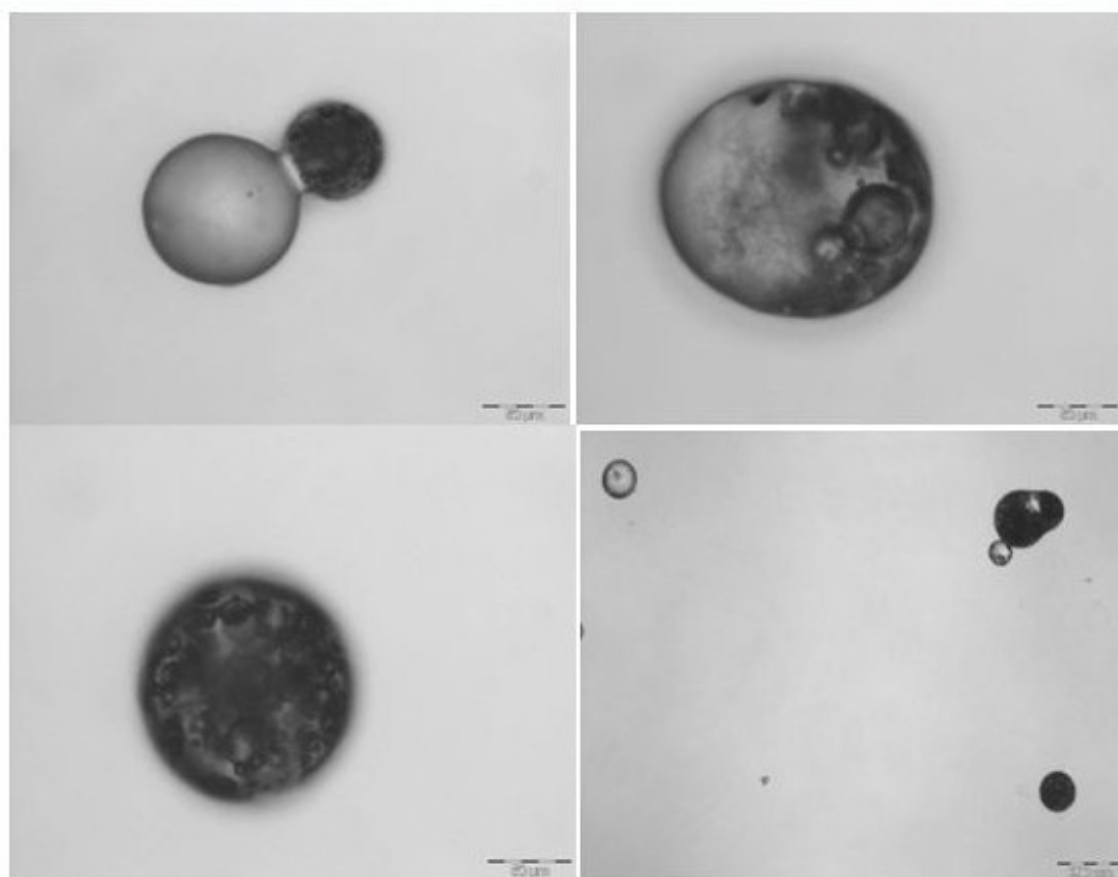


Fig.3.22- Imagens das microcápsulas no teste 23 obtidas ao microscópio, 1h após o início da monitorização (escalas: 50 µm e 200 µm).

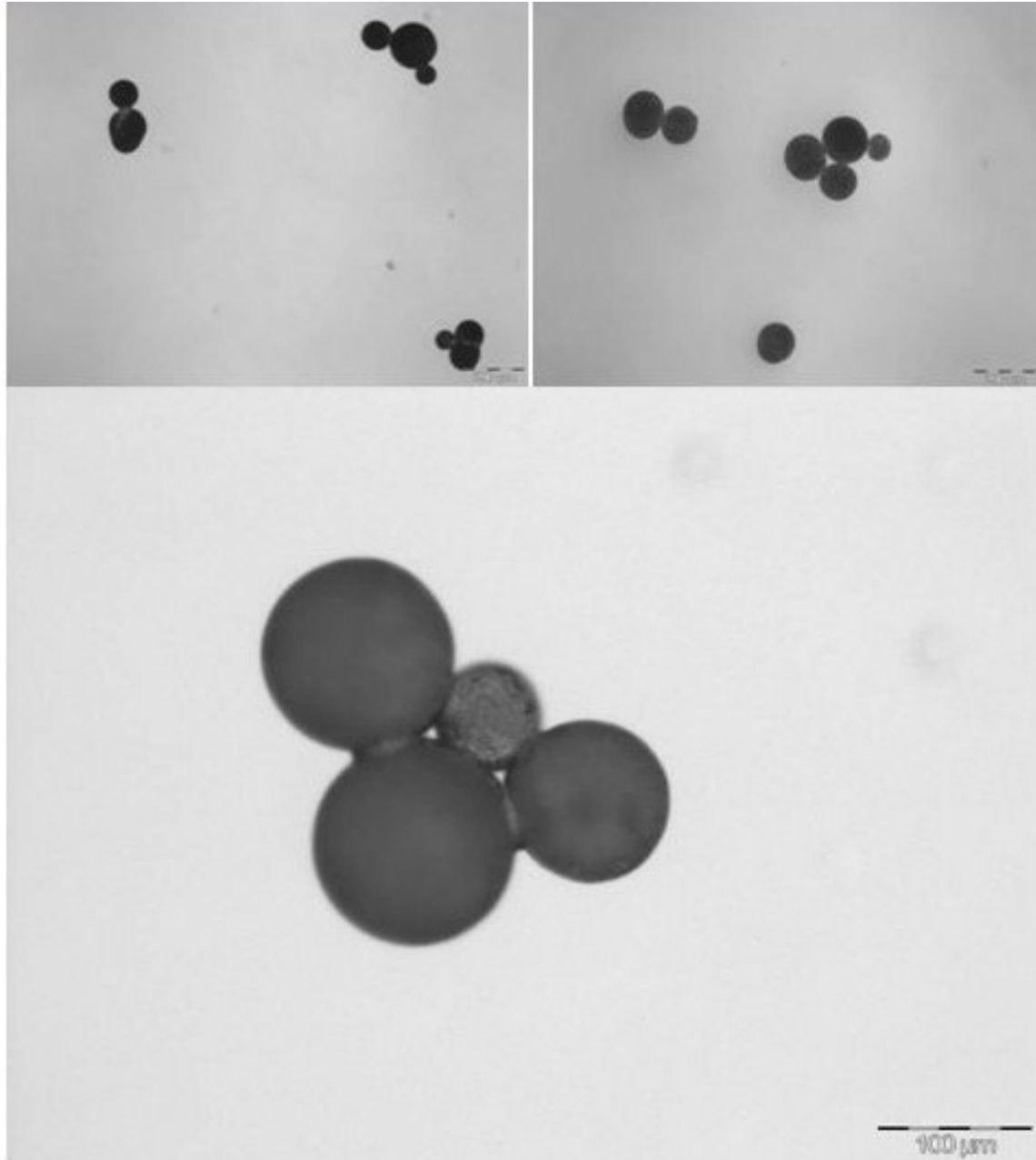


Fig.3.23- Imagens das microcápsulas no teste 23 obtidas ao microscópio, no final da evaporação (escalas: 200 μm e 100 μm).

De novo é clara a diferença de estrutura entre as gotas iniciais da emulsão e as microcápsulas finais.

3.2.1- Influência da variação da velocidade de rotação

Para estudar a influência da variação da velocidade de rotação na formação das partículas durante o processo de emulsificação e evaporação, foram efectuados três

testes 22, 23 e 28 em que se mantiveram todas as condições: preparação da fase dispersa e da fase contínua e da pré-emulsão, de acordo com o procedimento de emulsificação/evaporação de solvente para a monitorização por LDS descrito no ANEXO II, variando-se apenas a velocidade de operação no equipamento de LDS. Assim no teste 22 a velocidade utilizada foi de 750 rpm, no teste 23 (já anteriormente mencionado) foi de 1000rpm e no teste 28 foi de 1250rpm.

Apresentam-se de seguida os resumos das curvas de distribuição de tamanhos, figs. 3.24, 3.16 e 3.25, obtidas para estes processos.

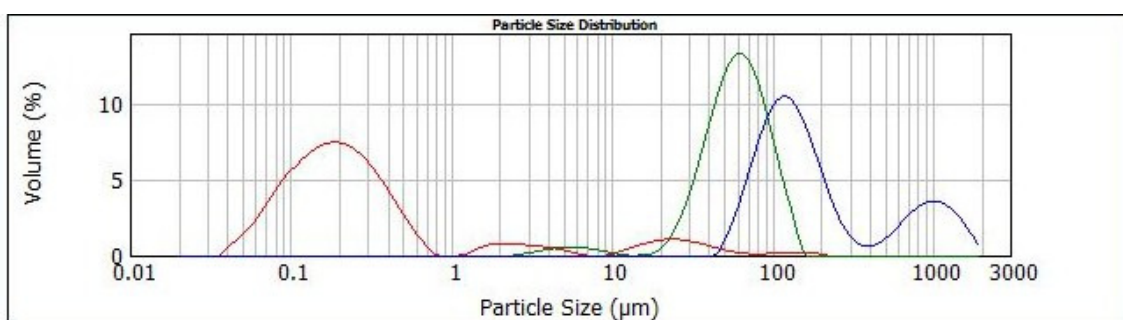


Fig.3.24- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste com 750 rpm, teste22 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).

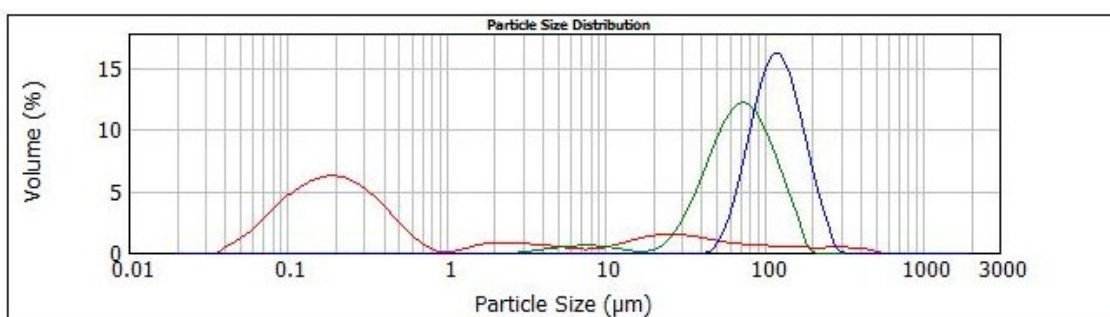


Fig.3.16 - Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 23 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação)

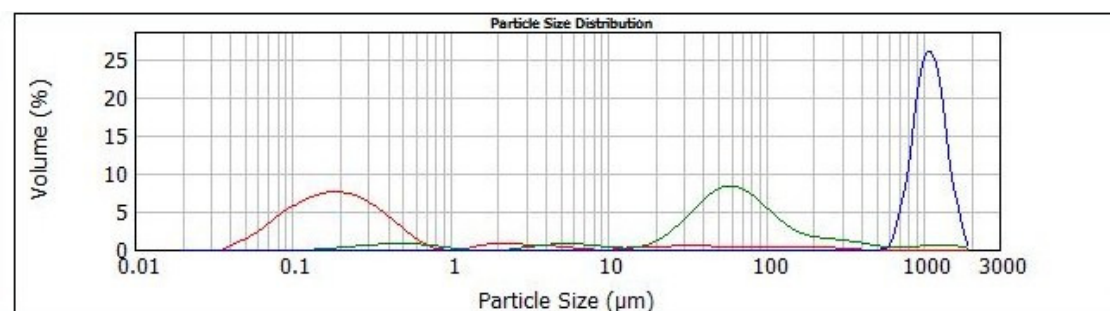


Fig.3.25- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste com 1250rpm, teste 28 (__ início da emulsificação ; __ início da evaporação; __ fim da evaporação).

Para analisar o efeito da velocidade de rotação na formação das micropartículas, mais concretamente, no tamanho dessas micropartículas, representou-se a evolução de diâmetros d_{10} , d_{50} e d_{90} com o tempo para os testes 22, 23 e 28 (fig.3.26, fig.3.27, e fig.3.28).

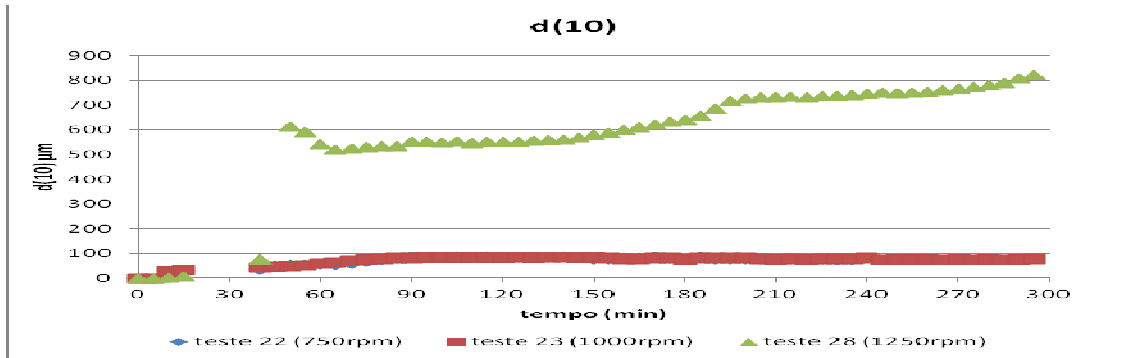


Fig.3.26- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.

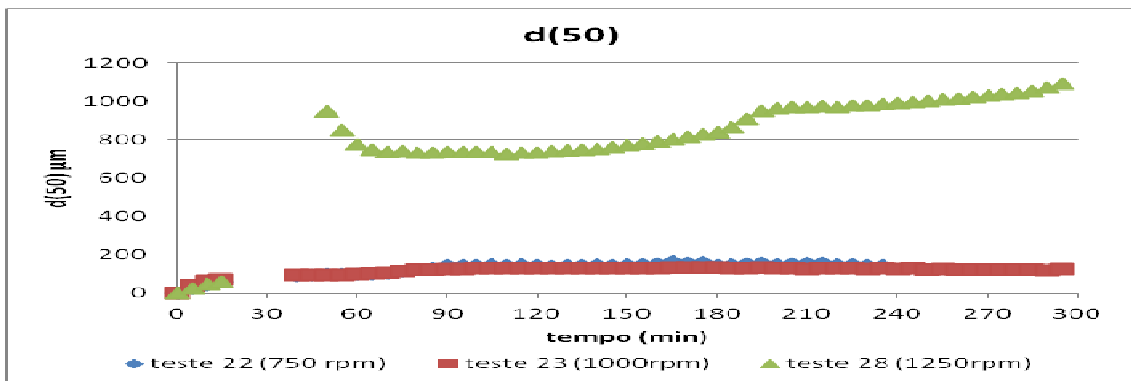


Fig.3.27- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.

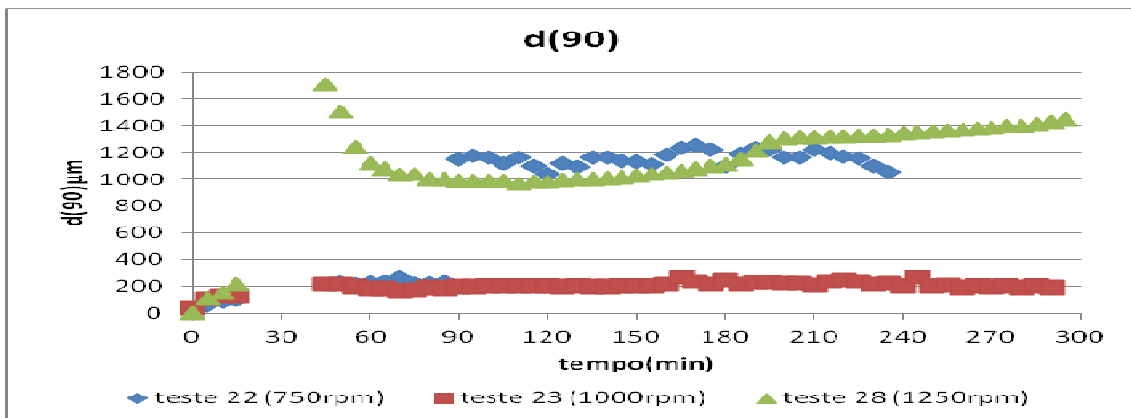


Fig.3.28- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 22, 23 e 28.

Dado que nas representações anteriores (figs.3.26, 3.27 e 3.28), há sobreposição das curvas representativas dos testes 22 e 23, conduzidos, respectivamente a 750 e a 1000 rpm, optou-se por representar a comparação da evolução dos diâmetros apenas para os referidos testes, fig.s 3.29 a 3.31.

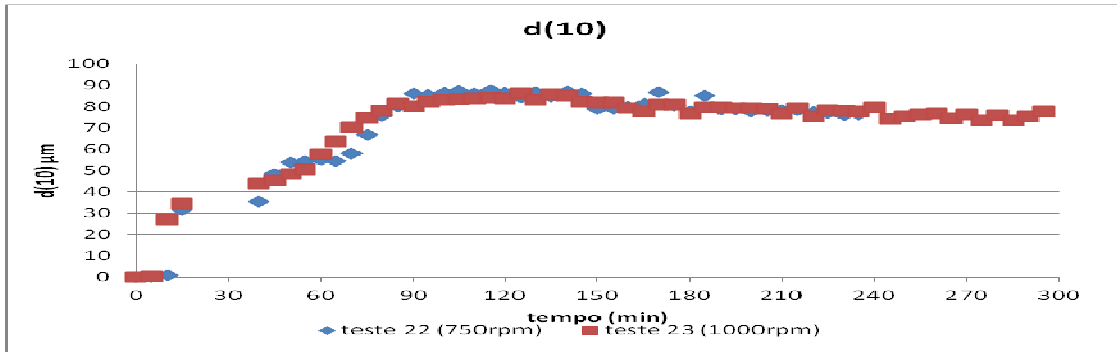


Fig.3.29- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 22 e 23.

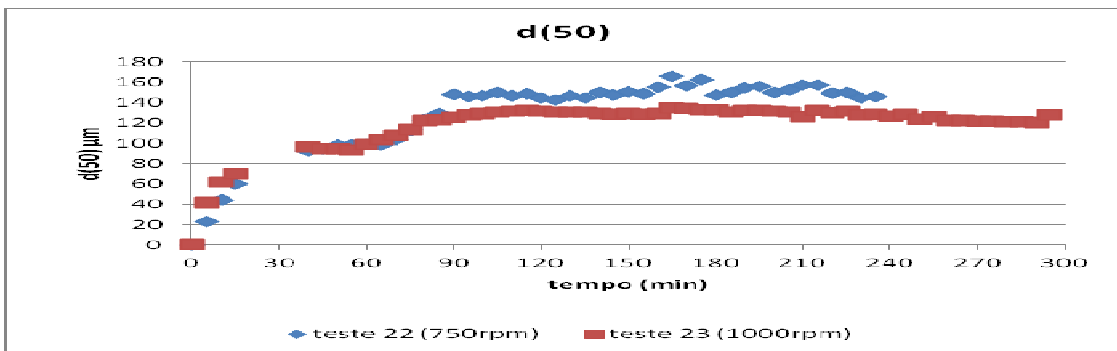


Fig.3.30- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 22 e 23.

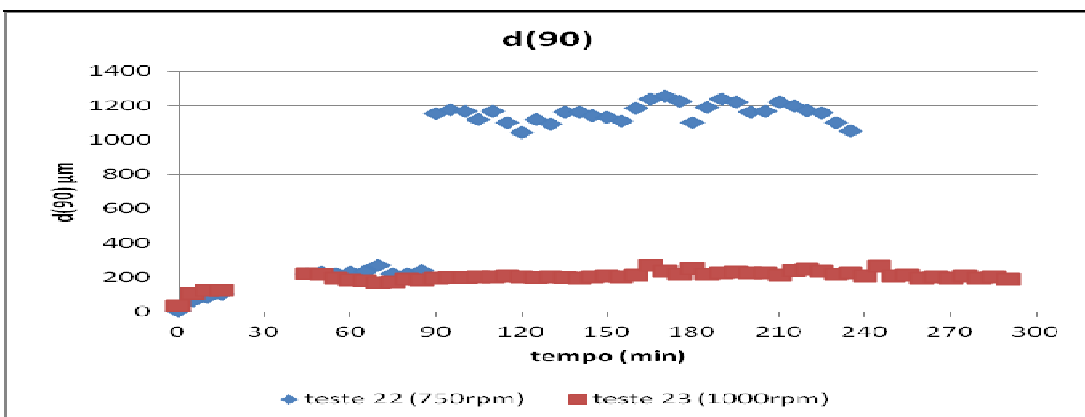


Fig.3.31- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 22 e 23.

Da análise das fig.s 3.29, 3.30 e 3.31, verifica-se que para velocidades de rotação superiores, formam-se partículas mais pequenas, porém para velocidade de 750 rpm, teste 22, e para tempo superior a 85 minutos verificou-se uma forte tendência para aglomeração, valor de d_{90} (fig.3.31).

Para velocidades superiores, teste 28, conduzido a 1250 rpm, a aglomeração ocorre logo no início da evaporação, talvez devida a um aumento dos choques entre as partículas. Assim parece existir uma velocidade de rotação óptima que minimiza a aglomeração.

3.2.2- Influência do aumento da quantidade de surfactante

Tendo como finalidade estudar o efeito do aumento da quantidade de surfactante na formação das microcápsulas, realizaram-se dois testes em que se mantiveram todas as condições e quantidades, do procedimento de emulsificação/evaporação de solvente para a monitorização por LDS (ANEXO II), alterando apenas a quantidade de surfactante utilizado. Assim no teste 29 a quantidade de surfactante usada foi de 5,94ml (aumento de 37,5% relativamente ao teste 23) e no teste 30 foi de 6,15ml (aumento de 42,4% relativamente ao teste 23). Foi ainda efectuado outro teste aumentando mais a quantidade de surfactante (6,48ml) mas verificou-se a formação de espuma, não sendo por esse motivo viável a monitorização do processo nessas condições.

Apresentam-se de seguida as curvas de distribuição de tamanhos (fig.3.16, fig.3.32 e fig.3.33) e as representações gráficas dos d_{10} , d_{50} e d_{90} em função do tempo, correspondentes à monitorização destes processos (fig.3.34 a 3.36).

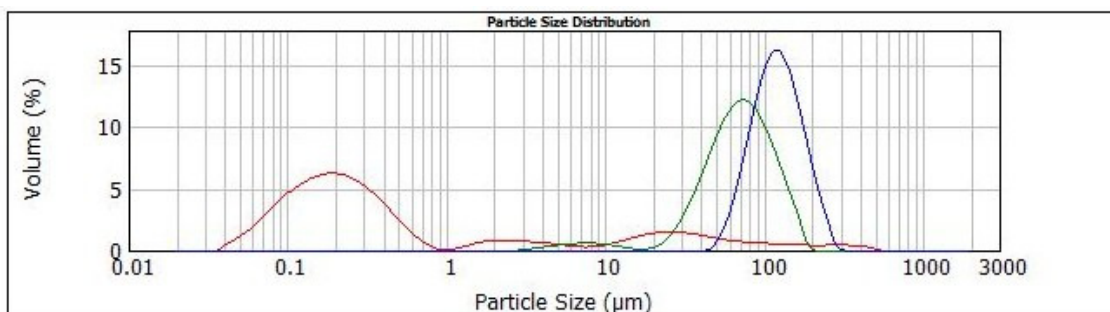


Fig.3.16 - Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 23 (___ início da emulsificação ; ___ início da evaporação; ___ fim da evaporação)

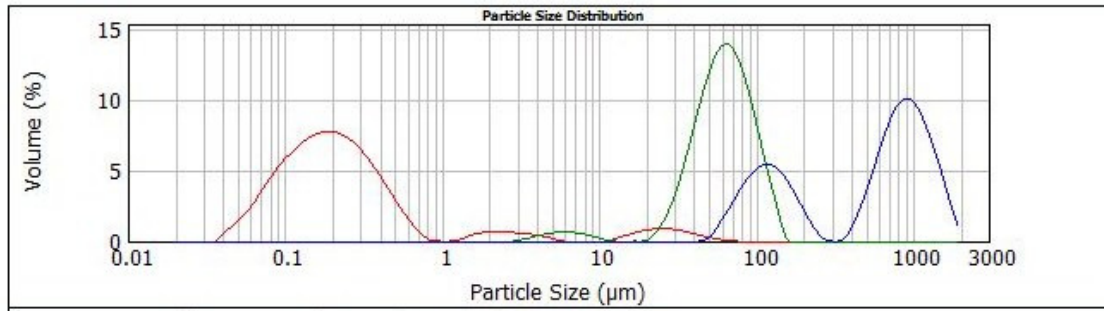


Fig.3.32- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 29 (5,94ml de surfactante) (__ inicio da emulsificação ; __ inicio da evaporação; __ fim da evaporação).

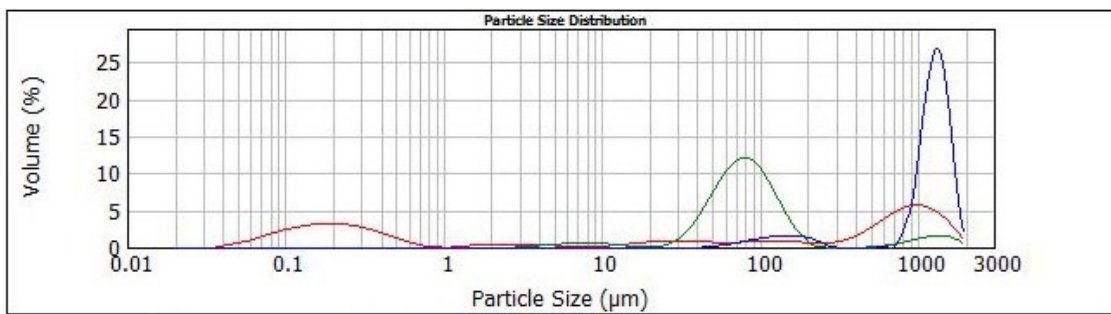


Fig.3.33- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 30 (6,15ml de surfactante) (__ inicio da emulsificação ; __ inicio da evaporação; __ fim da evaporação).

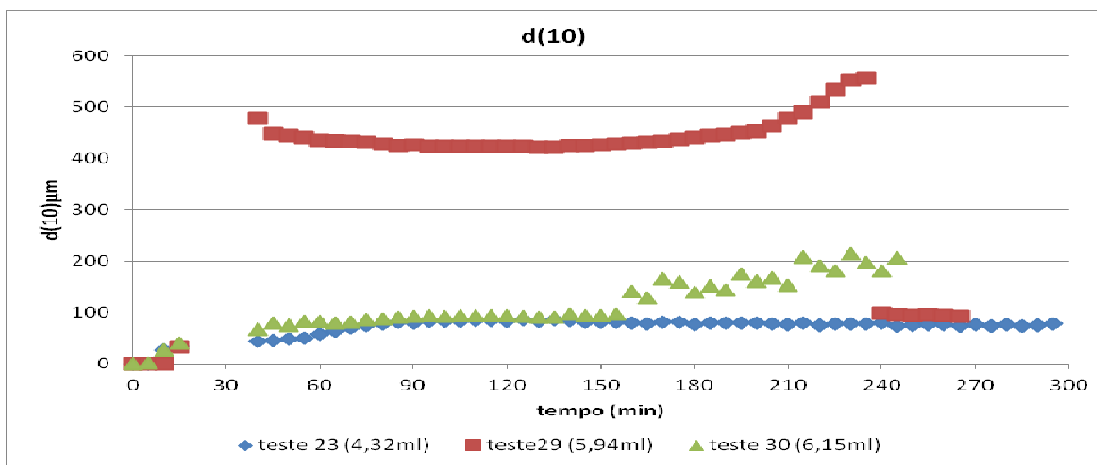


Fig.3.34- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.

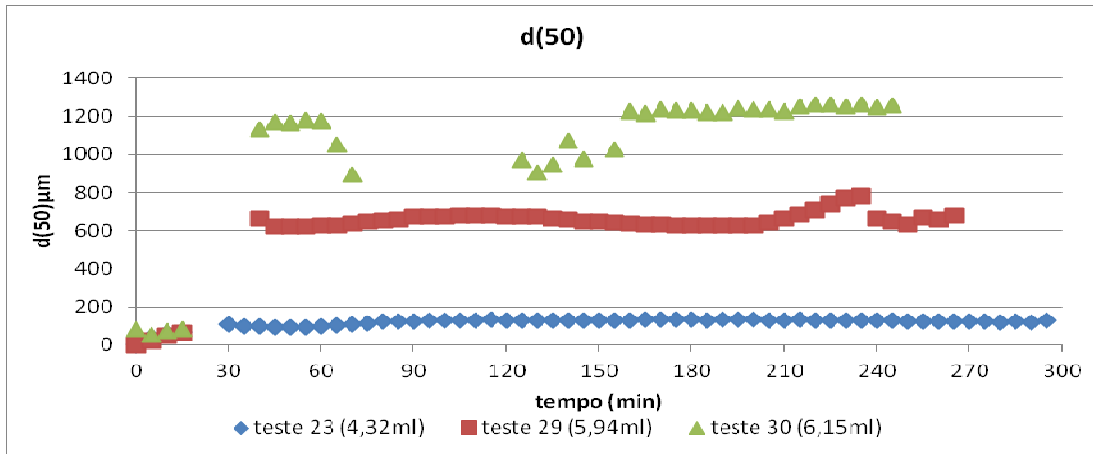


Fig.3.35- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.

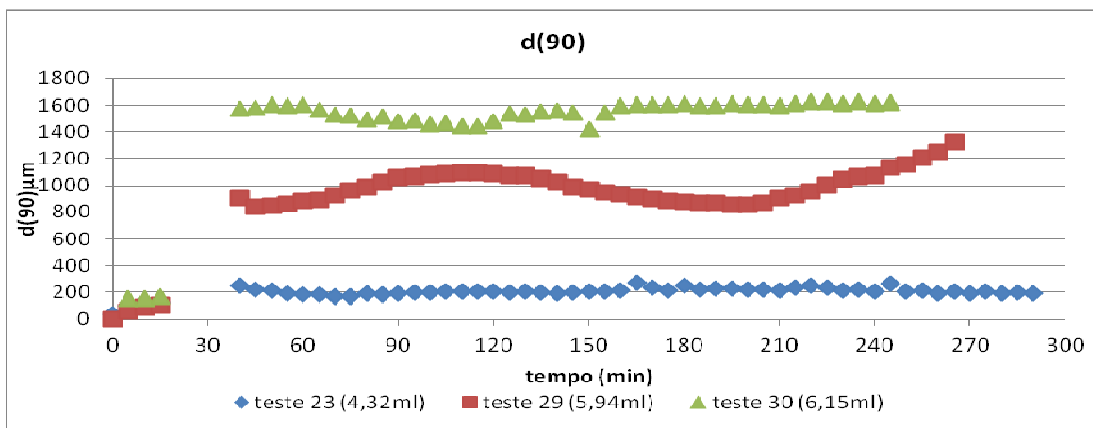


Fig.3.36- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 23, 29 e 30.

O aumento da quantidade de surfactante traduziu-se em agregação das micropartículas, maior ainda para o teste 30 (volume de surfactante de 6,15ml), tornando-se, por esse motivo, difícil a interpretação destes resultados. No teste 29 (5,94ml de surfactante) parece verificar-se inicialmente a formação de mais microgotas de menor tamanho (comparar fig.s 3.32 e 3.16) o que também é indiciado pelos valores de d_{10} . Contudo, quer os valores de d_{50} , quer os de d_{90} , ao longo do tempo, são superiores aos obtidos com menor quantidade de surfactante (teste 23), indiciando a existência de aglomeração.

Ao longo do processo de emulsificação/evaporação, foram recolhidas amostras e analisadas ao microscópio com o intuito de observar a formação das partículas em

diferentes fases do processo. Apresentam-se de seguida as imagens recolhidas para o teste 30, teste conduzido a 1000rpm e com 6,15ml de surfactante, (fig.s 3.37, 3.38 e 3.39).

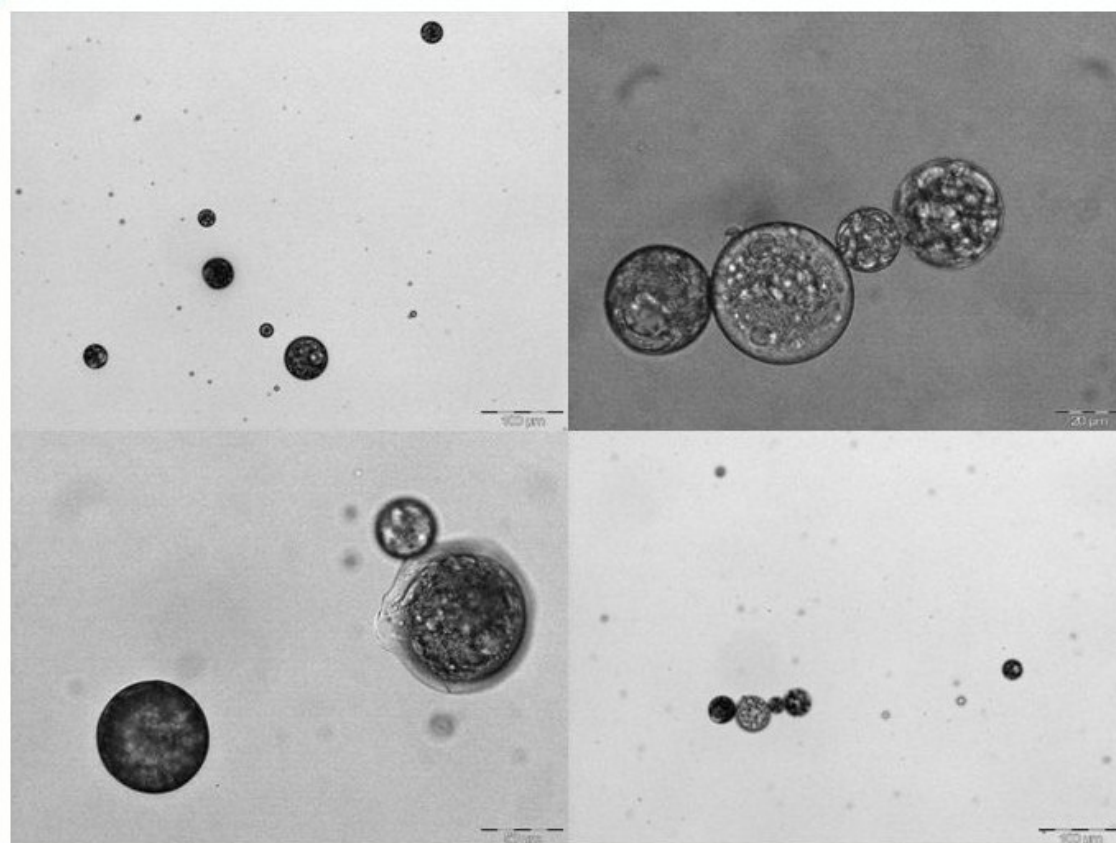


Fig.3.37- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, no início da emulsificação.

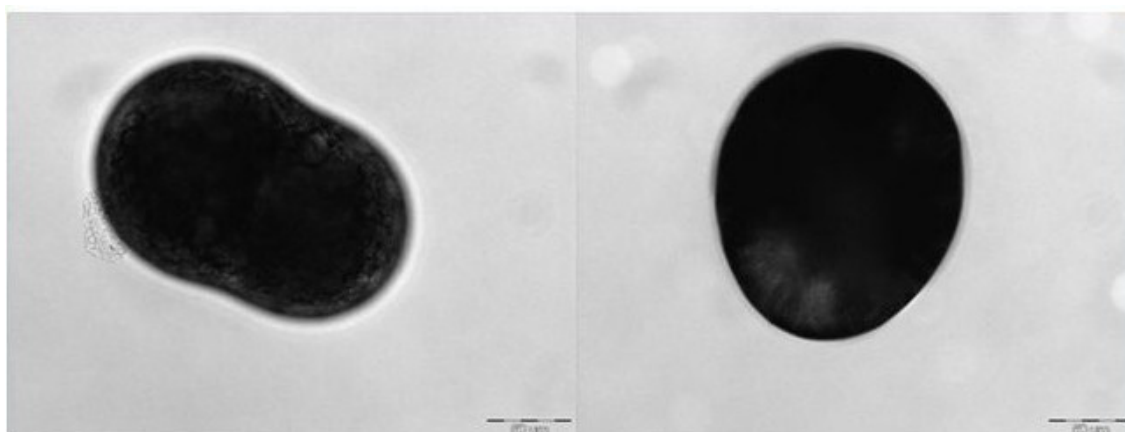


Fig.3.38- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, na evaporação, 2h após o início da monitorização.

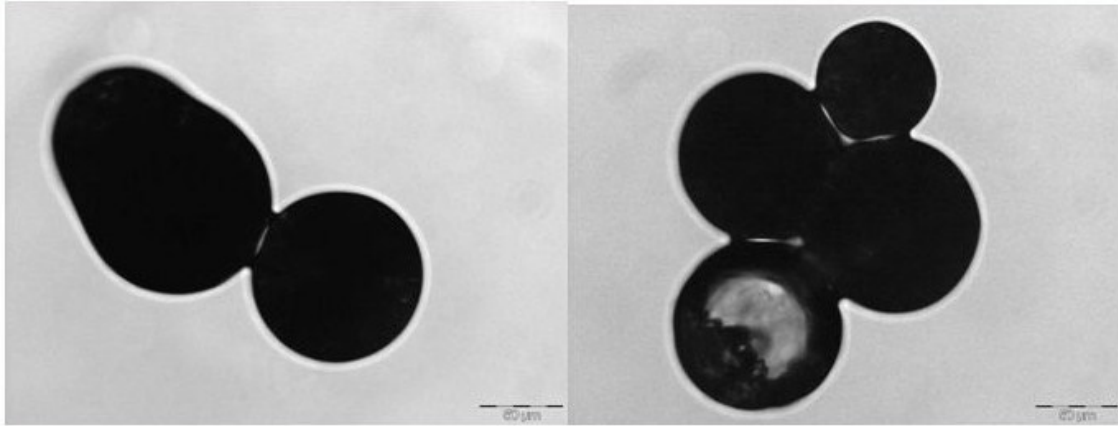


Fig.3.39- Imagens das microcápsulas no teste 30 obtidas ao microscópio, no final da evaporação.

As partículas formadas são esféricas verificando-se tendência para aglomerar logo na formação das microgotas, fig. 3.37, tal como indicado pelas distribuições de tamanhos (figuras 3.34 a 3.36)

3.2.3- Influência do aumento da quantidade de surfactante e da velocidade de rotação

Foi ainda efectuado um teste, teste 32, em que a quantidade de surfactante foi de 6,15ml e a velocidade de rotação foi de 1250 rpm.

Apresentam-se seguidamente as curvas de distribuição de tamanhos correspondentes à monitorização deste processo, fig.3.40, e de novo as do teste 30, fig.3.33.

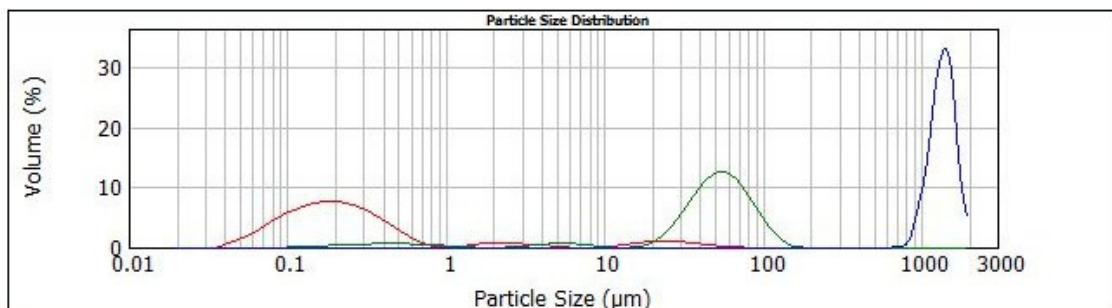


Fig.3.40- Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 32 (__ inicio da emulsificação ; __ inicio da evaporação; __ fim da evaporação).

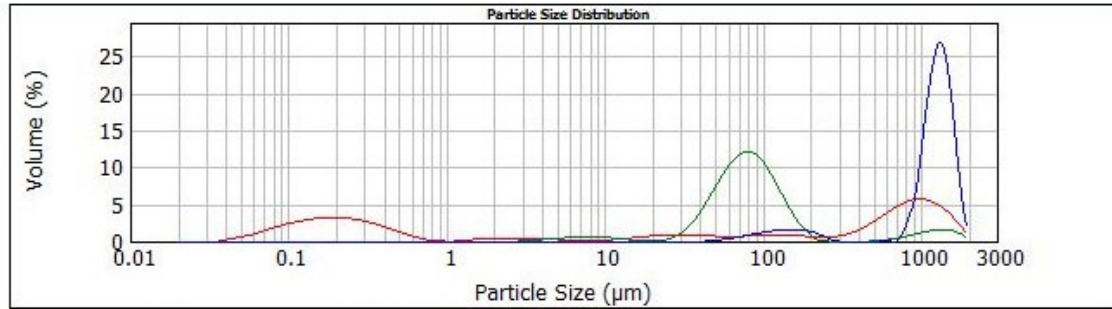


Fig. 3.33 - Curvas de distribuição de tamanhos para o teste 30 (6,15ml de surfactante) (— início da emulsificação ; — início da evaporação; — fim da evaporação).

Nas figuras 3.41, 3.42 e 3.43, apresenta-se a comparação da evolução dos diâmetros d_{10} , d_{50} e d_{90} com o tempo, para os testes 32 e 30, onde se variou a velocidade de rotação, sendo a quantidade de surfactante de 6,15ml para ambos os testes.

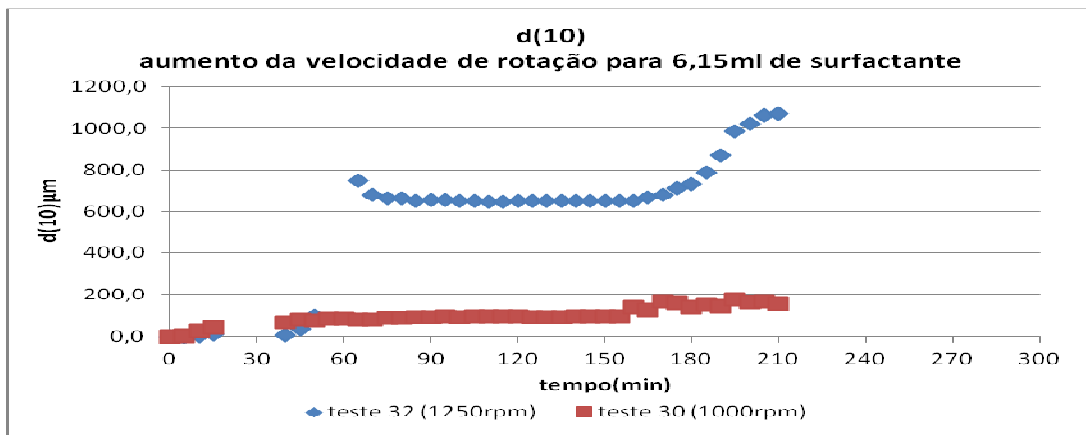


Fig.3.41- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 32 e 30.

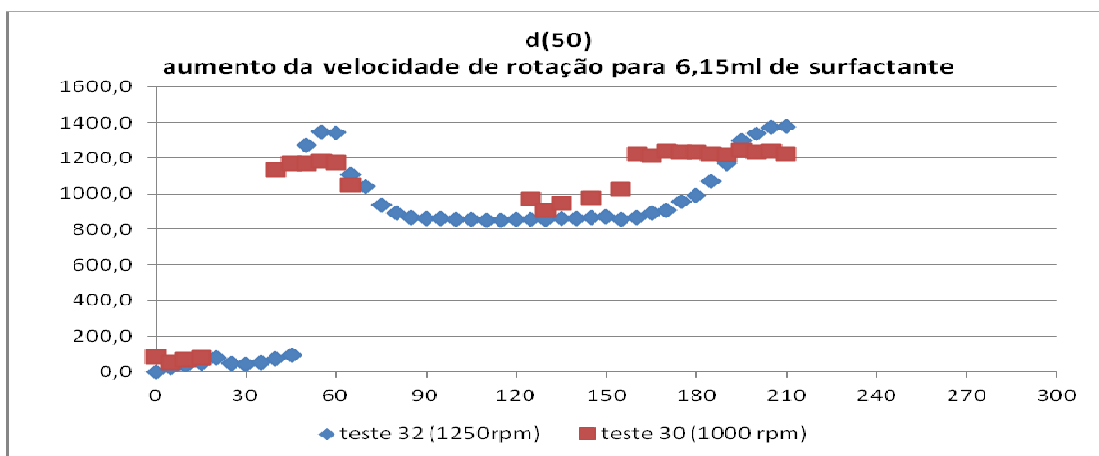


Fig.3.42- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 32 e 30.

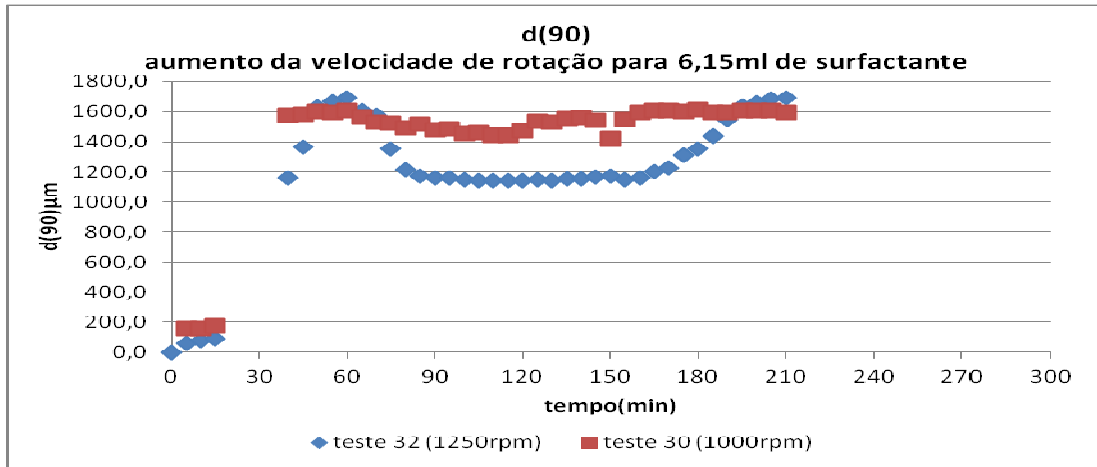


Fig.3.43- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 32 e 30.

Ao aumentar a velocidade de rotação, mantendo a mesma quantidade de surfactante a aglomeração das partículas diminui o que se verifica para d_{50} e d_{90} (figs.3.42 e 3.43). Contudo ao nível dos valores de d_{10} estes são maiores para maior velocidade de rotação, a partir de um tempo de cerca de 30 minutos, o que pode indiciar a existência inicial de coalescência de gotas para a situação de maior velocidade de rotação.

Nas fig.s 3.44, 3.45 e 3.46, apresenta-se a comparação da evolução dos diâmetros com o tempo para os testes 32 e 28 onde se variou a quantidade de surfactante mantendo a velocidade de rotação em 1250rpm para ambos os testes.

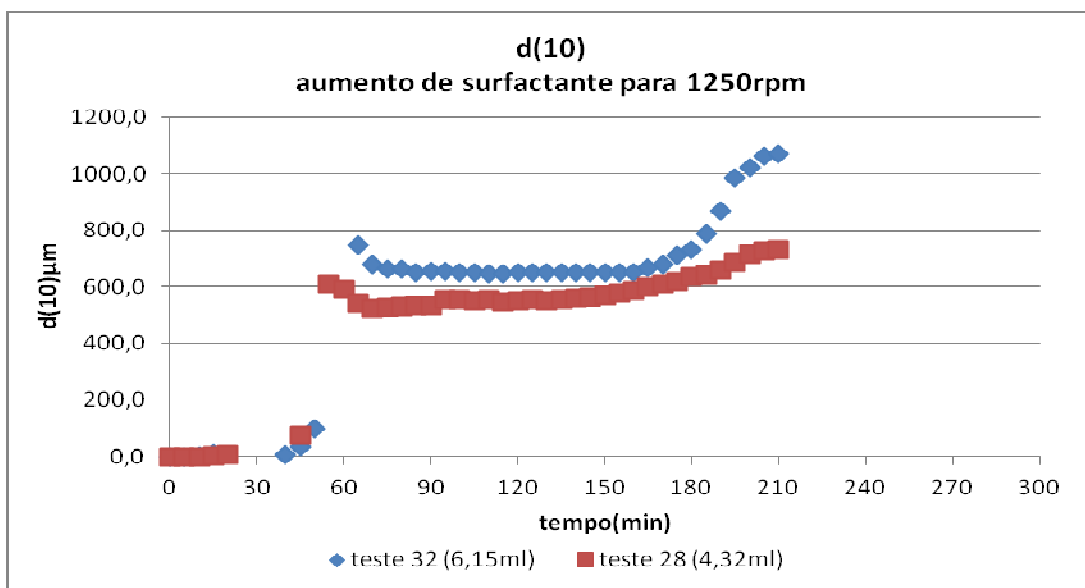


Fig.3.44- Comparação da evolução de d_{10} com o tempo para os testes 32 e 28.

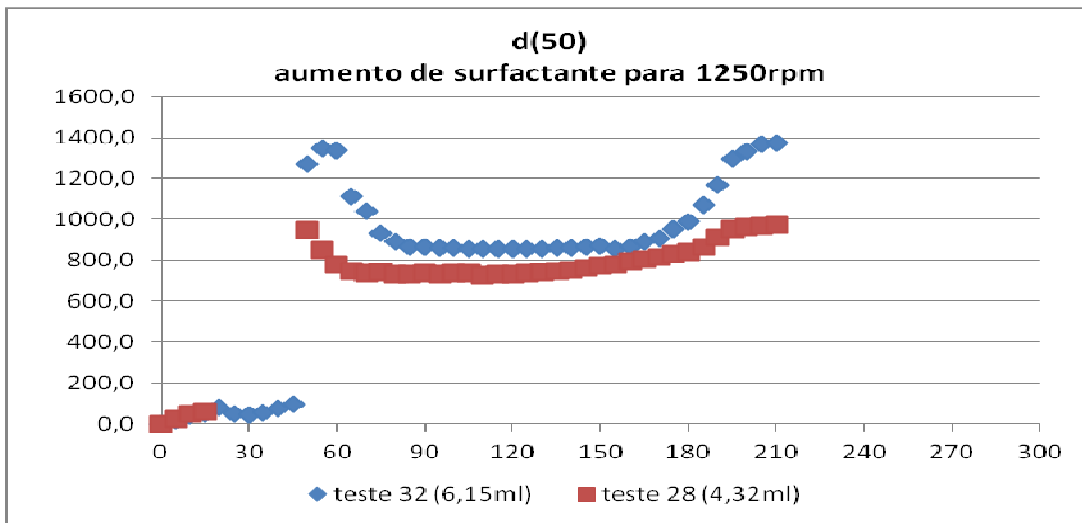


Fig.3.45- Comparação da evolução de d_{50} com o tempo para os testes 32 e 28.

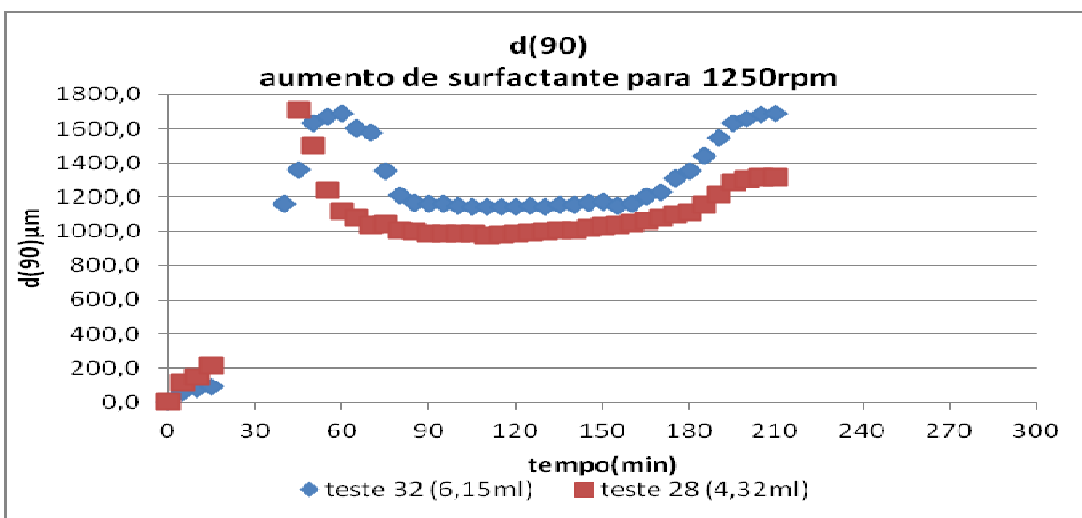


Fig.3.46- Comparação da evolução de d_{90} com o tempo para os testes 32 e 28.

Para a mesma velocidade de rotação, 1250 rpm, aumentando a quantidade de surfactante a aglomeração das partículas foi superior, ao contrário do que seria esperado. Porém tal poderá ser devido ao facto de se terem mantido as condições de agitação na pré-emulsificação e na emulsificação apesar do ligeiro aumento de volume introduzido pela adição de mais surfactante.

3.2.4- Caracterização das microcápsulas formadas

3.2.4.1- Eficiência da encapsulação, rendimento do processo e aspirina encapsulada.

Para cada teste foram determinados o rendimento, **R(%)**, a eficiência da encapsulação **E.E.(%)** e a aspirina encapsulada, **aspirina(%)**, de acordo com as definições apresentadas em 2.2.2.1. Os resultados encontram-se na tabela 3.4.

A eficiência da encapsulação foi determinada de acordo com o procedimento de análise da aspirina por espectrofotometria de UV-Vis (Anexo III), encontrando-se os cálculos no Anexo V.

Tabela 3.4 - Resultados

Teste	m_{etilcelulose}(g)	m_{aspirina}(g)	micrócapsulas(g)	R(%)	E.E.(%)	aspirina(%)
22	0,4318	0,2130	0,2859	44,3	11,70	8,72
23	0,4314	0,2180	0,1735	26,7	6,46	8,12
28	0,4349	0,2172	0,1967	30,2	11,61	12,82
29	0,4320	0,2152	0,1660	25,6	5,40	6,99
30	0,4322	0,2160	0,1627	25,1	5,78	7,67
32	0,4321	0,2157	0,2868	44,3	12,09	9,09

3.2.4.2 – Determinação do Potencial Zeta das microcápsulas

O potencial zeta foi determinado de acordo com o descrito em **2.2.2.2**, encontrando-se os resultados na tabela 3.5 e os gráficos no ANEXO VII.

3.2.4.3- Tamanho e distribuição de tamanhos das microcápsulas

A análise do tamanho e da distribuição de tamanhos das microcápsulas formadas foi feita, após a secagem das mesmas, de acordo com o descrito em **2.2.2.3** usando uma velocidade de rotação de 1600rpm no equipamento. Os resultados apresentam-se na tabela 3.5 e as curvas de distribuição encontram-se no ANEXO VIII.

Tabela 3.5 - Resultados da determinação de tamanhos e potencial zeta

Teste	d ₁₀ μm	d ₅₀ μm	d ₉₀ μm	d ₁₀ μm	d ₅₀ μm	d ₉₀ μm	Potencial Zeta (mV)
	Sem ultrassons			Com ultrassons			
Sem aspirina	23,374	65,476	196,704	18,599	53,019	106,049	-40,7
22	46,977	290,148	594,013	35,080	120,568	205,729	- 6,2
23	40,617	138,775	244,053	36,884	97,430	202,04	-11,6
28	54,087	334,290	515,746	38,481	202,616	362,779	-10,4
29	66,344	321,979	630,295	42,468	159,703	624,957	-8,6
30	51,218	262,23	444,346	89,855	135,094	217,252	-12,0
32	33,363	217,195	393,983	32,066	185,699	353,893	-6,1

A introdução de aspirina nas microcápsulas origina um aumento de tamanho das mesmas, confirmando-se a tendência para a aglomeração, uma vez que depois de aplicar ultra-sons as partículas apresentam tamanhos inferiores. O potencial zeta das microcápsulas com aspirina é como se observou anteriormente, nos testes realizados fora do equipamento de LDS, testes 19 e 20, mais próximo de zero do que no caso das microcápsulas só com etilcelulose.

3.2.4.4 – Microscopia

Recolheram-se também imagens ao microscópio das amostras finais. Estas foram preparadas de acordo com o descrito em **2.2.2.3**, mas sem adicionar surfactante, tendo sido analisadas. De seguida foi adicionado o surfactante à suspensão, e as amostras voltaram a ser analisadas.

Na fig.3.47 estão representadas as microcápsulas de etilcelulose, produzidas no teste sem aspirina, analisadas sem surfactante. Na fig.3.48 estão representadas as microcápsulas de etilcelulose, produzidas nesse teste, mas analisadas com surfactante.

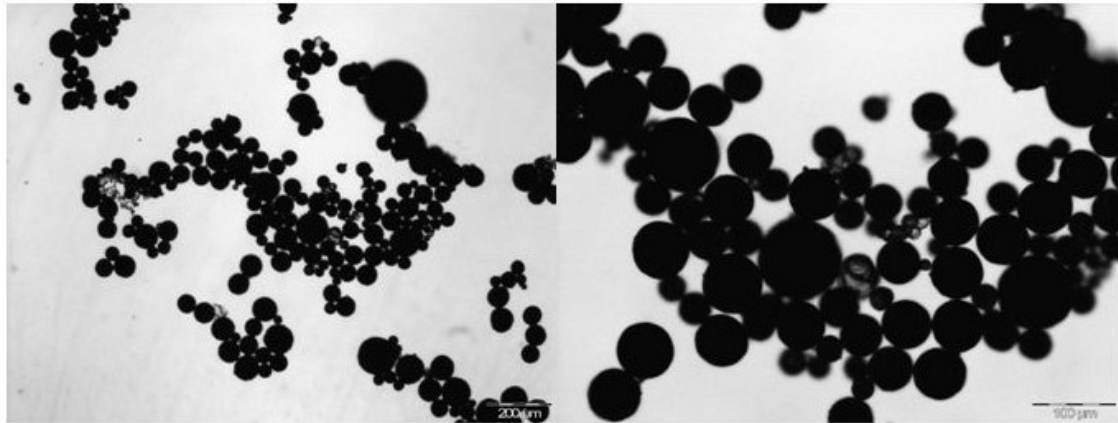


Fig.3.47- Microcápsulas produzidas no teste sem aspirina, analisadas sem surfactante.

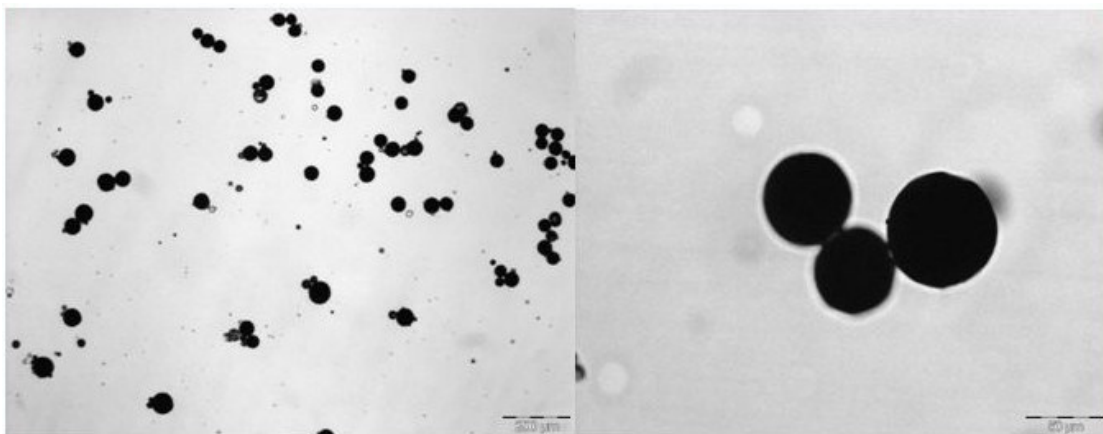


Fig.3.48- Microcápsulas produzidas no teste sem aspirina, analisadas com surfactante

As microcápsulas produzidas são muito pequenas, de acordo com os valores da tabela 3.5, encontrando-se aglomeradas. Quando se adicionou surfactante à suspensão a aglomeração diminuiu.

De seguida apresentam-se os resultados para as amostras dos testes efectuados no equipamento de LDS: 22, 23, 28, 29, 30 e 32, com e sem surfactante (fig.s 3.49 a 3.60).

Teste 22

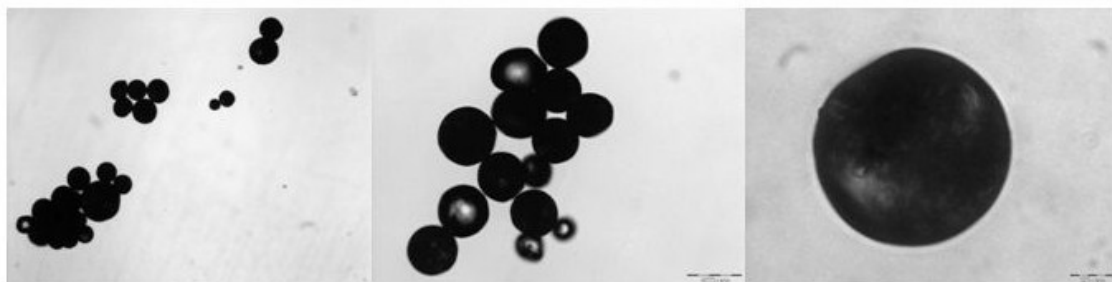


Fig.3.49- Microcápsulas produzidas no teste 22, analisadas sem surfactante.

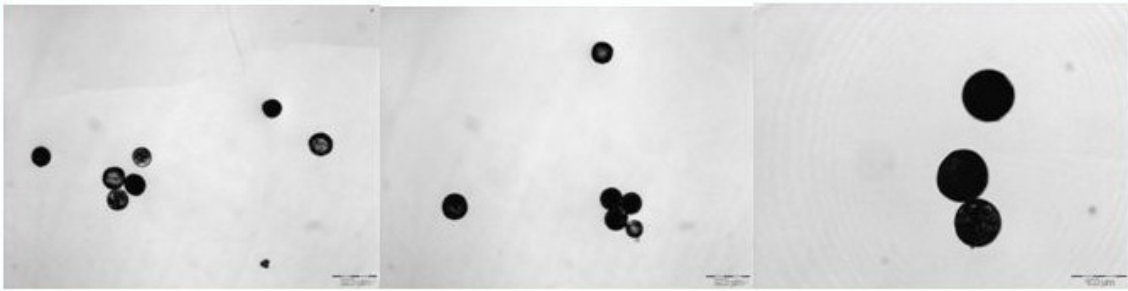


Fig.3.50- Microcápsulas produzidas no teste 22, analisadas com surfactante.

Teste 23

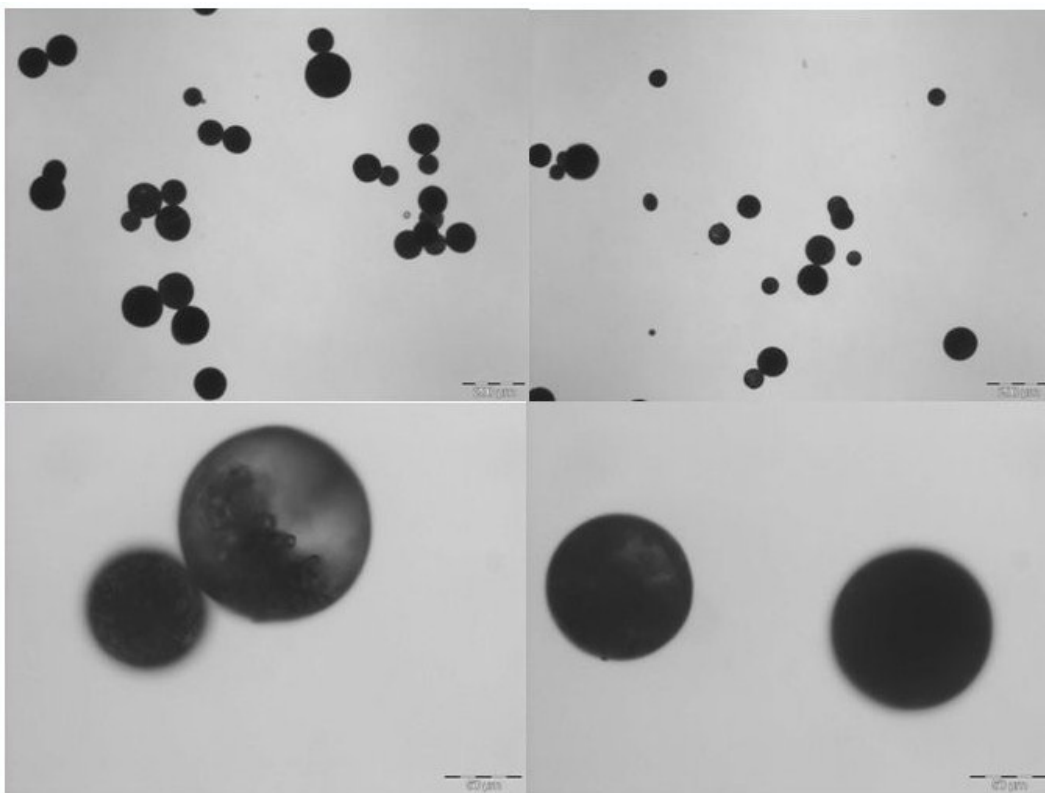


Fig.3.51- Microcápsulas produzidas no teste 23, analisadas sem surfactante.

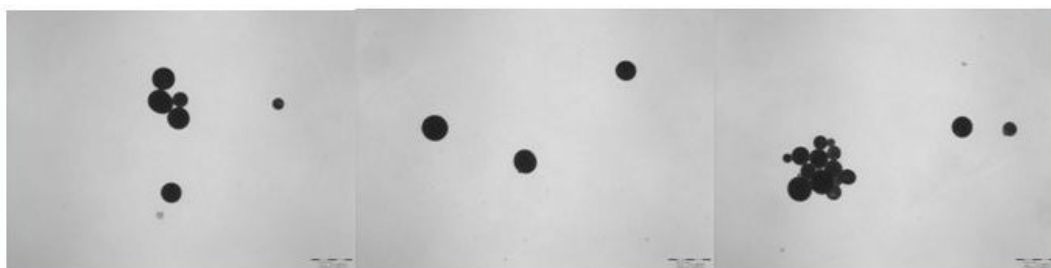


Fig.3.52- Microcápsulas produzidas no teste 23, analisadas com surfactante.

Teste 28

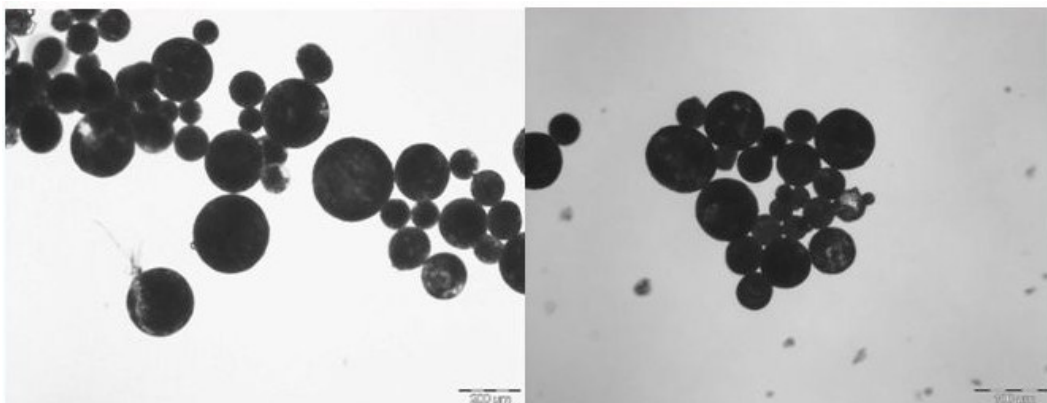


Fig.3.53- Microcápsulas produzidas no teste 28, analisadas sem surfactante.

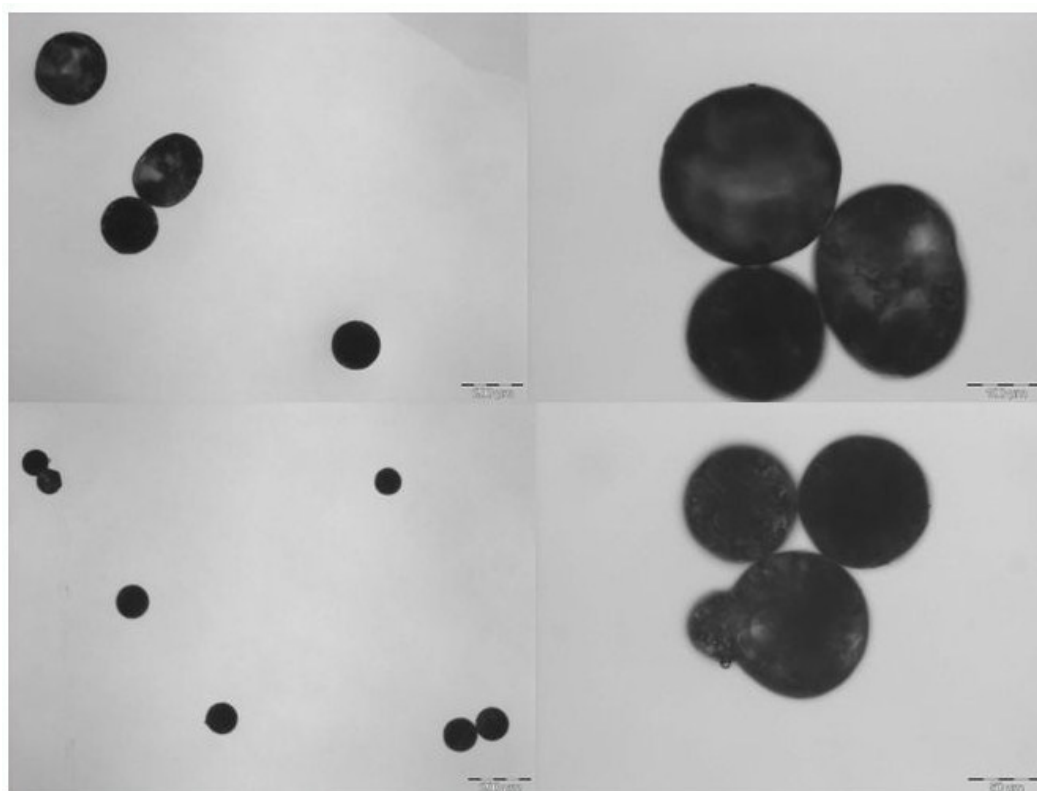


Fig.3.54- Microcápsulas produzidas no teste 28, analisadas com surfactante.

Teste 29

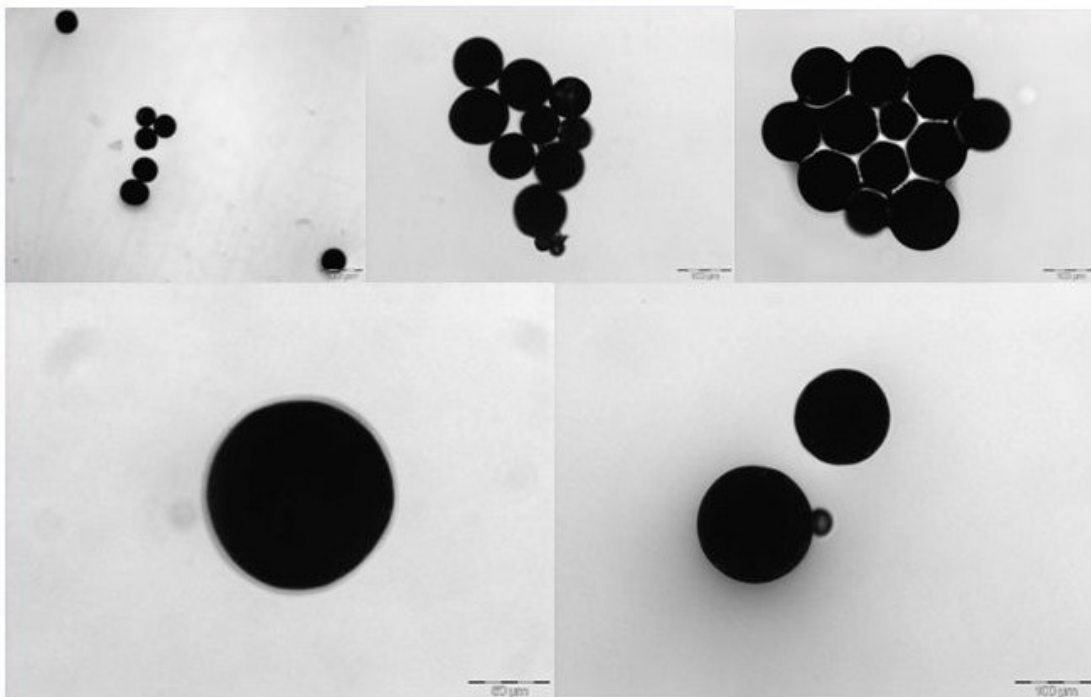


Fig.3.55- Microcápsulas produzidas no teste 29, analisadas sem surfactante.

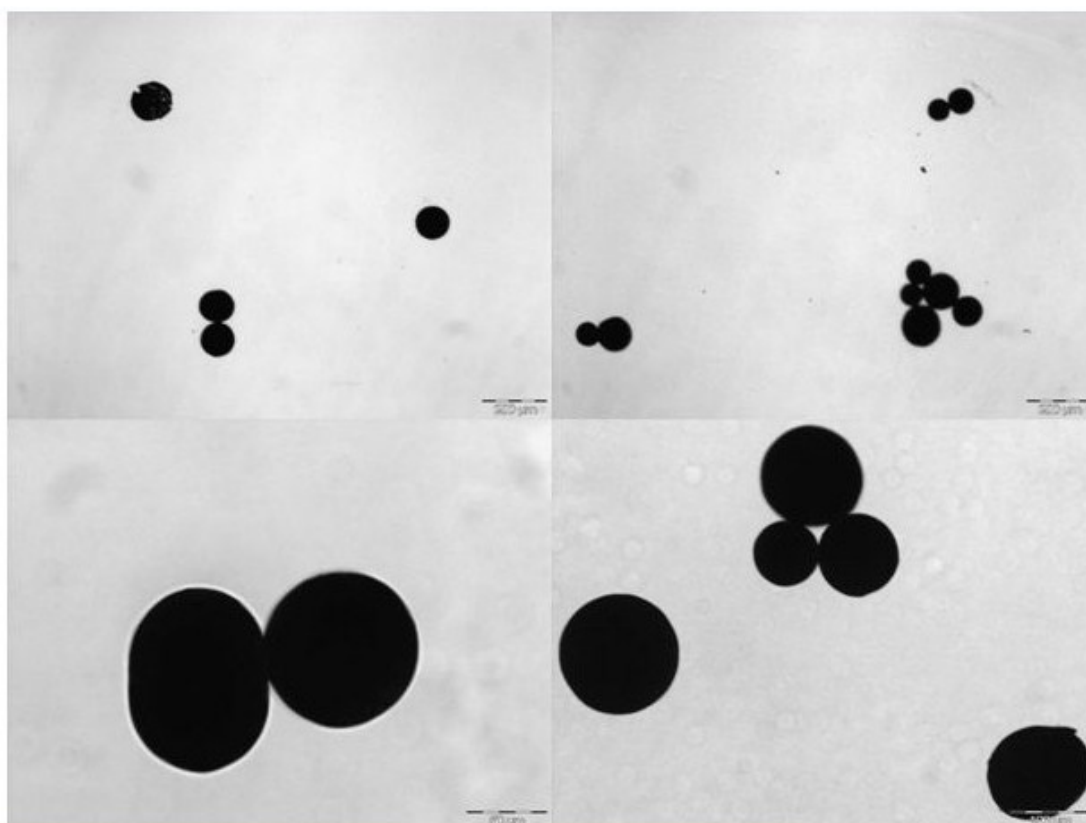


Fig.3.56- Microcápsulas produzidas no teste 29, analisadas com surfactante.

Teste 30

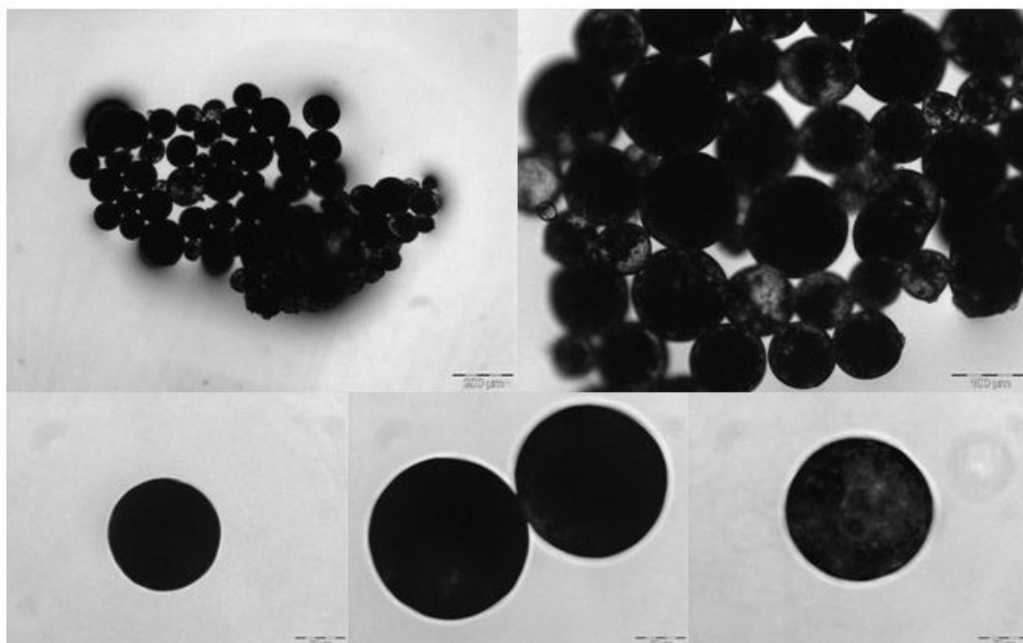


Fig.3.57- Microcápsulas produzidas no teste 30, analisadas sem surfactante.

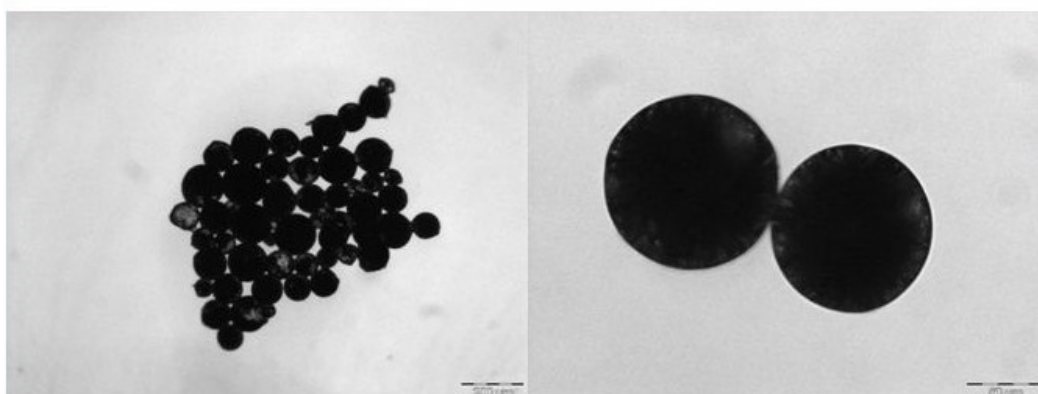


Fig.3.58- Microcápsulas produzidas no teste 30, analisadas com surfactante.

Teste 32

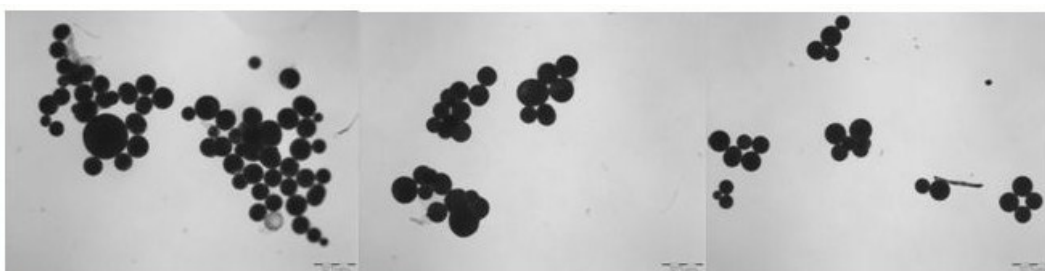


Fig.3.59- Microcápsulas produzidas no teste 32, analisadas sem surfactante.

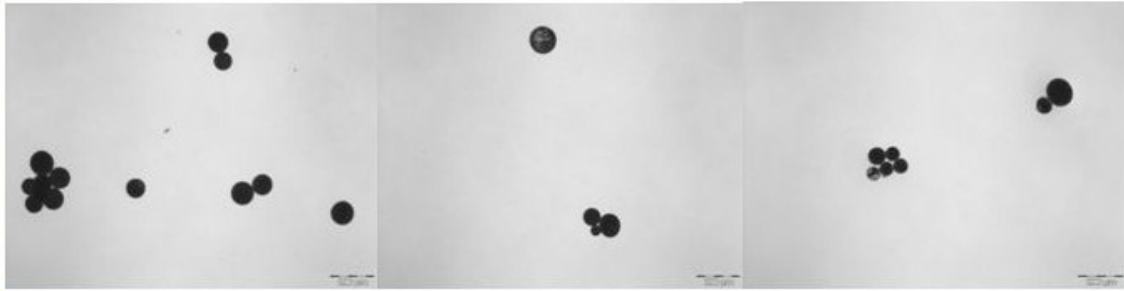


Fig.3.60- Microcápsulas produzidas no teste 32, analisadas com surfactante.

As microcápsulas produzidas em todos os testes apresentam maior aglomeração quando analisadas sem surfactante, como se pode verificar nas fig.s 3.49 a 3.60 o que vem comprovar os resultados obtidos para a determinação de tamanhos, tabela 3.5, onde se verifica que ao aplicar ultra-sons as partículas apresentam um tamanho inferior devido à desagregação.

De um modo geral as microcápsulas formadas são esféricas e regulares. Contudo uma análise mais cuidada das imagens obtidas para o teste 29, teste conduzido a 1000 rpm e com 5,94ml de surfactante, fig. 3.56, mostram algumas microcápsulas rebentadas, o que poderá explicar a baixa eficiência de encapsulação.

As imagens obtidas para o teste 32, apresentam partículas esféricas aglomeradas e muito pequenas, o que está de acordo com os valores obtidos na determinação de tamanhos e que constam da tabela 3.5.

3.3 - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O processo de microencapsulação desenvolvido permitiu a produção de microcápsulas pequenas e esféricas, como se pode observar nas figuras 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 e 3.5, e com uma estrutura interior esponjosa (fig.3.5).

A análise da determinação dos tamanhos para as microcápsulas produzidas nos testes 19 e 20 (tabela 3.2) e a observação das imagens obtidas na microscopia (figuras 3.1, 3.2,

3.3 e 3.4), permitem verificar que as microcápsulas produzidas no teste 20 são mais pequenas do que as obtidas para o teste 19. A aplicação de ultra-sons às amostras na determinação dos tamanhos não resultou em alteração desses mesmos tamanhos, como se pode verificar na tabela 3.2. Esta diferença de tamanhos observada, não sendo esperada, poderá ser devida a alguma pequena alteração no processo experimental, nomeadamente na posição do agitador, o que se traduziu na produção de partículas com tamanhos diferentes.

Os valores do potencial zeta obtidos: -13,0 mV para o teste 19 e -9,8mV para o teste 20 (tabela 3.2), mostram de acordo com o descrito em 2.2.2.2, que as microcápsulas produzidas são instáveis, tendo tendência a agregar.

Por outro lado, a análise destes valores em conjunto com os gráficos do potencial zeta (Anexo VII) e imagens SEM, permite pensar que a parede das microcápsulas é constituída por uma mistura de etilcelulose e aspirina. Assim, como no teste 20, a quantidade de aspirina usada para saturar a fase contínua foi superior à utilizada no teste 19, o potencial zeta obtido para o teste 20 é inferior em valor absoluto, ao obtido para o teste 19, uma vez que a aspirina existente na superfície (e no interior) das microcápsulas não se difunde tão facilmente para a fase contínua, contribuindo assim para a diminuição do valor absoluto do potencial zeta.

A mesma justificação poderá ser dada para a obtenção de um valor de eficiência de encapsulação superior para o teste 20 comparativamente ao obtido para o teste 19: 16,6% e 13,3%, respectivamente (tabela3.1).

A realização do teste 2 teve como objectivo uma possível comparação com os testes de monitorização realizados no Mastersizer, uma vez que a fracção de fase dispersa, ϕ_{FD} , usada foi a mesma.

Foram retiradas amostras ao longo do processo e observadas ao microscópio (fig.3.7, 3.8, 3.9 e 3.10) permitindo visualizar as microgotas formadas no início da emulsão (fig.3.7) que se transformam em microcápsulas (fig.3.10), por evaporação do solvente.

A observação das microcápsulas produzidas neste teste (depois de filtradas e secas), fig.3.6, mostra microcápsulas rebentadas, o que poderá ter contribuído para a baixa eficiência da encapsulação e para o baixo teor de aspirina encapsulada.

O rendimento obtido para o processo foi baixo (54,5%). As amostras retiradas ao longo do processo para observação ao microscópio, poderão ter contribuído para a obtenção deste valor.

Monitorização da formação das microcápsulas

Os primeiros testes de monitorização da formação das microcápsulas, no Mastersizer, foram feitos sem aspirina. As microcápsulas de etilcelulose obtidas são esféricas com um valor de potencial zeta de -40,7 mV, próximo do determinado para a etilcelulose (gráfico VII.1 do Anexo VII) e com um d_{50} de 65,5 μ m (tabela 3.5). Assim, com uma velocidade de rotação de 750rpm e com uma quantidade de surfactante de 3,7ml, foi possível produzir partículas bem formadas, esféricas (fig.s.3.48 e 3.49) e muito pequenas.

A representação gráfica da evolução dos diâmetros d_{10} , d_{50} e d_{90} , com o tempo, permite observar um crescimento das microcápsulas até cerca de 195min, mantendo-se a partir desse tempo, o seu tamanho, aproximadamente constante.

No caso da formação de microcápsulas com aspirina, as curvas de distribuição de tamanhos para o teste realizado a 1000rpm e com 4,32ml de surfactante, teste 23, permitem visualizar o crescimento das microcápsulas, verificando-se um crescimento acentuado na emulsificação, fig.3.16, correspondente à formação e crescimento das microgotas. No final da evaporação a distribuição de tamanhos é unimodal, sendo a curva de distribuição de tamanhos estreita (span de 0,89).

A formação e crescimento das microgotas iniciada na pré-emulsificação continua durante a fase de emulsificação, como pode ser observado nos gráficos de evolução dos diâmetros com o tempo, fig.s.3.18, 3.19 e 3.20 (para 5min de emulsificação d_{50} é 41,827 μ m e ao fim de 15min de emulsificação d_{50} é 69,969 μ m).

Durante a evaporação continua a verificar-se um aumento do tamanho das micropartículas, significando que o processo é dinâmico ocorrendo continuamente

quebra e coalescência das gotas. Para um tempo de aproximadamente 180 min as microcápsulas estabilizam e a partir desse tempo diminuem ligeiramente de tamanho correspondendo à evaporação do solvente que origina um decréscimo de tamanho, provavelmente em resultado de uma compactação das paredes das microcápsulas. É também evidente, examinando as distribuições de tamanho das microcápsulas e os valores de d_{90} no período de evaporação, a partir de 90 minutos, a existência de fenómenos de aglomeração que também foram observados ao microscópio (fig.s. 3.22, 3.23, 3.51 e 3.52).

As microcápsulas resultantes deste teste são esféricas, bem formadas, regulares, pequenas e com tendência para aglomerar, como se pode verificar pelos valores obtidos para d_{10} , d_{50} e d_{90} com e sem ultra-sons (tabela 3.5).

Influência da variação da velocidade de rotação

A comparação dos testes 22, realizado com uma velocidade de rotação de 750 rpm, e 23, realizado com uma velocidade de rotação de 1000rpm, permite concluir que uma maior velocidade de rotação origina microcápsulas mais pequenas (fig.s. 3.29, 3.30 e 3.31).

No teste 22, para d_{90} e para um tempo superior a 85min, verificou-se agregação das microcápsulas. Esta agregação das microcápsulas é confirmada na determinação de tamanhos, tabela 3.5, ao submeter a amostra a ultra-sons, os valores obtidos para os diferentes diâmetros decrescem significativamente, d_{90} sem ultra-sons é de 594,013 μ m e depois de aplicar ultra-sons é de 205,729 μ m.

Quando as microcápsulas foram produzidas com uma velocidade de 1250 rpm, teste 28, durante a emulsificação formam-se microgotas muito pequenas, devido à elevada velocidade de rotação, Anexo VI, mas logo após a emulsificação verificou-se agregação. Tal poderá ser explicado pela elevada velocidade de rotação que origina mais choques entre as partículas levando à sua agregação, e pelo facto de quanto mais pequenas forem as partículas mais tendência terão para agregar, tendo em conta o baixo valor do potencial zeta.

Influência do aumento da quantidade de surfactante

Ao aumentar a quantidade de surfactante para 5,94ml, teste 29, durante a emulsificação formam-se microgotas mais pequenas do que as formadas com 4,32ml de surfactante (teste 23). Porém, logo no início da evaporação as microgotas agregam.

Aumentando ainda mais a quantidade de surfactante, 6,15ml (teste 30) verifica-se agregação logo no início da evaporação. Na emulsificação as microgotas são maiores do que as obtidas nos testes 23 e 29, contrariamente ao expectável o que poderá ser devido ao aumento de volume da pré-emulsão com a adição desta quantidade de surfactante, mantendo, no entanto, as mesmas condições de agitação.

Por esse motivo foi realizado um teste, 32, com 6,15ml de surfactante e aumentando a velocidade de rotação para 1250rpm. Na emulsificação as microgotas formadas são efectivamente mais pequenas, mas no início da evaporação agregam. Aparentemente o aumento da quantidade de surfactante fez diminuir a tensão superficial da fase dispersa permitindo a obtenção de gotas mais pequenas, mas a quantidade adicionada não é suficiente para criar uma barreira hidrodinâmica que impeça a agregação durante a etapa de evaporação. Contudo, uma vez secas as partículas, as microcápsulas produzidas com mais surfactante são efectivamente mais pequenas (tabela 3.5).

A comparação dos testes 28 e 32, ambos realizados com velocidade de rotação de 1250 rpm mas quantidades de surfactante diferentes, 4,32ml e 6,15ml, respectivamente (fig.s 3.44, 3.45 e 3.46), permite verificar que apesar de ocorrer agregação em ambos os testes, no teste 32 as partículas agregadas são maiores. Porém, as microcápsulas formadas neste teste depois de lavadas e secas apresentam um tamanho inferior (tabela 3.5). Assim, apesar da existência de agregação, devida aos choques entre as partículas, se este ocorre apenas na fase de evaporação (após as partículas já possuírem uma parede sólida), essa agregação é irreversível.

Verificou-se, da análise da tabela 3.5, que amostras com valores de Potencial Zeta mais baixos em valor absoluto, têm valores de eficiência de encapsulação mais altos, o que leva a concluir que as paredes das microcápsulas são constituídas por etilcelulose e também por aspirina.

CAPÍTULO 4 - CONCLUSÕES E PROPOSTAS PARA TRABALHO FUTURO.

O processo de microencapsulação desenvolvido permite produzir microcápsulas pequenas, esféricas e com interior esponjoso.

Da análise dos valores de Potencial Zeta, dos valores obtidos para a eficiência da encapsulação e das imagens SEM é possível concluir que a parede das microcápsulas é constituída por etilcelulose e aspirina.

Os valores de potencial Zeta e as distribuições de tamanho obtidas para as amostras permitem ainda concluir que as microcápsulas formadas, não são estáveis, tendo tendência a agregar.

A hidrodinâmica no Mastersizer (equipamento de LDS), onde foi feita a monitorização da formação das microcápsulas, é completamente diferente da hidrodinâmica obtida com o agitador mecânico, não se podendo por esse motivo comparar testes efectuados fora e no Mastersizer.

Os testes de monitorização da formação das microcápsulas, efectuados no Mastersizer, usando a técnica de difração laser, permitiram concluir que a essa monitorização é possível, mesmo para um sistema complexo como o que foi objecto deste estudo. Assim, conseguiu monitorizar-se a formação dinâmica das microgotas com quebra e coalescência a ocorrer em simultâneo, originando um aumento de tamanho, até ser atingido o equilíbrio, altura a partir da qual apenas há evaporação do solvente, com consequente diminuição de tamanho das microcápsulas.

O facto da hidrodinâmica do Mastersizer favorecer a agregação das micropartículas, introduziu dificuldades adicionais, fazendo com que alguns testes não fossem conclusivos, nomeadamente no referente ao aumento da quantidade de surfactante onde era expectável que as microcápsulas formadas fossem mais pequenas, o que não ficou demonstrado devido à agregação das microcápsulas durante a monitorização.

No referente à variação da velocidade de rotação foi possível monitorizar a formação das microcápsulas aumentando a velocidade de rotação no Mastersizer, de 750 rpm para 1000 rpm, o que origina partículas mais pequenas. Porém, ao aumentar mais a velocidade de rotação, as microgotas formadas na emulsificação são mais pequenas e as

microcápsulas formadas agregam mais, em resultado dos choques entre as partículas e do baixo potencial zeta.

O facto de no processo de fabrico ser necessário fazer pré-emulsão, fez com que a monitorização apenas fosse feita a partir da emulsificação, perdendo-se alguma informação inicial.

Assim, como sugestão de trabalho futuro seria interessante monitorizar a formação das microcápsulas desde o início do processo, e tentar otimizar o processo no sentido de adequar a velocidade de rotação e a quantidade de surfactante de forma a minimizar a agregação.

Para melhor controlar a hidrodinâmica no sistema de formação das microcápsulas será conveniente adoptar o equipamento de LDS acoplando-o a um sistema de mistura externo, onde se produzirão as microcápsulas, cuja hidrodinâmica se consegue controlar mais facilmente. Assim, a formação das microcápsulas não ocorreria na unidade de preparação do Malvern Mastersizer (unidade Hydro 2000MU), mas num sistema exterior devidamente dimensionado, o qual se ligaria depois directamente à unidade de medida e aquisição de sinal. Esta estratégia já foi seguida anteriormente em estudos de cristalização (Jager et al., 1992).

Parâmetros como o rendimento do processo, que no presente trabalho não foram objecto de estudo, poderiam também ser melhorados.

Por outro lado o estudo do efeito da variação da temperatura de evaporação na formação e na morfologia final das partículas, bem como a alteração do solvente que originará um processo produtivo distinto, são também temas interessantes a desenvolver.

Um outro aspecto que será necessário melhorar no futuro é impedir a deposição de partículas na zona de medida do equipamento, o que leva à perda de alguma informação. Para obviar a este fenómeno será possível, no futuro, utilizar janelas, na zona de medida, revestidas de uma película anti-aderente.

Um outro trabalho interessante e muito importante seria a monitorização da formação de microcápsulas adequando a produção dessas microcápsulas a um fim terapêutico, estudando tamanhos e morfologia, perfis e velocidades de libertação, bem como cristalinidade do fármaco encapsulado.

BIBLIOGRAFIA

Allhenn, D.; Lamprecht, A. **2011**. *Microsphere Preparation Using the Untoxic Solvent Glycofurol*. Pharm Res 28:563–571.

Amass, W.; Amass, A.; Tighe, B. **1998**. *A review of biodegradable polymers: uses, correct development in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of polymers and recent advances in biodegradation studies*. Polym. Int. 47: 89–144.

André-Abrant, A.; Taverdet, J.; Jay J. **2001**. *Microencapsulation par évaporation de solvent*. European Polymer Journal 37: 955-963.

Antunes, E.; **2009**. *Flocculation studies in papermaking*, PhD Thesis, Dep. Eng. Quimica, FCTUC, Portugal.

Antunes, E.; Ferreira, P.; Rasteiro, M.G.; Garcia, F. A. P. **2010**. *Evaluation of Polyelectrolyte Performance on PCC Flocculation Using the LDS Technique*. Particulate Science and Technology, 28: 1–16.

Bastos, D. S. **2007**. *Produção e caracterização de filme alimentício com antioxidante aprisionado*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro- Brasil.

Belhabri, M.; Legrand, J.; Le Sauze, N.; Arhaliass, A. **2004**. *On-line Determination of Particle Size Distributions in Flowing Dispersions*. Part. Part. Syst. Charact. 21: 365–37.

Benita, S. **2006**. *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*. 2nd. ed. (Drugs and the pharmaceutical sciences ; v. 158)

Bhardwaj, S. B.; Shukla, A. J.; Collins, C. C. 1995. *Effect of varying drug loading on particle size distribution and drug release kinetics of verapamil hydrochloride microspheres prepared with cellulose esters.* Journal of Microencapsulation 12(1):71-81

Coimbra, P.; Sousa, H.; Gil, M. H. 2008. *Preparation and characterization of flurbiprofen-loaded poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microspheres.* Journal of Microencapsulation, May; 25(3): 170–178

Chung, T.W.; Huang, Y. Y.; Yi-Ze, L. 2001. *Effects of the rate of solvent evaporation on the characteristics of drug loaded PLLA and PDLLA microspheres.* International Journal of Pharmaceutics 212:161–169

Cunha, R.E.P. 2007. *Modelagem Matemática da Separação Gravitacional de Emulsões de Petróleo,* Dissertação de Mestrado, UNIT, Brasil.

Dash, V.; Mishra, S. K. ; Singh , M. ; Goyal, A. K. ; Rath ,G. 2009. *Release Kinetic Studies of Aspirin Microcapsules from Ethyl Cellulose, Cellulose Acetate Phthalate and their Mixtures by Emulsion Solvent Evaporation Method-* Sci Pharm. 78: 93–101

Della Porta, G.; Falco, N.; Reverchon, E. 2011 . *Continuous Supercritical Emulsions Extraction: A New Technology for Biopolymer Microparticles Production.* Biotechnology and Bioengineering, Vol. 108, No. 3, March.

Dias, J.A.2004. *A análise sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos.*

Dziezak, J.D. 1988. *Microencapsulation and encapsulated ingredients.* Food Technology. 42 (4): 136-151.

Elkharraz, K.; Ahmed, A. R.; Dashevsky, A.; Bodmeier, R. 2011. *Encapsulation of water-soluble drugs by an o/o/o-solvent extraction microencapsulation method.* International Journal of Pharmaceutics 409: 89–95

Farago, P. V.; Sá, B. C; Perusse, C. A.; Guterres, S., Pohlmann, A. R.; Zawadzki, S.F. **2006.** Micropartículas de *POLI(HIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO)* como sistema de Liberação de cloridrato de metformina: obtenção e carterização. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 15 a 19 de Novembro de 2006, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.

Feczko, T.; Varga, O.; Kovács, M. ; Vidóczy, T.; Voncina, B. **2011.** *Preparation and characterization of photochromic poly(methyl methacrylate) and ethyl cellulose nanocapsules containing a spirooxazine dye.* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 222: 293– 298.

Fredenberg, S.; Wahlgren, M.; Reslow, M.; Axelsson, A. **2011.** *The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems—A review.* International Journal of Pharmaceutics 415: 34– 52.

Freitas, S.; Merkle, H. P., Gander, B. **2004.** *Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology.* J. Contr. Rel. 102: 313–332.

Freytag, T.; Dashevsky, L.; Hardee, G.E., Bodmeier, R. **2000.** *Improvement of the encapsulation efficiency of oligonucleotide-containing biodegradable microspheres.* Journal of Controlled Release 69: 197–207.

Gasparini, G.; R.G. Holdich, R.G. ; Kosvintsev, S.R. **2010.** *PLGA particle production for water-soluble drug encapsulation: Degradation and release behaviour* Colloids and Surfaces B. Biointerfaces 75: 557–564

Heiskanen, Harri; Denfil, Peter; Hurme, Markku; Pitkanen, Päivi. **2010.** *Effect of emulsification conditions on the proprieties of microspheres prepares by solvent extraction process.* Chem. Eng. Technol., 33, nº10:1635-1644.

Henderson, R. K.; Jimenez-Gonzalez, C.; Constable, D. J. C; Alston, S. R.; Inglis, G. G. A.; Fisher, G.; Sherwood, J.; Binksa, S. P.; Curzons, A. D. **2011.** *Expanding GSK's solvent selection guide – embedding sustainability into solvent selection starting at medicinal chemistry.* Green Chem., 13, 854.

Iwunze, M.O., 2008. *Absorptiometric Determination of Acetylsalicylic Acid in Aqueous Ethanolic Solution.* Analytical Letters, 41: 2944–2953.

Jager, J.; Herman J. M. **1992.** *Control of industrial crystallizers.* Powder Technology, 69: 11-20.

Jeffery, H.; Davis, S. S.; O'Hagan, D.T. **1991.** *Preparation and degradation of poly(lactide-co-glycolide) microspheres.* J. Contr. Rel. 77, 169–175.

Katou, H. ; Wandrey, A. J.; Gander, B. **2008.** *Kinetics of solvent extraction/evaporation process for PLGA microparticle fabrication.* International Journal of Pharmaceutics 364: 45–53

Khalil, A.; Puel, F.; Chevalier, Y.; Galvan, J. M.; Rivoire, A.; Klein J. P. **2010.** *Study of droplet size distribution during an emulsification process using in situ video probe coupled with an automatic image analysis.* Chemical Engineering Journal 165: 946–957.

Khidr, S H; Niazy, E M; El-Sayed, Y M. **1998.** *Development and in vitro evaluation of sustained release meclofenamic acid microspheres.* Journal of Microencapsulation 15(2):153-162.

Khoe, S.; Yaghoobian, M. **2009.** *An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion.* European Journal of Medicinal Chemistry 44: 2392–2399

Kietzmann, D.; Béduneau, A.; Yann P., Lamprecht, A. 2009. *pH-sensitive microparticles prepared by an oil/water emulsification method using n-butanol.* International Journal of Pharmaceutics 375: 61–66.

Klugea, J.; Fusaroa, Francesco; Casasa, N.; Mazzotti, M.; Muhrerb,G. 2009. *Production of PLGA micro- and nanocomposites by supercritical fluid extraction of emulsions: I. Encapsulation of lysozyme.* J. of Supercritical Fluids 50:327–335

Li, M.; Poncelet, D.; Rouaud, O. 2007. *Microencapsulation by solvent evaporation* XVth International Workshop on Bioencapsulation, Vienna.

Li, M.; Poncelet, D.; Rouaud, O. 2008. *Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches.* International Journal of Pharmaceutics 363: 26-39

Li, Wen-I; Anderson, K. W.; DeLuca, P. P. 1995. *Kinetic and thermodynamic modeling of the formation of polymeric microspheres using solvent extraction/evaporation method* Journal of Controlled Release 37: 187-198

Li, Wen-I; Anderson, K. W.; Meththa R. C.; DeLuca, P. P.1995.a *Prediction of solvent removal profile and effect on properties for peptide-loaded PLGA microspheres prepared by solvent extraction/evaporation method.* Journal of Controlled Release 37 (1995) 199-214.

Ma, Z.; Merkus, H. G.; Veen, H. G.; Wong, M.; Scarlett, B. 2001. *On-line Measurement of Particle Size and Shape using Laser Diffraction.* Part. Syst. Charact. 18: 243–247

Maa, Y.F., Hsu, C.1996. *Microencapsulation reactor scale-up by dimensional analysis.* J. Microencap. 13: 53–66.

Maaß, S.; Rojahn, J.; Hänsch, R.; Kraume, M. **2011.** *Automated drop detection using image analysis for online particle size monitoring in multiphase systems.* Computers and Chemical Engineering 45: 27– 37.

Mahboubian, A.; Hashemein, S. K.; Moghadam, S.; Atyabi, F.; Dinarvand, R., **2010.** *Preparation and In-vitro Evaluation of Controlled Release PLGA Microparticles Containing Triptoreline.* Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 9 (4): 369-378

Mamede, L.C.; Caetano, B.L.; Rocha, L.A.; Ferreira, E.M.; Cestari, A., Kfuri C.R.; Ciuffi, K.J.; Calefi, P.S.; Mello, C.; Cunha, W.R.; Nassar, E.J. **2006.** *Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos.* Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., 27: 151-155.

Mao, S.; Shi, Y.; Li, L.; Xu, J.; Schaper, A.; Kissel, T. **2008.** *Effects of process and formulation parameters on characteristics and internal morphology of poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres formed by the solvent evaporation method.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 68: 214–223

Matioli, G.; Rodriguez-Amaya, D. B. **2003.** *Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas.* Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, . 23(Supl): 102-105

Melo, E. B.; Minneto, A.; Violin, I.; Braga, R.S.; Andrade, E.; Mariot, S.; Schneider, D. S. L.; Godi, M. F. S.; Lucca, P. S. R. **2006.** *Medicamentos Similares e Saúde Pública: Controle de Qualidade Físico-Químico de Comprimidos de Similar de Ácido Acetilsalicílico do Estoque da Farmácia Básica do Município de Cascavel, PR, Brasil.* Acta Farm. Bonaerense 25 (3): 344-50.

Martins, D.; Costa, F. T. M.; Brocchi, M.; Dura'n, N. **2011.** *Evaluation of the antibacterial activity of poly-(D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles containing violacein.* J. Nanopart. Res.,13: 355–363

Meng, F.T., Ma, G.H., Liu, Y.D., Qiu, W., Su, Z.G., 2004. *Microencapsulation of bovine hemoglobin with high bio-activity and high entrapment efficiency using a W/O/W double emulsion technique.* Colloids Surf. B 33: 177–183.

Nasr, M.; Awad, G. A.; Mansour, S.; Shamy, A.; Mortada, N. D. 2010. *A Reliable Predictive Factorial Model for Entrapment Optimization of a Sodium Bisphosphonate into Biodegradable Microspheres.* DOI 10.1002/jps.22297

Oliveira, A. G.; 2010. *Caracterização da Distribuição do Tamanho de Gotas em Emulsões Água e Óleo Utilizando Diferentes Técnicas de Medição.* Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Itajubá, Departamento Engenharia Mecânica, Brasil.

Pachuau, L.; Mazumder, B. 2009. *A study on the effects of different surfactants on Ethylcellulose microspheres.* International Journal of Pharm Tech Research, 1(4): 966-971.

Papini, C.J., 2003. *Estudo Comparativo de determinação do tamanho de partículas.* Dissertação de mestrado. USP, São Paulo, Brasil.

Pereira, J. C. 2010. *Estudo do comportamento de nanopartículas de dióxido de titânio em diferentes suspensões.* Dissertação de mestrado. Universidade Nova de Lisboa.

Rasteiro, M.G.; Garcia, F.A.P; Ferreira, P.; Blanco, A.; Negro, C.; Antunes E. 2008. *The use of LDS as a tool to evaluate flocculation mechanisms.* Chemical Engineering and Processing 47: 1323-1332.

Rasteiro, M. G., F. A. P. Garcia, and M. del Mar Pere'z. 2007. *Applying LDS to monitor flocculation in papermaking.* Part. Sci. Technol. 25 (3): 303–308.

Rawat, A.; Diane J. B., Diane J. 2010. *Effect of ethanol as a processing co-solvent on the PLGA microsphere characteristics.* International Journal of Pharmaceutics 394: 99–105

Renliang Xu. 2000. Particle characterization: Light scattering Methods. Cap.3. Kluwer Academic Publishers.

Ritter, J.; Kraume, M. 2000. *On-line Measurement Technique for Drop Size Distributions in Liquid/Liquid Systems at High Dispersed Phase Fractions.* Chem. Eng. Technol. 23, 7.

Rosca, I. D.; Watari, F.; Uo, M. 2004. *Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation.* Journal of Controlled Release 99: 271–280.

Rojas, 2007. *Emulsification en Cuve Agitée :Rôle du Protocole Opérateur sur l'Inversion de Phase Catastrophique,* These, Toulouse.

Scarfato, P.; Avallone, E.; Iannelli, P.; Aquino, R. P.; Lauro, M. R.; Rossi, A.; Acierno, D.; 2008. *Quercetin Microspheres by Solvent Evaporation: Preparation, Characterization and Release Behavior.* Journal of Applied Polymer Science, 109: 2994–3001.

Sah, H., 2000. *Ethyl formate—alternative dispersed solvent useful in preparing PLGA microspheres.* Int. J. Pharm. 195: 103–113.

Santos, A. B.; Ferreira, V. P.; Grosso, C. R. F. 2000. *Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de paprica.* Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento 3 (16): 26-30.

Santos, A. M. A. 2001. *O Tamanho das Partículas de Poeira Suspensas no Ar dos Ambientes de Trabalho.* Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais.

Santos, M. E.; Demiate, I. M.; Nagata, N.; 2010. *Determinação simultânea de amarelo de tartrazina e amarelo crepúsculo em alimentos via espectrofotometria de calibração multivariada.* Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 30(4): 903-909.

Schramm, L. L. 2006. *Emulsions, Foams, and Suspensions*, WILEY-VCH

Stulzer, H. K.; Silva, M. A. S. 2007. *Desenvolvimento e Avaliação de Comprimidos de Captopril de Liberação Prolongada.* Latin American Journal of Pharmacy 26 (2): 259-65.

Takishima, J.; Onishi, H.; Machida, Y. 2002. *Prolonged intestinal absorption of cephadrine with chitosan-coated ethylcellulose microparticles in rats.* Biol. Pharm. Bull. 25, 1498–1502

Wan, X.; Xu, J.; Xie, Xu-Ming; Guo, Bao-Hua. 2011. *Revealing formation process of microcapsules during in situ polymerization via confocal laser scanning fluorescence microscopy.* Colloid Polym. Science 289:1719–1728.

Wischke, C.; Schwendeman, S. P. 2008. *Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles.* International Journal of Pharmaceutics 364: 298–327

Yang, C., Y.; Tsay, S. Y.; Tsiang, C. C. 1999. *An enhanced process for encapsulating aspirin in ethyl cellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion.* J. Microencapsulation, 17 (3): 269-277.

Yang, C., Y.; Tsay, S. Y.; Tsiang, C. C.; 2000. *Encapsulating aspirin into a surfactant-free ethyl cellulose microsphere using non-toxic solvents by emulsion solvent evaporation technique.* J. microencapsulation, 2001, 18 (2): 223–236

Yang, Ching-Yao; Tsay, Sun-Yuan; Chen, Bor-Kuan. 2000a. *Application of gelatin encapsulating aspirin into ethyl cellulose microcapsule in an O/W emulsion.* Chem. Eng. Comm., 186: 241-255

Youan, B. B. C.; Hussain, A.; Nguyen, N. T. 2003. *Evaluation of Sucrose Esters as Alternative Surfactants in Microencapsulation of Proteins by the Solvent Evaporation Method.* *AAPS PharmSci*; 5 (2) Article 22

Zanetti, B. G.; Soldi, V.; Lemos-Senna, E. 2002. *Efeito da adição de polietilenoglicóis nas formulações de microesferas de acetobutirato de celulose sobre a eficiência de encapsulação da carbamazepina e morfologia das partículas.* *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 38 (2).

Zidan, A. S.; Rahman, Z.; Khan, M. A. 2010. *Online Monitoring of PLGA Microparticles Formation Using Lasentec Focused Beam Reflectance (FBRM) and Particle Video Microscope (PVM).* *The AAPS Journal*,12 (3).

ANEXO I

Procedimento de emulsificação/evaporação de solvente

1. Materiais e equipamentos

- 1.1- Copo de 800ml e copo de 50ml.
- 1.2- Copo de 600ml alto com chicanas.
- 1.3- Pipetas.
- 1.4- Magnetos.
- 1.5- Funil e proveta de 10ml.
- 1.6- Tinas de vidro.
- 1.7- Espátulas.
- 1.8- Papel de filtro.
- 1.9- Placas de aquecimento, Heidolph MR3001K
- 2.0- Termopares, Heidolph EKT 3001
- 2.1- Agitador mecânico, propeller, Heidolph RZR 2102
- 2.2 - Balança AG 204, Mettler Toledo.
- 2.3- Exsicador
- 2.4- Estufa, WTC Binder.
- 2.5- Sistema de filtração com vácuo
- 2.6- Peneiro 600 μm , Retsch.

2. Reagentes

- 2.1- Acetato de etilo, Fisher, PA.
- 2.2- Ácido acetil salicílico, Acofarma, > 99,0%.
- 2.3- Água destilada
- 2.4- Etilcelulose, Acros, 48%, 22cps.
- 2.5- Tween 80, Fisher

3. Preparação da FASE DISPERSA

- 3.1- Pesar rigorosamente cerca de 0,88 g de etilcelulose.

3.2- Medir 23ml de acetato de etilo e colocar num copo de 50ml, mergulhado num banho com temperatura controlada a 25°C. Manter sob agitação magnética de 500rpm.

3.3- Adicionar a etilcelulose ao acetato de etilo muito devagar para não formar aglomerados. Deixar agitar durante algum tempo até a etilcelulose estar dissolvida.

3.4- Pesar rigorosamente cerca de 0,44g de aspirina.

3.5- Adicionar a aspirina à fase dispersa e manter sob agitação até à dissolução da aspirina.

4. Preparação da FASE CONTÍNUA

4.1- Num copo de 800ml colocar 400ml de água destilada e adicionar 0,9g de aspirina. Agitar (700 rpm) e aquecer até 45°C para dissolver a aspirina. Depois da dissolução da aspirina, arrefecer até 25°C.

4.2- Adicionar 28ml de acetato de etilo, sob agitação magnética (500rpm) e mantendo a temperatura a 25°C.

5. Pré-emulsão

5.1- Retirar 35 ml de fase contínua para um copo de 600ml, copo alto, que se encontra mergulhado num banho com temperatura controlada de 25°C. (Neste copo foram colocada chicanas para amortecer o vórtice).

5.2- Adicionar 2ml de Tween 80, deixar 8 gotas que são colocadas no copo de 800ml, onde se encontra a restante fase contínua. Manter a temperatura a 25°C e agitação magnética 300rpm.

5.3- Adicionar a fase dispersa gota a gota.

5.3- Emulsificar durante 30 minutos, sob agitação (300rpm).

6. Emulsificação

6.1- Adicionar a restante fase contínua, copo de 800ml (onde foram colocadas e dissolvidas as 8 gotas de tween80, *ponto*5.2) na pré-emulsão (copo de 600ml mergulhado no banho a 25°C). Adicionar muito devagar com ajuda de uma vareta (método de decantação).

6.2- Marcar o nível da solução no copo de 600ml.

6.3- Emulsificar, sob agitação mecânica (rot=600rpm), durante 15 minutos a 25°C.

7. Aquecimento e evaporação

7.1 – Aquecer a emulsão a 50°C (temperatura set-point termopar = 50°C, temperatura da placa de agitação = 200°C), mantendo a agitação mecânica em 600rpm.

7.2- Depois de atingidos os 50°C, manter a emulsão durante 2h, para que o acetato de etilo evapore. O nível deve estar abaixo do volume de acetato de etilo adicionado em ambas as fases.

8. Filtração e lavagem das microcápsulas

8.1- Filtrar em vácuo, usando um filtro previamente levado a peso constante.

8.2- Lavar com água destilada, até não haver formação de espuma.

9. Secagem das microcápsulas

9.1- Colocar o filtro com as microcápsulas na estufa a 50°C, durante 24 h.

9.2- Retirar e colocar em exsiccador. Após 1h pesar.

9.3- Voltar a colocar na estufa a 50°C, durante uma hora.

9.4- Repetir 9.2. Se as pesagens não diferirem de 2mg, considerar as microcápsulas secas.

10. Peneiração das microcápsulas

10.1- Peneirar as microcápsulas secas, usando um peneiro com malha de 600µm.

10.2- Guardar as microcápsulas no exsiccador.

ANEXO II

Procedimento de emulsificação/evaporação de solvente para a monitorização

1. Materiais e equipamentos

1.1- Copo de 800ml e copo de 50ml.

1.2- Copo de 600ml.

1.3- Pipetas.

1.4- Magnetos.

1.5- Funil.

1.6- Tinas de vidro.

1.7- Espátulas.

1.8- Papel de filtro

1.9- Placa de aquecimento

2.0 - Termopares

2.1- Agitador mecânico

2.2- Micropipeta

2.3- Balança

2.4- Exsiccador

2.5- Estufa

2.6- Sistema de filtração com vácuo

2.7- Peneiro 600 μm , Retsch.

2.8- Banho térmico.

2. Reagentes

2.1- Acetato de etilo, Fisher, PA.

2.2- Ácido acetil salicílico, Acofarma, > 99,0%.

2.3- Água destilada

2.4- Etilcelulose, Acros, 48%, 22cps.

2.5- Tween 80, Fisher

3. Preparação da FASE DISPERSA

- 3.1- Pesar rigorosamente cerca de 0,43 g de etilcelulose.
- 3.2- Medir 11ml de acetato de etilo e colocar num copo de 50ml, mergulhado num banho com temperatura controlada a 25°C. Manter sob agitação magnética de 500rpm.
- 3.3- Adicionar a etilcelulose ao acetato de etilo muito devagar para não formar aglomerados. Deixar agitar durante algum tempo até a etilcelulose estar dissolvida.
- 3.4- Pesar rigorosamente cerca de 0,21 g de aspirina.
- 3.5- Adicionar a aspirina à fase dispersa e manter sob agitação até à dissolução da aspirina.

4. Preparação da FASE CONTÍNUA

- 4.1- Num copo de 800ml colocar 500 ml de água destilada e adicionar 1,2 g de aspirina. Agitar (700 rpm) e aquecer até 40°C para dissolver a aspirina. Depois da dissolução da aspirina, arrefecer até 25°C.
- 4.2- Adicionar 40 ml de acetato de etilo, sob agitação magnética (500rpm) e mantendo a temperatura a 25°C.

5. Pré-emulsão

- 5.1- Retirar 16,5ml de fase contínua para um copo de 100ml, que se encontra mergulhado num banho com temperatura controlada de 25°C.
- 5.2- Adicionar com micropipeta 4,32 ml de Tween 80. Deixar 15 gotas que são colocadas no copo de 1000ml, onde se encontra a restante fase contínua. Manter a temperatura a 25°C e agitação magnética 300rpm.
- 5.3- Adicionar a fase dispersa gota a gota.
- 5.3- Emulsificar durante 30 minutos sob agitação (400 rpm).

6. Preparação do equipamento

- 6.1- Lavar muito bem o equipamento com água.
- 6.2- Introduzir o programa de monitorização dos tamanhos de 5 em 5 minutos, durante 5h.
- 6.3- Alinhar o feixe de luz laser com uma solução, previamente preparada, de água saturada a 90% em aspirina.

7. Emulsificação

7.1- Verter a pré-emulsão para um copo de 600ml e adicionar a restante fase contínua, devagar usando uma vareta (copo de 1000ml, onde foram colocadas e dissolvidas as 15 gotas de tween80, *ponto*5.2). Manter a agitação magnética em 400rpm.

7.2- Marcar o nível da solução no copo de 600ml e colocar no LDS, dentro do copo que vai ter a água aquecida a 50°C.

7.3- Colocar no Mastersizer e iniciar o programa de monitorização.

8. Aquecimento e evaporação

8.1 – No final da 4ª aquisição ligar o banho a 50°C e deixar prosseguir a monitorização até ao final do programa.

9. Filtração e lavagem das microcápsulas

9.1- Filtrar em vácuo, usando um filtro previamente lavado a peso constante.

9.2- Lavar com água destilada, até não haver formação de espuma.

10. Secagem das microcápsulas

10.1- Colocar o filtro com as microcápsulas na estufa a 50°C, durante 24 h.

10.2- Retirar e colocar em exsiccador. Após 1h pesar.

10.3- Voltar a colocar na estufa a 50°C, durante uma hora.

10.4- Repetir 10.2. Se as pesagens não diferirem de 2mg, considerar as microcápsulas secas.

11. Peneiração das microcápsulas

11.1- Peneirar as microcápsulas secas, usando um peneiro com malha de 600µm.

11.2- Guardar as microcápsulas no exsiccador.

ANEXO III

Procedimento de análise da aspirina por espectrofotometria UV-Vis

1. Equipamento e material

- 1.1 - Balões volumétricos e pipetas volumétricas.
- 1.2 - Balança analítica.
- 1.3 - Placa de agitação.
- 1.4 - Espectrofotómetro UV-Vis, Beckman, DU650; e célula de quartzo de 10mm.

2. Reagentes

- 2.1 – Ácido acetil salicílico, Acofarma, > 99,0%.
- 2.2 – Ácido salicílico, Acofarma, > 99,0%.
- 2.3 – Etanol absoluto, PA.

3. Preparação das soluções para calibração

3.1 – Ácido acetilsalicílico (AAS)

3.1.1 - Solução stock de ácido acetilsalicílico: 0,9 g/L.

Pesar rigorosamente cerca de 0,09 g de ácido acetilsalicílico. Registrar a massa pesada. Colocar num balão volumétrico de 100ml, adicionar etanol e colocar em agitação até solubilizar. Aferir com etanol.

3.1.2 – Padrões de AAS

Padrão	Volume de Solução stock 3.1.1 (ml)	Volume Total etanol (ml)	C _{padrão} (g/L)
P ₁	1	25	0,0363
P ₂	2	25	0,0726
P ₃	3	25	0,1090
P ₄	4	25	0,1453
P ₅	5	25	0,1816

3.2 – Ácido salicílico (AS)

3.2.1 - Solução stock de ácido salicílico: 0,2 g/L.

Pesar rigorosamente cerca de 0,02 g de ácido salicílico. Registrar a massa pesada. Colocar num balão volumétrico de 100ml, adicionar etanol e colocar em agitação até solubilizar. Aferir com etanol.

3.2.2 – Padrões de AS

Padrão	Volume de Solução stock 3.2.1 (ml)	Volume Total etanol (ml)	C _{padrão} (g/L)
P ₁	1	25	0,0084
P ₂	2	25	0,0167
P ₃	3	25	0,0251
P ₄	4	25	0,0334
P ₅	5	25	0,0418

4. Preparação da amostra

4.1- Pesar rigorosamente uma das porções de amostra, resultantes da divisão prévia da amostra.

4.2- Dissolver em etanol, durante 2h.

5. Leituras no espectrofotómetro de UV-Vis

5.1- Curva de calibração AAS

5.1.1- Branco: Colocar etanol na célula de quartzo. Limpar muito bem a célula e colocar no espectrofotómetro. Fazer o varrimento do espectro do etanol com branco entre 800 e 200nm.

5.2.2 – Padrões de AAS: Colocar o padrão de menor concentração, P₁, na célula e fazer a leitura na mesma gama de comprimento de onda do branco. Registrar o valor das absorvâncias para 275nm e para 302nm. Repetir a leitura 3 vezes.

Repetir para os padrões P₂, P₃, P₄ e P₅, tendo o cuidado de lavar a célula com o padrão a ler, entre cada leitura.

5.2 - Curva de calibração AS

Repetir o 5.1.1 e 5.2.2 para os padrões de AS e registar os valores das absorvâncias para 302nm e para 275nm. Repetir as leituras 3 vezes.

5.2 – Amostra

Repetir 5.1.1.

Colocar a amostra na célula, previamente passada por etanol.

Registar o valor da absorvância para 275nm (referente ao AAS) e para 305nm (referente ao AS). Repetir as leituras 3 vezes.

6. Cálculos

6.1 – Traçar as curvas de calibração da absorvância vs concentração para o AS e para o AAS de acordo com 5.1 e 5.2.

6.2 – Cálculo da concentração de ácido acetil salicílico na amostra

A resolução do sistema

$$A_{275} = d_{AAS,275} C_{AAS} + d_{AS,275} C_{AS}$$

$$A_{302} = d_{AS,302} C_{AS}$$

Onde,

A_{275} – absorvância da amostra a 275nm

A_{302} – absorvância da amostra a 302nm

$d_{AAS,275}$ - declive da recta de calibração traçada com os padrões de AAS para 275nm

$d_{AS,275}$ - declive da recta de calibração traçada com os padrões de AS para 275nm

$d_{AS,302}$ - declive da recta de calibração traçada com os padrões de AS para 302nm

C_{AAS} – concentração de AAS (g/L)

C_{AS} - concentração de AS (g/L)

permite determinar as concentrações de AAS e de AS.

A concentração total de AAS na amostra corresponde à soma destas duas concentrações, após a conversão de C_{AS} em C_{AAS} .

$$C_{AAS \text{ total}} \text{ (g/L)} = C_{AAS} + C_{AS} * 180,14/138,123$$

ANEXO IV

CURVAS de CALIBRAÇÃO

IV.1 Aspirina em Etanol

Tabela IV.1- Absorvâncias dos padrões de AAS a 275 nm

Padrões	C _{AAS} (g/L)	Abs (275)			Abs méd(275)
1	0,03632	0,24051	0,24657	0,24288	0,24332
2	0,07264	0,47147	0,47294	0,47147	0,47196
3	0,10896	0,69934	0,69687	0,69872	0,69831
4	0,14528	0,92408	0,93245	0,91586	0,92413
5	0,18160	1,15536	1,14489	1,14317	1,14781

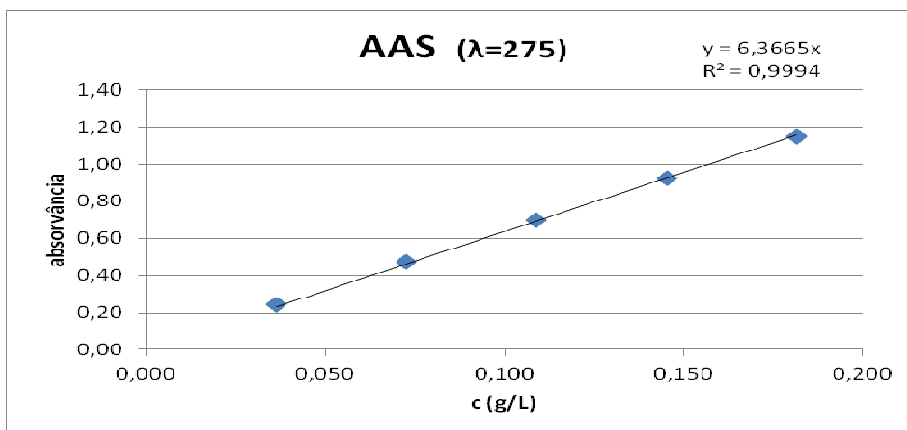


Fig.IV.1 - Calibração AAS ($\lambda=275$)

IV.2 Ácido salicílico em Etanol

Tabela IV.2.1- Absorvâncias dos padrões de AS a 302 nm

Padrões	C _{AS} (g/L)	Abs (302)			Abs méd(302)
1	0,00836	0,22981	0,22981	0,22999	0,22987
2	0,01672	0,44898	0,44492	0,45102	0,44831
3	0,02508	0,66543	0,67219	0,66209	0,66657
4	0,03344	0,88984	0,88031	0,88744	0,88586
5	0,04180	1,09929	1,10452	1,10059	1,10147

Tabela IV.2.2 - Absorvâncias dos padrões de AS a 275 nm

Padrões	C _{AS} (g/L)	Abs (275)			Abs méd(275)
1	0,00836	0,04705	0,04610	0,04624	0,04646
2	0,01672	0,08853	0,08824	0,08720	0,08799
3	0,02508	0,12997	0,13177	0,13243	0,13139
4	0,03344	0,17560	0,17651	0,17615	0,17609
5	0,04180	0,21871	0,21951	0,21750	0,21857

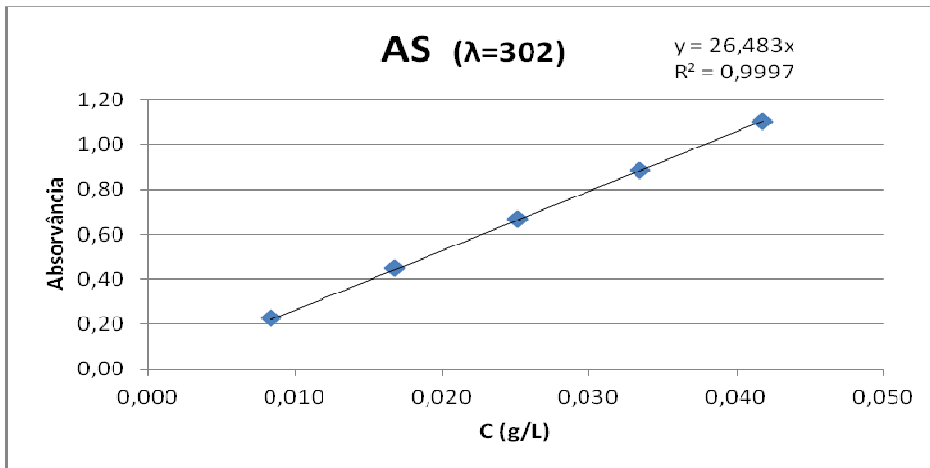


Fig.IV.2 - Calibração AS (λ=303)

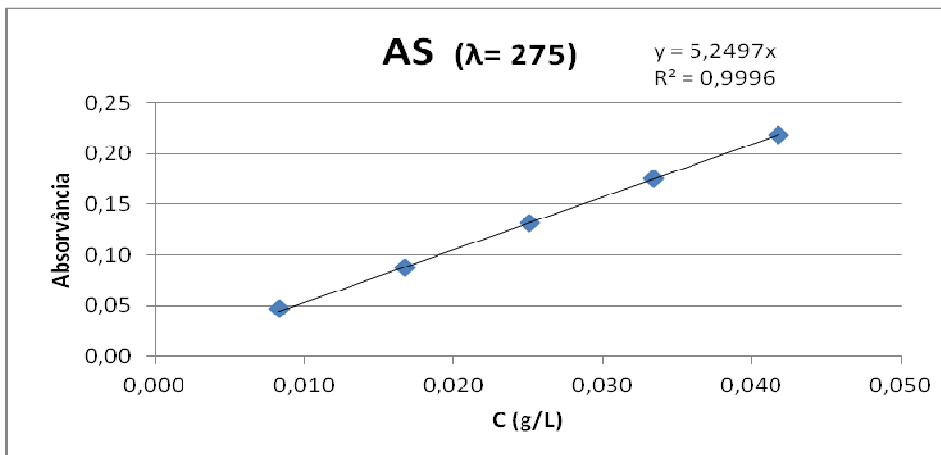


Fig.IV.3- Calibração AS (λ=275)

De IV.1 e de IV.2 resultam as seguintes equações que permitem determinar C_{AAS} e C_{AS}:

$$A_{275} = 6,3665 C_{AAS} + 5,2497 C_{AS}$$

$$A_{302} = 26,483 C_{AS}$$

ANEXO V

Cálculos da Eficiência da Encapsulação e da aspirina encapsulada

Nas tabelas V.1 e V.2 são apresentados os valores e os cálculos para a determinação da eficiência da encapsulação e percentagem de aspirina para as amostras 19, 20 e 2.

Tabela V.1- Cálculos UV-Vis amostras 19, 20 e 2.

amostra	c. onda	absorv. média	C_{AS} (g/L)	C_{AAS} (g/L)	C_{AAS} (g/L)
			$A(302) = 26,483 C_{AS}$	$A(275) = 6,3665 C_{AAS} + 5,2497 C_{AS}$	$C_{AAS\ total} (g/L) = C_{AAS} + C_{AS} * 180,14/138,123$
19	275	0,86415		0,1187	0,1456
	302	0,54597	0,0206		
20	275	0,92709		0,1196	0,1608
	302	0,83582	0,0316		
2	275	1,10358		0,1482	0,1879
	302	0,80607	0,0304		
2 dil.2x	275	0,58135		0,0787	0,1974
	302	0,40659	0,0154		

Tabela V.2 – Cálculos amostras 19, 20 e 2.

Am.	V_{etanol} (ml)	m_{AAS} (g) (no V_{etanol})	$m_{amostra}$ (g) (pesada para UV-Vis)	microcap. (g)	$m_{AAS\ encap.}$ (g) (no total das microcápsulas)	E.E. (%)	asp. (%)
19	50,00	0,00728	0,1186	0,9578	0,05880	13,31	6,14
20	50,00	0,00804	0,106	0,9655	0,07321	16,63	7,58
2	25,00	0,00493	0,094	0,2798	0,01469	8,53	5,25

Nas tabelas V.3 e V.4 são apresentados os valores e os cálculos para a determinação da eficiência da encapsulação e percentagem de aspirina para as amostras 22, 23, 28, 29, 30 e 32.

Tabela V.3 - Cálculos UV-Vis amostras 22, 23, 28, 29, 30 e 32

amostra	c. onda	absorv. média	C_{AS} (g/L)	C_{AAS} (g/L)	$C_{AAS\text{total}}$ (g/L)
			$A(302) = 26,483 C_{AS}$	$A(275) = 6,3665 C_{AAS} + 5,2497 C_{AS}$	$C_{AAS\text{total}}(g/L) = C_{AAS} + C_{AS} * 180,14/138,123$
23	275	0,37803		0,0509	0,0643
	302	0,27309	0,0103		
22	275	0,63512		0,0903	0,1053
	302	0,30481	0,0115		
28	275	0,99126		0,1430	0,1631
	302	0,40912	0,0154		
29	275	0,43788		0,0620	0,0727
	302	0,21859	0,0083		
30	275	0,40416		0,0566	0,0675
	302	0,22180	0,0084		
32 d2x	275	0,88385		0,1220	0,2972
	302	0,54054	0,0204		

Tabela V.4 – Cálculos amostras 23, 22, 28, 29, 30 e 32.

Am.	V_{etanol} (ml)	m_{AAS} (g) (no V_{etanol})	m_{amostra} (g) (pesada para UV-Vis)	microcap. (g)	$m_{AAS.\text{encap.}}$ (g) (no total das microcápsulas)	E.E. (%)	asp. (%)
23	25,00	0,00161	0,0198	0,1735	0,01409	6,46	8,12
22	25,00	0,00263	0,0302	0,2859	0,02492	11,70	8,72
28	25,00	0,00408	0,0318	0,1967	0,02522	11,61	12,82
29	10,00	0,00073	0,0104	0,166	0,01161	5,40	6,99
30	25,00	0,00169	0,022	0,1627	0,01248	5,78	7,67
32	10,00	0,00297	0,0327	0,2868	0,02607	12,09	9,09

ANEXO VI

Resultados da monitorização

Teste sem aspirina

tempo (min)	d₁₀ μm	d₅₀ μm	d₉₀ μm
0	6,932	41,019	102,626
5	7,268	40,391	99,286
10	7,356	40,232	97,272
15	7,454	40,321	97,354
20	9,816	69,971	1433,076
25	8,519	58,272	1367,766
30	7,667	48,789	1152,702
35	7,541	48,537	1090,910
40	7,134	42,016	127,902
45	7,072	39,148	99,722
50	7,366	40,296	100,902
55	7,567	41,268	101,740
60	7,721	41,782	101,514
65	7,828	42,088	101,362
70	7,998	42,997	103,246
75	8,058	43,068	101,984
80	8,139	43,418	103,356
85	8,172	43,258	101,726
90	8,264	43,698	102,865
95	8,347	44,033	103,776
100	8,397	43,693	101,635
105	8,501	44,076	103,133
110	8,569	44,373	104,242
115	8,575	44,465	103,543
120	8,608	44,503	104,387
125	8,645	44,671	103,309
130	8,968	47,1	117,551
135	8,796	45,487	107,361
140	9,003	47,166	115,455
145	9,060	47,68	116,022
150	9,290	49,899	130,645
155	9,468	51,824	141,714
160	9,423	51,985	137,097
165	9,728	55,151	161,998
170	9,679	55,503	157,728
175	9,675	56,252	161,479
180	9,961	59,635	204,754

185	9,676	57,374	163,433
190	9,869	59,388	195,569
195	9,948	60,573	243,549
200	9,776	58,671	182,336
205	9,679	57,569	163,470
210	9,843	58,787	178,763
215	9,806	58,506	171,614
220	10,315	62,975	480,305
225	9,753	57,62	165,765
230	9,788	57,782	170,130
235	10,074	60,496	225,124
240	9,770	56,75	155,743
245	10,095	60,17	209,569
250	9,929	58,555	180,266
255	9,903	57,82	167,843
260	10,051	59,023	188,538
265	10,082	59,206	194,005
270	10,072	59,19	194,985
275	10,164	59,946	215,972
280	10,459	62,728	449,136
285	10,367	61,628	318,444
290	10,072	59,083	189,370
295	10,154	59,704	212,773

TESTE 22

tempo (min)	d ₁₀ µm	d ₅₀ µm	d ₉₀ µm
0	0,082	0,210	4,407
5	0,138	23,153	60,848
10	1,053	44,023	85,104
15	31,558	59,754	102,253
20	0,082	0,215	31,629
25	0,099	0,487	829,083
30	0,151	48,799	734,266
35	2,622	75,647	308,746
40	35,501	92,314	283,238
45	48,294	94,643	219,581
50	53,692	98,243	230,758
55	54,627	98,309	219,613
60	55,165	99,156	228,364
65	54,507	98,216	233,199

TESTE 23

tempo (min)	d ₁₀ µm	d ₅₀ µm	d ₉₀ µm
0	0,088	0,261	37,44
5	0,395	41,827	104,987
10	27,139	61,969	123,184
15	34,445	69,969	125,422
20	0,246	945,374	1486,342
25	24,471	221,385	1449,61
30	15,454	106,852	1191,229
35	31,557	97,531	863,062
40	43,745	96,565	253,279
45	45,599	94,149	219,589
50	48,221	94,313	216,061
55	50,709	93,352	195,316
60	57,722	98,868	184,266
65	63,606	103,433	181,333

Monitorização da cinética de formação de microcápsulas usando uma técnica de dispersão de luz.

70	57,869	103,486	270,792
75	66,870	112,933	221,616
80	75,606	122,901	222,759
85	80,355	129,186	238,874
90	86,093	147,723	1151,898
95	85,554	145,811	1176,457
100	86,311	146,848	1165,824
105	87,377	149,892	1118,37
110	86,100	146,687	1165,55
115	87,558	148,223	1100,427
120	86,502	144,574	1041,861
125	84,505	142,886	1116,981
130	86,606	146,336	1093,459
135	84,809	144,476	1161,739
140	86,961	149,530	1161,474
145	85,929	146,956	1139,37
150	79,067	150,485	1131,515
155	78,975	148,481	1110,803
160	80,030	155,016	1184,021
165	81,262	165,771	1236,513
170	86,634	156,478	1255,013
175	80,511	162,279	1223,099
180	77,586	146,924	1101,386
185	85,055	149,688	1189,663
190	78,778	154,498	1239,113
195	78,711	155,910	1219,881
200	77,826	149,768	1163,312
205	77,980	152,555	1166,654
210	78,316	157,085	1220,706
215	78,400	157,051	1196,278
220	77,260	149,494	1171,16
225	77,082	149,798	1160,134
230	76,017	144,695	1100,867
235	76,262	145,871	1053,811

70	70,239	107,797	166,471
75	74,707	113,419	172,334
80	78,007	122,167	190,766
85	81,086	122,588	185,319
90	80,389	125,551	195,143
95	82,188	128,199	199,471
100	83,146	129,515	201,218
105	83,607	130,422	203,151
110	83,855	131,265	205,174
115	84,049	131,835	206,596
120	83,698	131,118	205,337
125	86,069	130,59	197,953
130	83,174	130,393	203,919
135	85,83	130,421	198,497
140	85,134	129,161	195,605
145	82,042	128,846	202,657
150	81,974	129,387	205,991
155	81,742	128,825	203,093
160	79,155	129,595	214,698
165	77,548	134,375	271,557
170	80,919	133,795	234,223
175	80,959	132,459	217,367
180	76,801	132,509	251,557
185	79,676	130,961	218,303
190	79,464	131,894	227,526
195	79,428	132,333	232,247
200	79,338	131,431	224,173
205	78,867	130,795	224,09
210	76,747	126,398	213,41
215	79,248	131,996	237,013
220	75,294	129,933	248,627
225	78,455	131,049	233,679
230	77,85	128,309	216,135
235	77,82	128,958	224,971
240	79,481	126,586	205,908
245	74,16	128,961	265,971
250	75,438	123,733	206,697
255	76,415	125,988	210,705
260	76,838	121,918	193,996
265	74,339	122,428	205,507
270	76,466	121,355	195,668
275	73,499	121,581	206,231
280	76,046	120,957	192,714

TESTE 28

tempo (min)	d ₁₀ μm	d ₅₀ μm	d ₉₀ μm
0	0,081	0,206	2,944
5	0,156	26,071	114,449
10	0,557	46,905	149,562
15	6,401	59,953	217,597
20	0,093	0,344	1301,198
25	24,510	1213,911	1610,332
30	91,895	1205,285	1582,164
35	61,813	1178,699	1582,331
40	75,304	1187,600	1585,355
45	1025,752	1360,490	1708,094
50	612,317	949,510	1506,225
55	589,800	849,403	1241,562
60	541,236	776,826	1118,518
65	520,422	747,185	1078,053
70	525,281	735,506	1034,824
75	528,981	740,735	1041,738
80	535,460	731,612	1002,951
85	535,135	730,859	1001,366
90	552,662	735,094	988,452
95	552,576	734,857	987,764
100	548,797	735,884	989,551
105	552,904	735,012	987,326
110	545,561	724,961	972,74
115	550,289	731,294	981,708
120	552,740	734,336	985,579
125	551,863	739,455	993,275
130	555,657	744,736	1000,191
135	559,272	748,950	1004,339
140	562,414	752,938	1008,983
145	569,244	761,068	1018,529
150	578,702	771,524	1029,74
155	587,830	780,906	1040,126
160	599,607	792,259	1046,521
165	611,745	805,040	1062,575
170	620,580	815,570	1077,881
175	633,368	830,743	1100,987
180	641,382	840,299	1113,798

285	73,553	121,115	202,224
290	75,462	120,121	191,312
295	77,566	128,183	191,312

TESTE 29

tempo (min)	d ₁₀ μm	d ₅₀ μm	d ₉₀ μm
0	0,081	0,202	1,753
5	0,142	23,872	60,308
10	0,695	46,887	85,734
15	33,737	61,663	103,014
20	61,212	801,775	1320,527
25	0,192	95,452	1029,714
30	43,447	579,524	1059,868
35	532,393	743,779	1016,724
40	477,807	666,077	903,123
45	448,775	624,814	841,024
50	444,373	624,472	847,944
55	440,231	626,103	864,729
60	436,499	629,219	882,478
65	434,715	631,039	891,116
70	433,022	640,135	925,711
75	431,435	648,977	961,393
80	427,454	654,109	988,417
85	425,587	661,783	1021,518
90	426,409	672,922	1061,550
95	423,427	672,701	1069,749
100	423,274	675,113	1078,759
105	423,700	677,965	1086,799
110	423,763	681,162	1096,614
115	423,153	680,673	1096,943
120	423,152	677,207	1086,357
125	422,852	674,221	1077,389
130	421,801	673,322	1077,669
135	421,766	666,260	1050,807
140	424,426	660,256	1019,936
145	425,044	651,046	984,654
150	426,385	648,048	974,826
155	427,597	643,235	952,800
160	429,017	638,984	933,811
165	430,696	635,196	914,578
170	432,934	631,868	897,288
175	436,837	630,537	885,105
180	440,697	630,798	877,704

Monitorização da cinética de formação de microcápsulas usando uma técnica de dispersão de luz.

185	657,957	864,412	1154,054
190	685,647	909,984	1219,343
195	716,817	951,690	1284,709
200	725,761	964,153	1304,8
205	730,639	970,692	1314,447
210	731,359	971,673	1315,724
215	733,872	975,354	1320,946
220	732,485	973,309	1317,857
225	735,890	978,468	1325,409
230	736,084	978,799	1325,931
235	740,823	985,634	1335,36
240	745,431	992,078	1344,31
245	750,086	998,803	1353,202
250	747,563	1003,789	1360,2
255	751,074	1008,935	1366,346
260	754,550	1013,823	1371,939
265	761,312	1022,815	1382,089
270	765,973	1028,506	1388,127
275	773,419	1037,521	1397,255
280	780,419	1044,896	1399,42
285	789,743	1055,259	1410,81
290	807,145	1073,917	1431,575
295	822,955	1092,221	1447,286

185	445,265	631,455	869,692
190	447,366	631,512	865,390
195	449,536	630,398	855,382
200	452,380	631,349	852,739
205	463,149	644,385	868,751
210	477,951	666,602	904,369
215	490,073	683,361	925,036
220	510,145	709,898	958,206
225	534,740	742,747	1004,451
230	552,575	769,431	1048,191
235	557,221	781,217	1069,655
240	99,152	666,603	1071,770
245	94,999	651,014	1135,402
250	93,104	632,894	1153,073
255	95,885	668,659	1203,222
260	93,547	657,804	1250,019
265	92,720	680,565	1327,395

TESTE 30

tempo(min)	d ₁₀ µm	d ₅₀ µm	d ₉₀ µm
0	0,119	82,366	1250,059
5	2,312	53,383	155,817
10	26,594	70,794	156,168
15	40,813	80,476	173,326
20	594,854	981,112	1559,600
25	987,597	1308,755	1644,842
30	1029,974	1343,834	1666,098
35	111,049	1207,859	1596,436
40	66,915	1133,911	1577,173
45	79,738	1167,634	1581,398
50	75,672	1167,068	1601,153
55	83,359	1182,460	1597,164

TESTE 32

tempo(min)	d ₁₀ µm	d ₅₀ µm	d ₉₀ µm
0	0,081	0,205	2,391
5	0,135	20,503	60,142
10	0,394	40,278	79,549
15	9,801	50,848	89,730
20	0,259	78,862	1392,321
25	0,150	50,117	1150,441
30	0,158	44,523	944,933
35	0,217	52,021	872,947
40	5,131	73,021	1162,967
45	36,118	94,985	1363,570
50	99,868	1270,973	1633,913
55	1038,881	1349,346	1668,858

Monitorização da cinética de formação de microcápsulas usando uma técnica de dispersão de luz.

60	82,167	1172,649	1604,648
65	79,087	1052,012	1565,929
70	80,637	896,209	1532,032
75	85,755	250,167	1525,007
80	88,138	194,327	1490,578
85	90,145	232,422	1517,895
90	92,491	206,101	1478,307
95	93,817	214,242	1484,510
100	92,598	192,662	1458,679
105	93,400	197,098	1461,937
110	93,759	198,334	1441,680
115	93,802	201,675	1444,902
120	94,412	211,705	1477,154
125	91,865	969,901	1537,696
130	90,778	905,825	1531,135
135	90,481	945,133	1550,528
140	96,734	1073,298	1556,721
145	94,212	975,228	1543,778
150	93,839	191,036	1420,119
155	96,730	1025,833	1547,635
160	141,116	1225,083	1595,817
165	127,800	1215,695	1606,072
170	166,246	1236,967	1606,614
175	159,060	1232,269	1604,063
180	139,450	1231,581	1612,243
185	152,034	1223,218	1593,260
190	143,533	1220,269	1592,909
195	174,446	1243,661	1609,785
200	161,677	1234,271	1605,114
205	167,265	1238,047	1607,104
210	153,682	1225,549	1593,684
215	207,642	1250,249	1612,109
220	191,059	1262,310	1624,840
225	181,105	1260,854	1624,640
230	214,447	1250,447	1612,065
235	196,820	1263,596	1625,391
240	181,902	1245,538	1610,358

60	1007,405	1340,069	1693,293
65	746,750	1109,936	1604,948
70	680,228	1041,373	1580,001
75	662,562	934,772	1355,908
80	665,003	891,930	1212,846
85	650,714	867,541	1169,752
90	654,128	863,600	1160,948
95	653,704	862,823	1159,374
100	651,559	858,671	1150,578
105	649,729	855,151	1143,247
110	648,846	854,069	1143,578
115	648,941	854,002	1143,098
120	649,483	854,896	1144,703
125	650,324	856,560	1146,290
130	649,868	855,354	1143,406
135	652,283	859,859	1152,608
140	652,499	859,958	1152,377
145	651,141	867,631	1168,087
150	652,545	869,736	1171,489
155	651,645	857,853	1147,175
160	650,651	865,680	1162,734
165	667,129	891,877	1202,524
170	677,351	906,548	1227,625
175	711,649	954,321	1308,926
180	731,838	989,392	1353,889
185	786,821	1069,686	1440,919
190	868,085	1169,905	1549,842
195	984,487	1297,696	1635,038
200	1021,277	1334,992	1660,077
205	1062,582	1370,619	1685,979
210	1069,414	1375,425	1689,686

ANEXO VII

Gráficos de distribuição de Potencial Zeta

Potencial zeta da etilcelulose

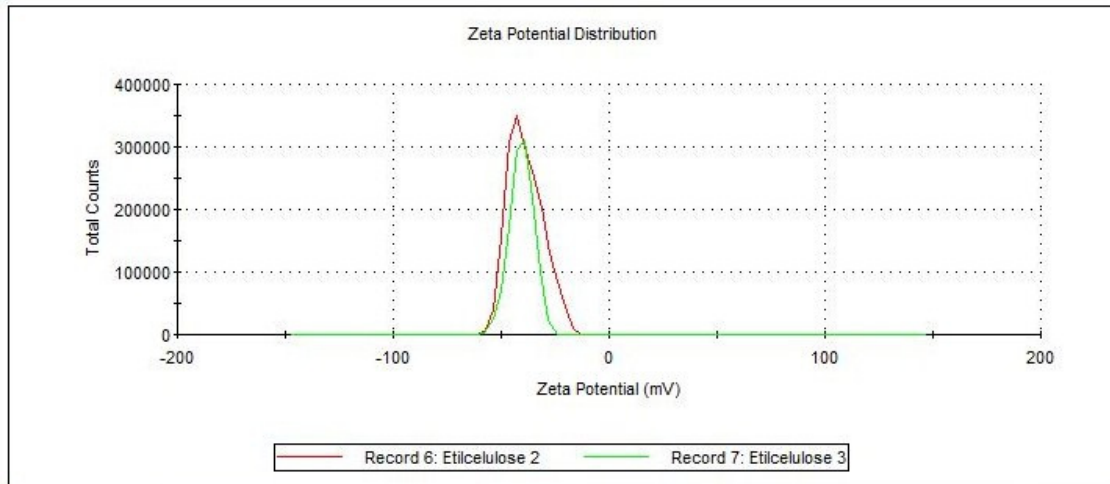


Gráfico VII.1 - Potencial zeta da etilcelulose

Potencial zeta da aspirina

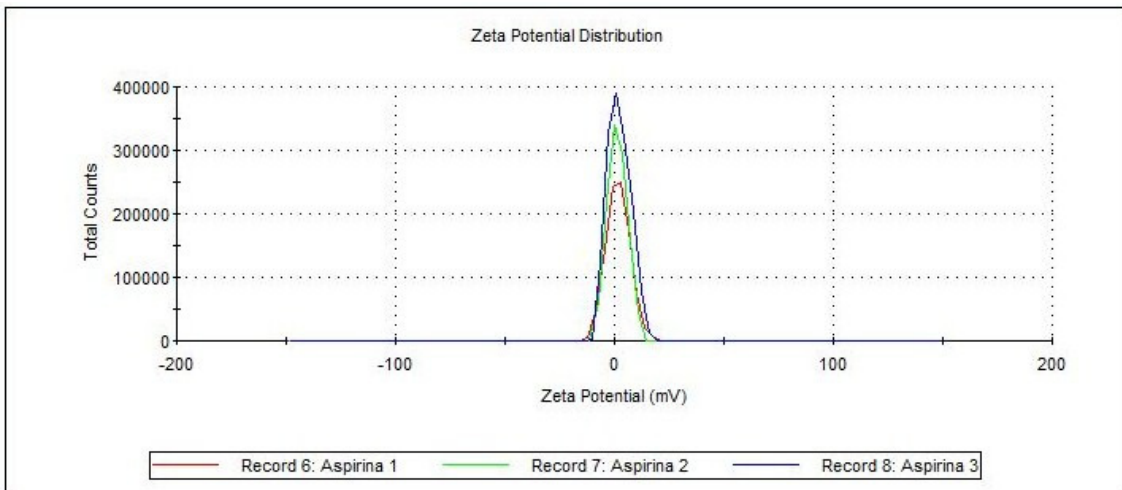


Gráfico VII.2 - Potencial zeta da aspirina

Potencial zeta das amostras

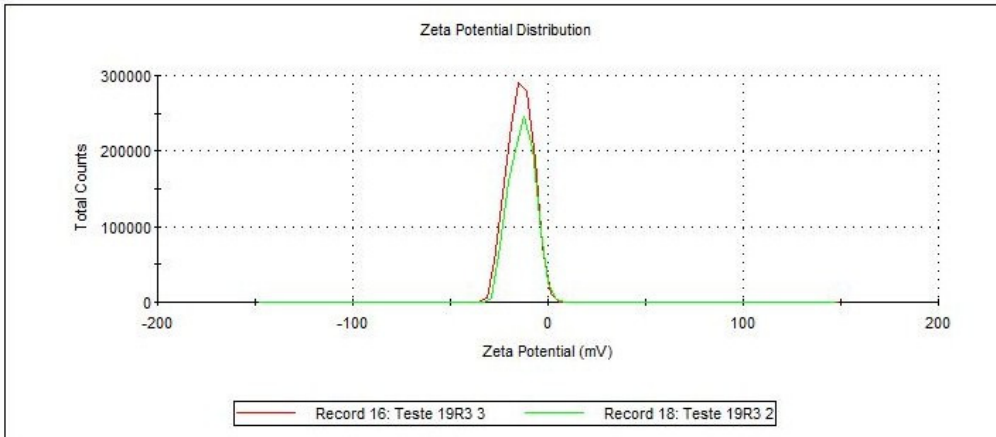


Gráfico VII.3 - Potencial zeta da amostra 19

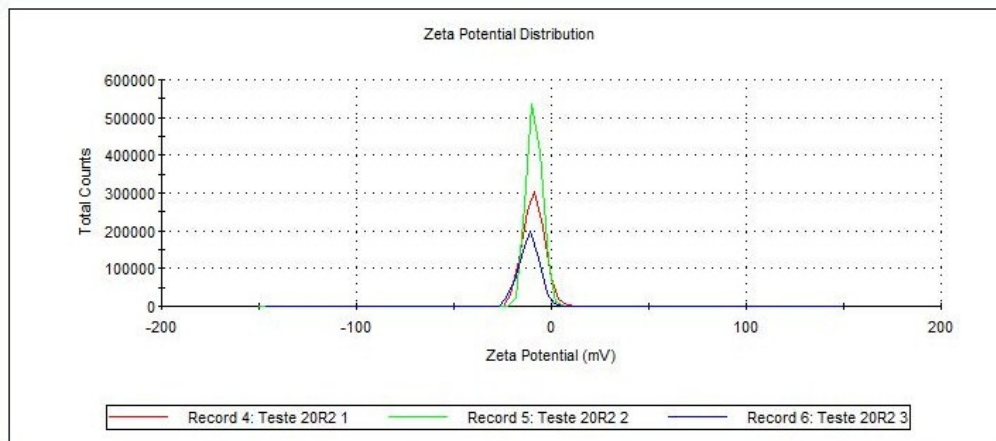


Gráfico VII.4 - Potencial zeta da amostra 20

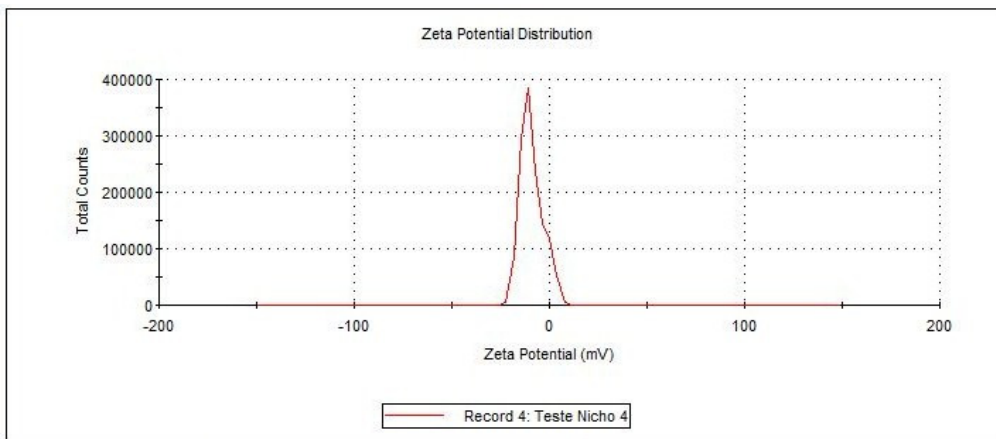


Gráfico VII.5 - Potencial zeta da amostra 2

MONITORIZAÇÃO

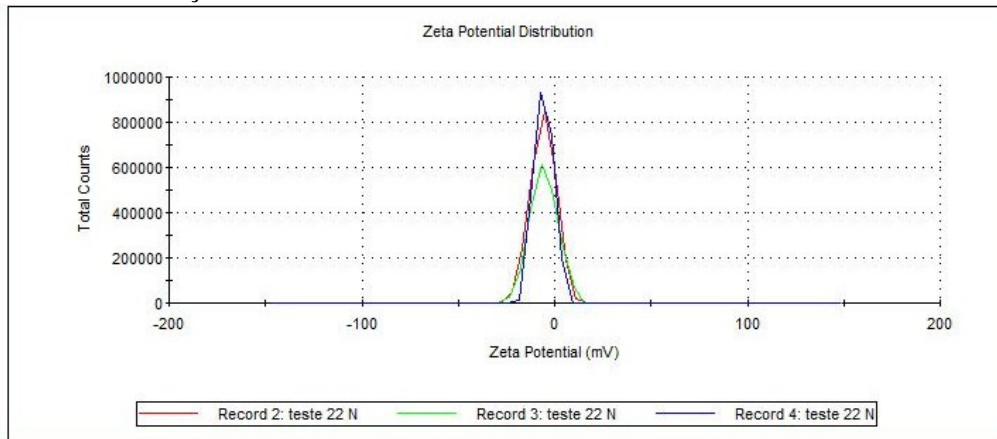


Gráfico VII.6 - Potencial zeta da amostra 22

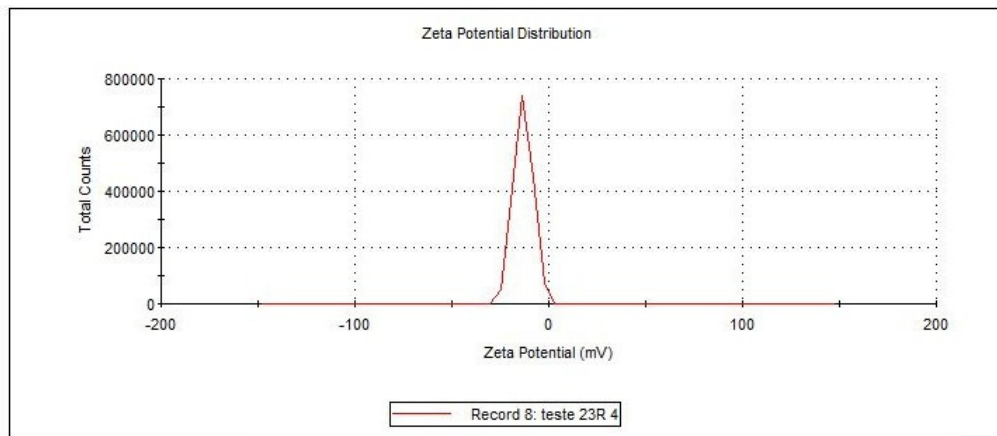


Gráfico VII.7 - Potencial zeta da amostra 23

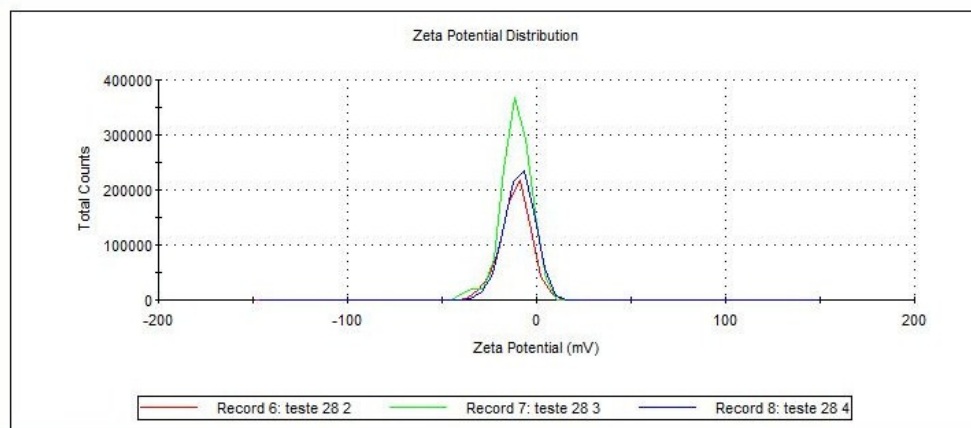


Gráfico VII.8 - Potencial zeta da amostra 28

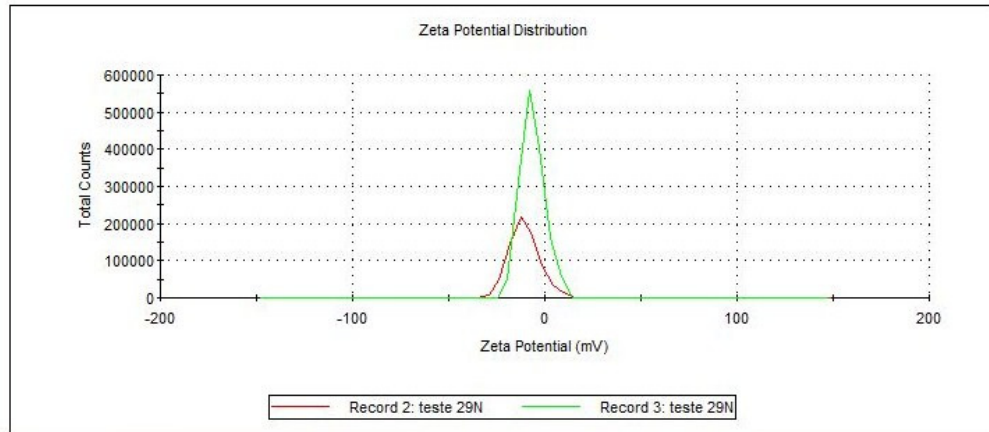


Gráfico VII.9 - Potencial zeta da amostra 29

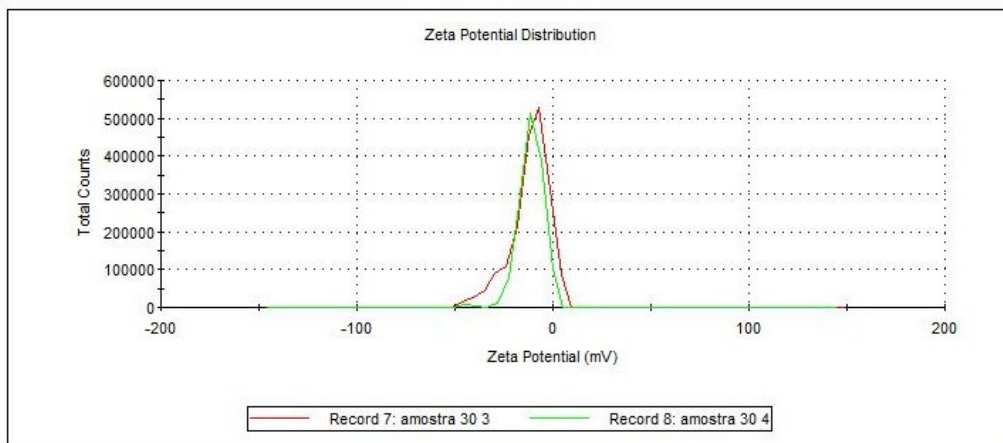


Gráfico VII.10 - Potencial zeta da amostra 30

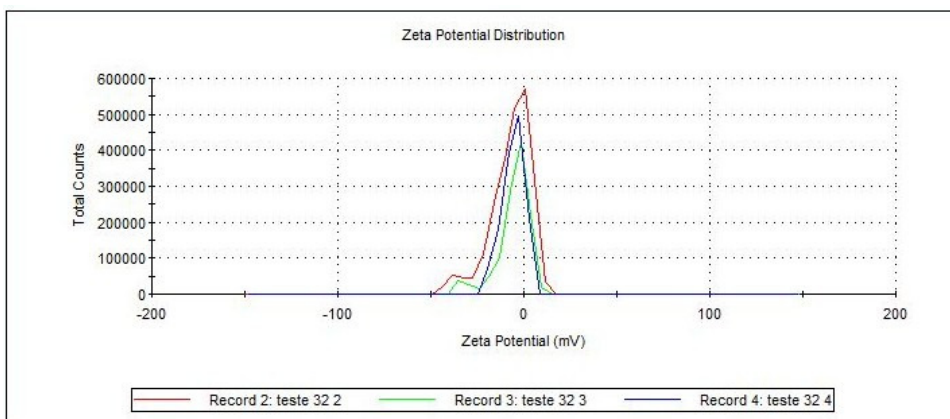


Gráfico VII.11- Potencial zeta da amostra 32

ANEXO VIII

Curvas de distribuição de tamanhos

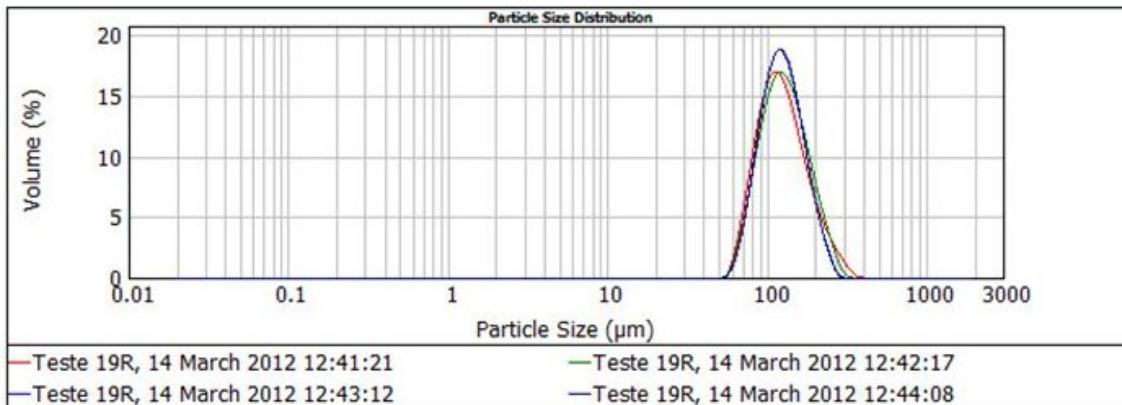


Fig.VIII.1 - Representação da distribuição de tamanhos teste 19 sem ultrassons.

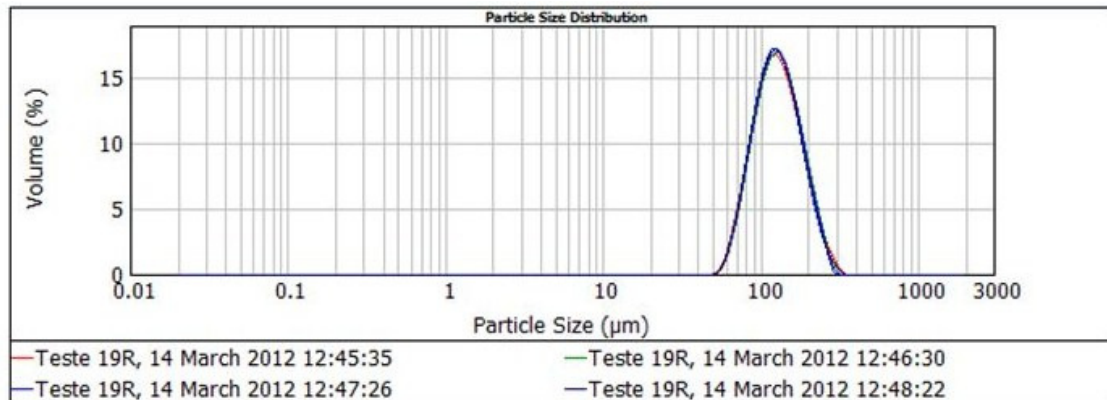


Fig.VIII.2 - Representação da distribuição de tamanhos teste 19 com ultrassons.

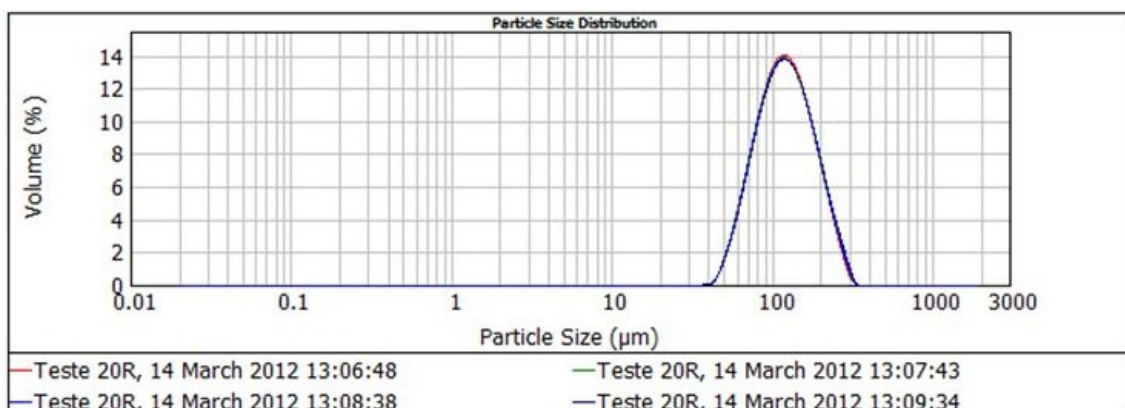


Fig.VIII.3 - Representação da distribuição de tamanhos teste 20 sem ultrassons.

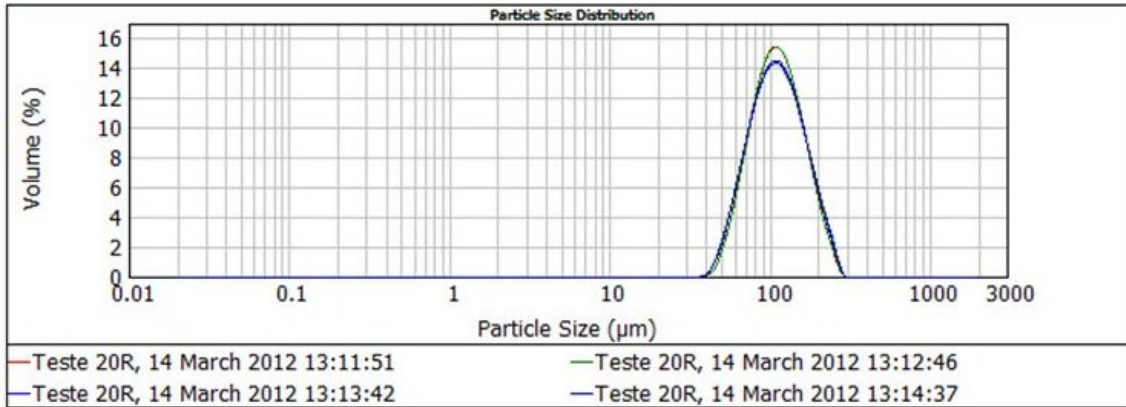


Fig.VIII.4 - Representação da distribuição de tamanhos teste 20 com ultrasons.

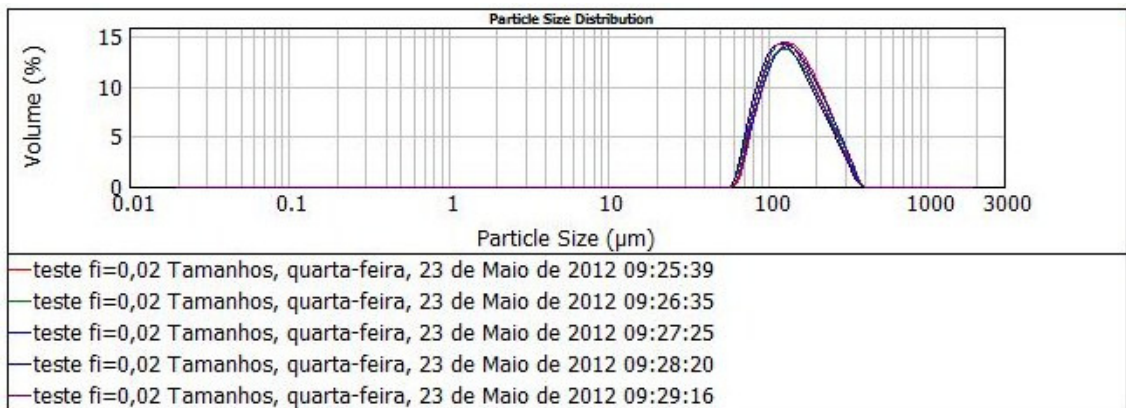


Fig.VIII.5 - Representação da distribuição de tamanhos teste 2 sem ultrasons.

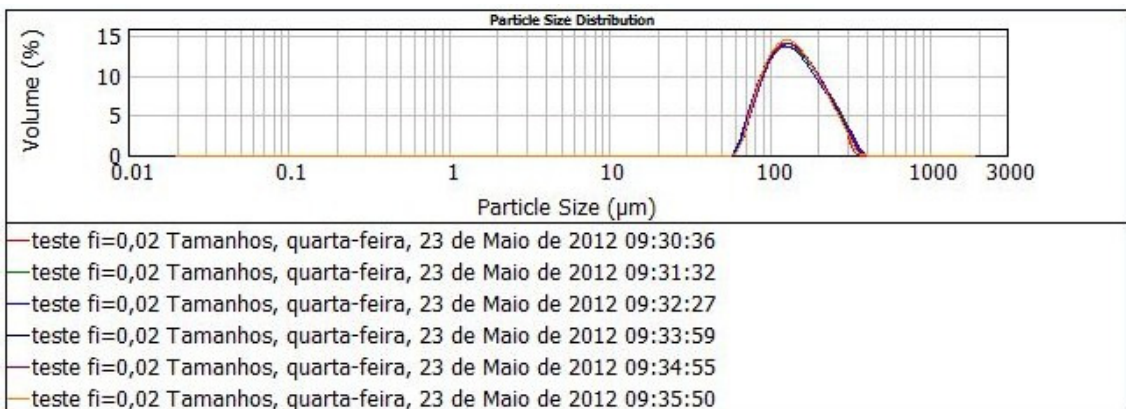


Fig.VIII.6 - Representação da distribuição de tamanhos teste 2 com ultrasons.

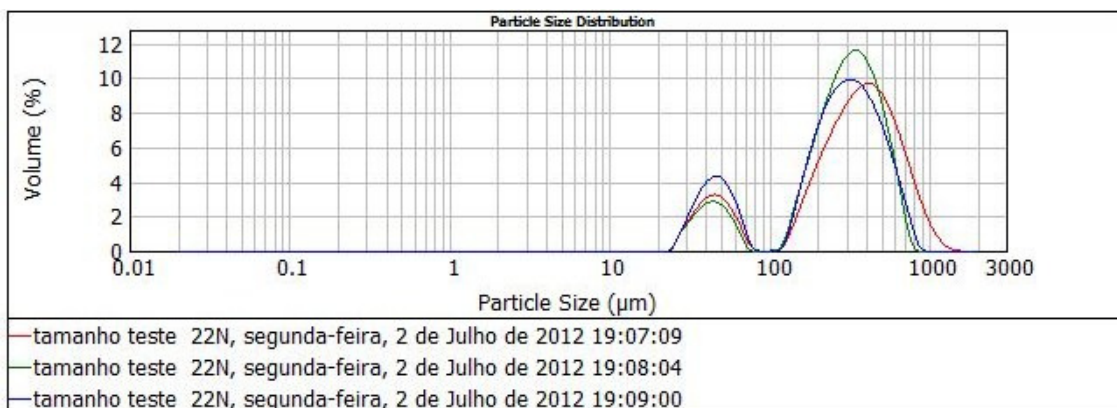


Fig.VIII.7 - Representação da distribuição de tamanhos teste 22 sem ultrassons.

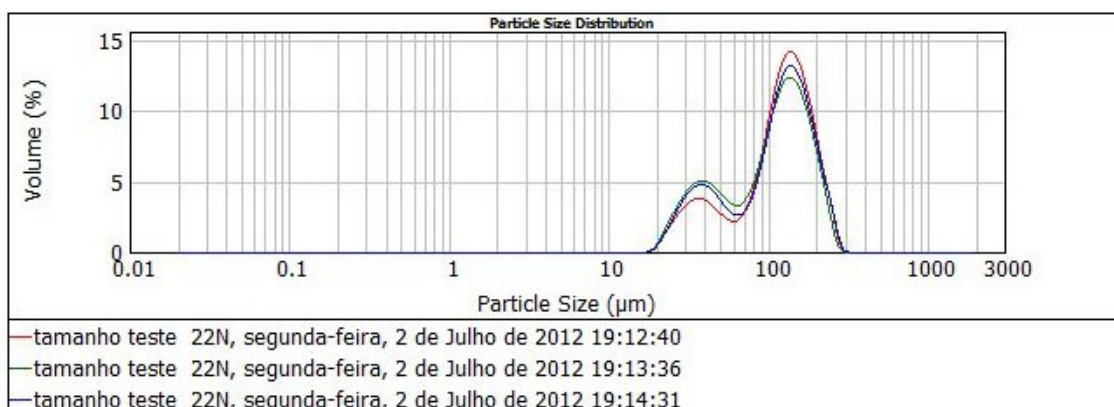


Fig.VIII.8 - Representação da distribuição de tamanhos teste 22 com ultrassons.

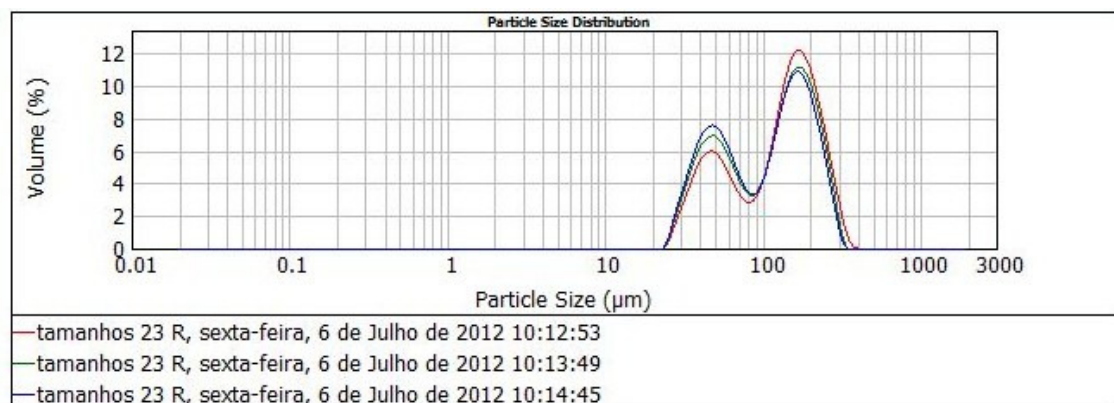


Fig.VIII.9 - Representação da distribuição de tamanhos teste 23 sem ultrassons.

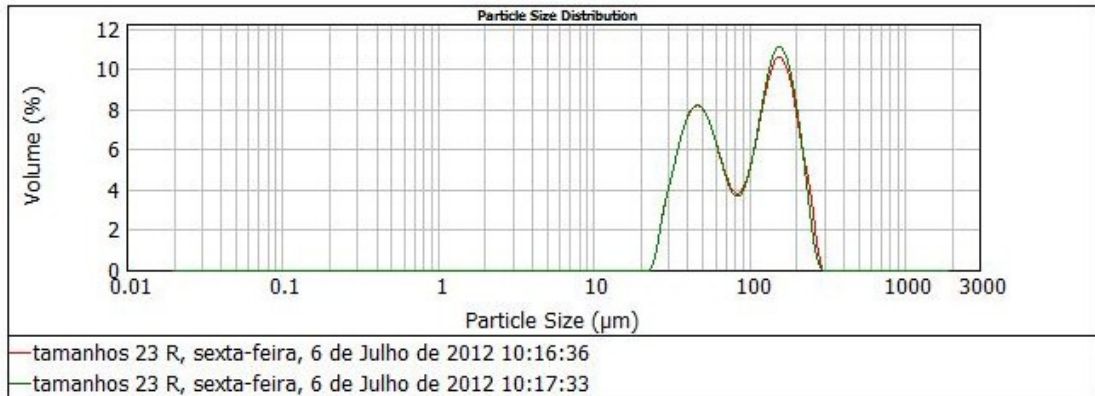


Fig.VIII.10 - Representação da distribuição de tamanhos teste 23 com ultrassons.

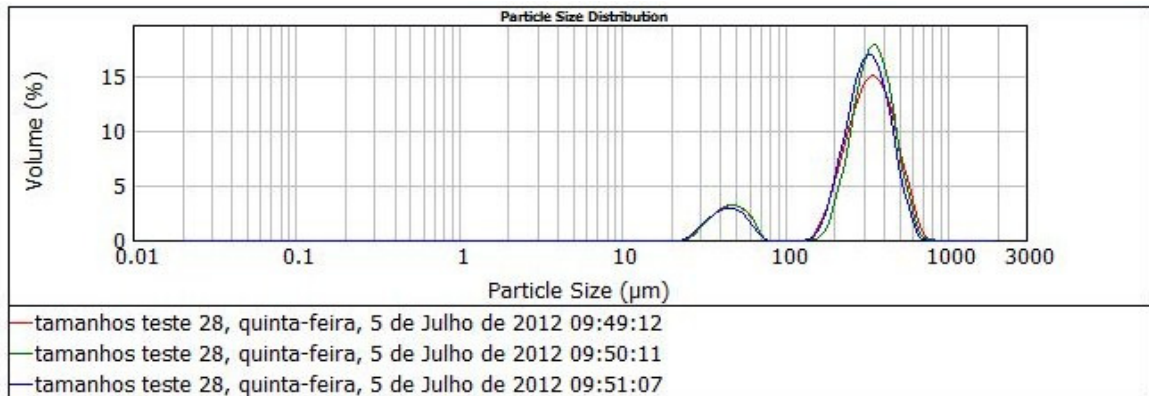


Fig.VIII.11 - Representação da distribuição de tamanhos teste 28 sem ultrassons.

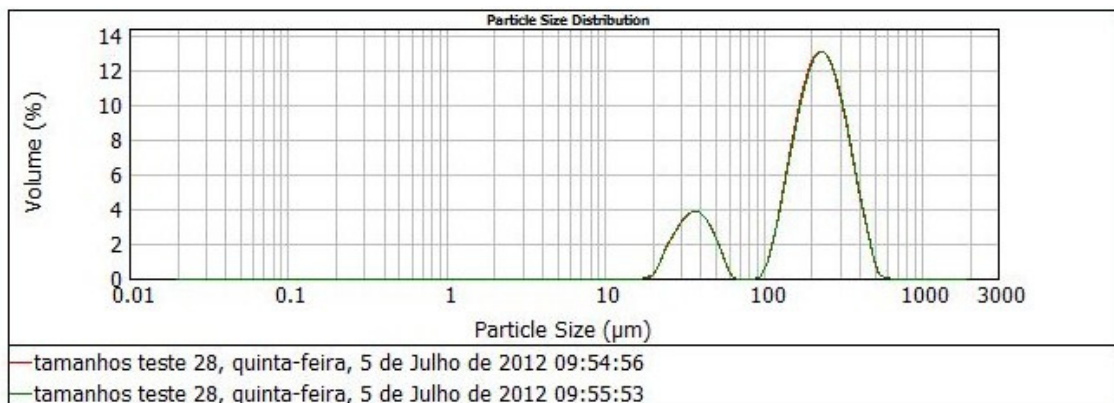


Fig.VIII.12 - Representação da distribuição de tamanhos teste 28 com ultrassons.

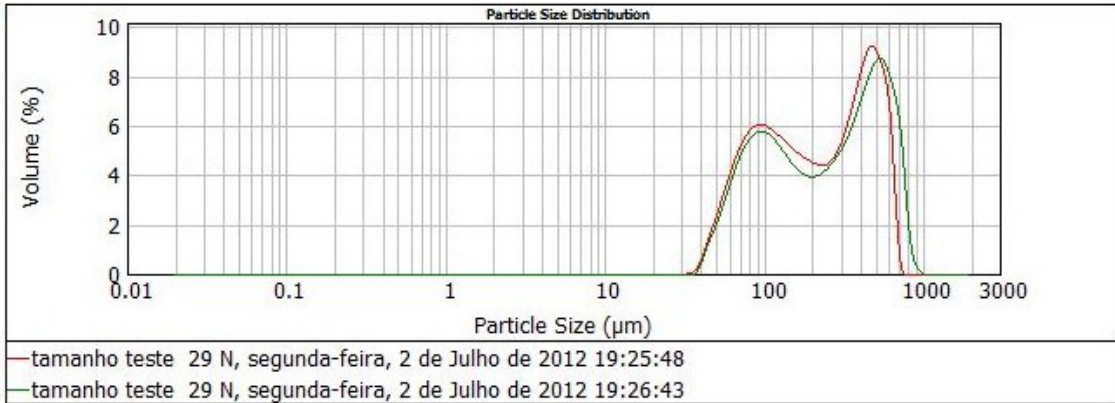


Fig.VIII.13 - Representação da distribuição de tamanhos teste 29 sem ultrassons.

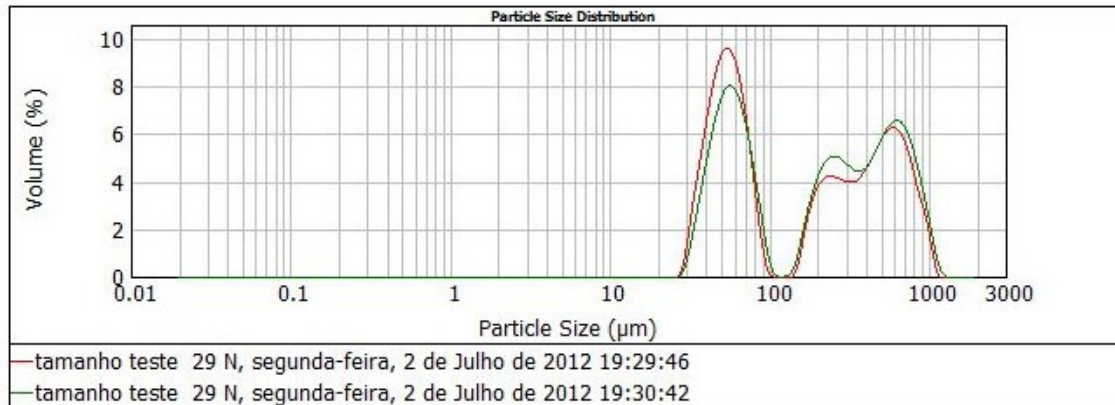


Fig.VIII.14 - Representação da distribuição de tamanhos teste 29 com ultrassons.

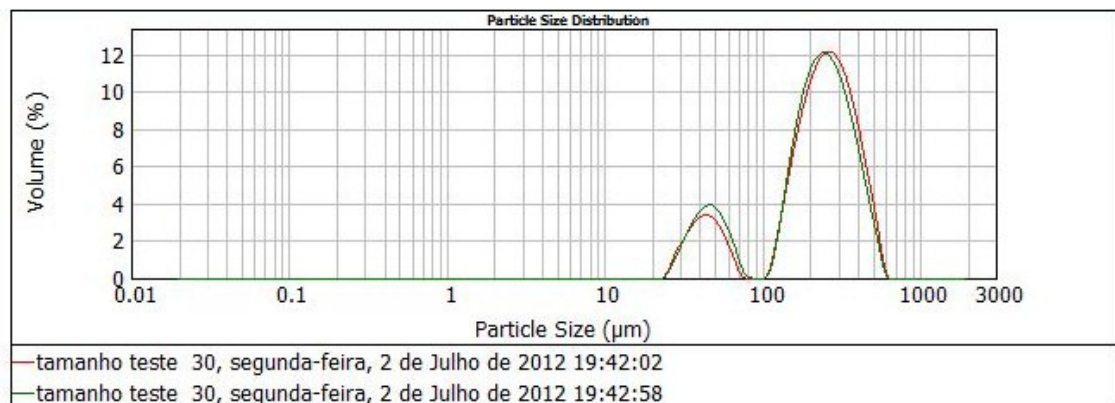


Fig.VIII.15 - Representação da distribuição de tamanhos teste 30 sem ultrassons.

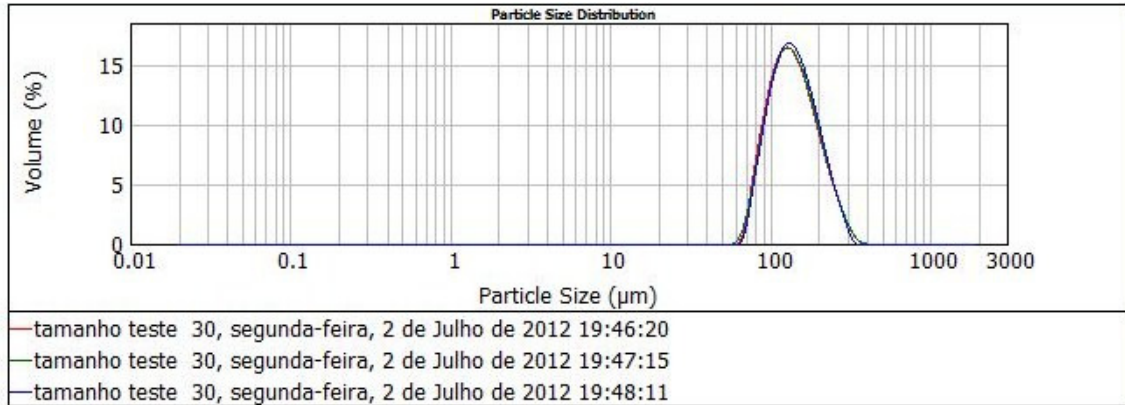


Fig.VIII.16 - Representação da distribuição de tamanhos teste 30 com ultrassons.

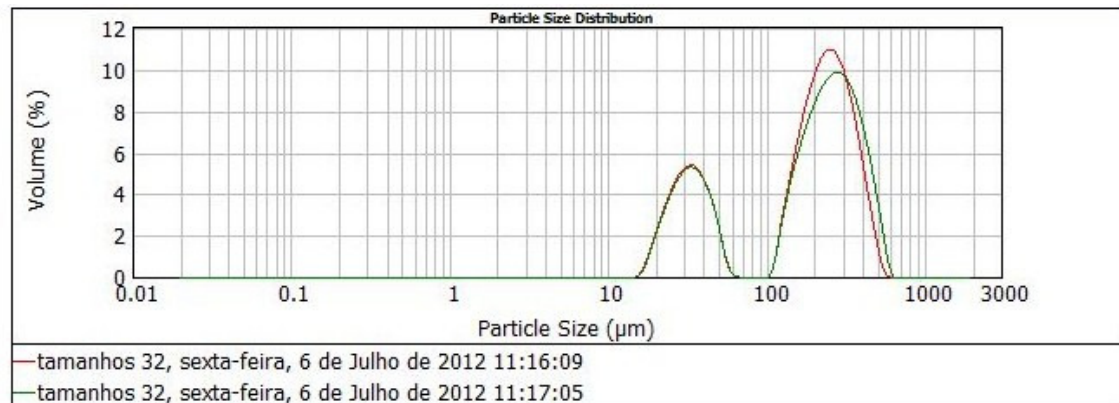


Fig.VIII.16 - Representação da distribuição de tamanhos teste 32 sem ultrassons.

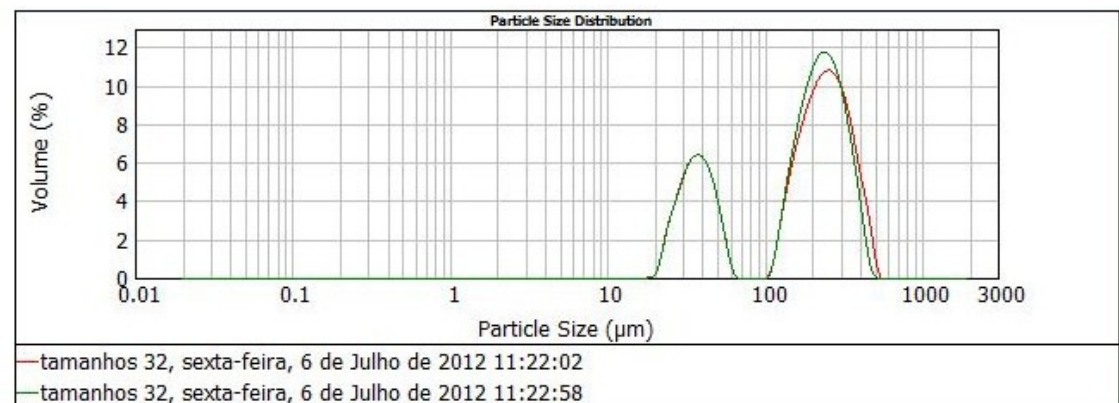


Fig.VIII.17- Representação da distribuição de tamanhos teste 32 com ultrassons.