



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA



Sérgio Diogo Bastos dos Santos Vieira Lopes

**MONITORIZAÇÃO DA FORMAÇÃO DE  
MICROPARTÍCULAS PARA ENCAPSULAÇÃO  
DE PRINCÍPIOS ATIVOS**

**Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia  
Química orientada pela Professora Doutora Maria da Graça  
Rasteiro e pelo Professor Doutor Fernando Bernardo e  
apresentada Departamento de Engenharia Química da Faculdade  
de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra.**

Novembro de 2018



Sérgio Diogo Bastos dos Santos Vieira Lopes

# MONITORIZAÇÃO DA FORMAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS PARA ENCAPSULAÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química orientada pelo Professor Doutor Fernando Bernardo e pela Professora Doutora Maria da Graça Rasteiro e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

**Supervisores:**

Prof. Dr. Maria da Graça Rasteiro  
Prof. Dr. Fernando Bernardo

Coimbra  
2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, quero agradecer aos meus orientadores, Professora Maria da Graça Rasteiro e Professor Fernando Bernardo. Todos os conselhos, conhecimento e experiência que me transmitiram foram essenciais na realização deste trabalho. Agradeço também a ajuda da Dra. Mara Braga e do Professor Fernando Garcia pelo auxílio que me deram no laboratório.

Quero agradecer todo o apoio que me foi dado pela minha família mais próxima. Apesar do elevado nível de saturação que apresento para com eles, constituem um grupo de pessoas com quem posso sempre contar. Nas piores situações, e por pior que os trate (porque por vezes trato) estarão sempre a meu lado, nesta e nas próximas etapas da minha vida. Sei que nunca me irão falhar. Amo-vos de verdade!

A todos os meus amigos e colegas que fizeram parte da minha experiência no laboratório. Não mencionarei ninguém em particular, uma vez que corro o risco de me esquecer de alguém. Contudo, quem fez parte desta experiência, com apoio profissional e emocional, sabe que tem lugar neste agradecimento. Por outro lado, quero agradecer a todos os que fizeram parte da minha vida extra académica. Com isto, agradeço aos meus verdadeiros amigos, sejam altos ou baixos, morenos ou ruivos, por todos os momentos! Durante todo o meu percurso, entendi que a Universidade de Coimbra não é só, nem maioritariamente, o que se aprende nas salas de aula. Todas as vivências, experiências, parvoíces, saídas e cortejos que a cidade me proporcionou ficarão guardadas comigo para o resto da vida. Coimbra fará sempre parte daquilo que sou.

Por fim, agradeço também ao núcleo de Rugby da Associação de Estudantes da Escola Superior Agrária de Coimbra. Esta família (sem aspas) a que pertença há mais de nove anos e à qual dediquei, com gosto, muitas horas da minha vida desde então, teve um papel de importância capital na pessoa que sou hoje. Foi uma casa que me viu crescer desde criança até aquilo que me tornei. Os valores que esta instituição me transmitiu foram determinantes na definição de metas individuais, na ultrapassagem de dificuldades e na forma como fui alcançando objetivos ao longo do meu percurso. A todos os meus companheiros, agradeço com toda a minha amizade e companheirismo. Ao alto, ao alto, ao alto!



## Resumo

A microencapsulação é bastante utilizada na indústria alimentar, cosmética e farmacêutica. Nesta última, a microencapsulação é utilizada na administração de fármacos. A sua utilização permite a libertação controlada e localizada do princípio ativo. A encapsulação por evaporação de solvente apresenta-se como uma técnica simples e reproduzível que, por isso, é frequentemente utilizada no fabrico de microcápsulas.

Apesar de ser conveniente monitorizar este tipo de processos em tempo real, isso não é prática habitual na indústria, visto que a aplicação de instrumentos desenvolvidos para a aplicação em laboratório apresenta uma difícil adaptação ao ambiente industrial.

A difração *laser*, apesar de pouco aplicada na monitorização da encapsulação por evaporação de solvente, aparenta ser uma técnica promissora na monitorização de tamanhos de partículas deste tipo de processos (Rodrigues 2012, Lima 2016). Com base nesta técnica, estudou-se a monitorização *online* de um processo de encapsulação por evaporação de solvente de Ibuprofeno em Etilcelulose.

A técnica revelou-se, de forma geral, reproduzível, existindo grande concordância, sobretudo, na localização do pico principal da distribuição. Em vários ensaios, verificou-se a existência de um pico secundário, que não corresponde (pelo menos na totalidade) a entidades presente na emulsão.

Em suma, concluiu-se que, apesar de algumas limitações da técnica, é possível monitorizar a evolução de tamanhos de um processo de encapsulação por evaporação do solvente através da técnica de difração *laser*.



## **Abstract**

Microencapsulation is a technique widely used in food, cosmetics and pharmaceutical industry. In the last one, microencapsulation is used for drug administration. It allows the controlled and localized release of the active ingredient. Solvent evaporation encapsulation, thanks to its simplicity and reproducibility is a standard technique in microcapsules production.

Although real-time monitoring of this kind of processes is much needed in powder processing, it is currently not widely applied in process industries as most particle sizing instruments are too complicated to implement in an industrial environment.

Laser diffraction, although not being widely applied in online monitoring of solvent evaporation encapsulation, is a promising technique in particle sizing monitoring for this kind of processes (Rodrigues 2012, Lima 2016). Using laser diffraction, one has studied the online monitoring of the encapsulation process of Ibuprofen in Ethylcellulose.

Laser diffraction revealed itself, in most cases, to lead to reproducible results. The localization of the main peak of the particle size distribution has shown high level of agreement. In some experiments, particle size distribution exhibited a secondary peak that was not caused (at least, not entirely) by particles present in the dispersion.

One has concluded that, despite some limitations, it's possible to monitor the particle evolution size of a solvent evaporation encapsulation process using a laser diffraction technique.



# Índice

Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Lista de Figuras .....	xi
Lista de Tabelas .....	xv
Nomenclatura.....	xvii
2. Revisão Bibliográfica .....	3
2.1. Microencapsulação .....	3
2.2. Técnicas de microencapsulação.....	4
2.2.1 Processos químicos.....	5
2.2.2. Processos físico-químicos .....	5
2.2.3. Processos físico-mecânicos .....	6
2.3. Microencapsulação por emulsificação evaporação de solvente .....	7
2.3.1. Fatores que influenciam as características das partículas.....	10
2.4. Técnicas de monitorização de processos de formação de partículas a partir de sistemas dispersos .....	22
3. Materiais e métodos experimentais .....	33
3.1. Formulação base .....	33
3.2. Montagem experimental .....	34
3.3. Métodos experimentais.....	36
3.3.1. Preparação das micropartículas .....	36
3.3.2. Monitorização da concentração de Diclorometano na emulsão/fase contínua.....	37
3.3.3. Monitorização do estado de solidificação das partículas.....	37
3.3.4. Monitorização <i>online</i> do tamanho das partículas .....	37
3.3.5. Caracterização das partículas.....	38
3.4. Plano de experiências .....	39
4. Apresentação e discussão de resultados .....	41
4.1. Pontos prévios .....	41

4.2. Formulação base .....	45
4.2. Formulação $\phi+$ .....	51
4.3. Formulação N+ .....	57
4.4. Formulação <i>Tween+</i> .....	64
5. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros.....	71
6. Bibliografia.....	74
Anexo I.....	80
Anexo II.....	83
Anexo III .....	87

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Classificação das micropartículas em função da sua estrutura interna .....	3
<b>Figura 2.</b> Ilustração esquemática de um processo de encapsulação com formação de gotículas através de <i>static mixers</i> .....	8
<b>Figura 3.</b> Ilustração esquemática de um processo de encapsulação com formação de gotículas por gotejamento .....	9
<b>Figura 4.</b> Fatores que influenciam o desempenho das micropartículas.....	11
<b>Figura 5.</b> Exemplo do conceito de "corda" no <i>FBRM</i> na presença de partículas esféricas e irregulares .....	23
<b>Figura 6.</b> Ilustração de um sensor <i>FBRM</i> .....	23
<b>Figura 7.</b> Padrões de difração de (a) uma partícula esférica e (b) uma partícula com faces quadradas .....	25
<b>Figura 8.</b> Ilustração esquemática de um aparelho de difração laser .....	26
<b>Figura 9.</b> Tanque com agitação Standard, para a escala laboratorial . .....	34
<b>Figura 10.</b> Esquema (imagem a cima) e fotografia (imagem abaixo) de montagem do sistema de monitorização <i>online</i> do processo de encapsulação. ....	35
<b>Figura 11.</b> Evolução temporal do valor de $D_{3,2}$ das partículas produzidas no ensaio 19/06....	41
<b>Figura 12.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação .....	42
<b>Figura 13.</b> Distribuições obtidas no final da monitorização online (curva vermelha) e na análise das partículas peneiradas produzidas no ensaio 19/06 (curva verde) por difração <i>laser</i> . ....	43
<b>Figura 14.</b> Acumulação de material na janela de medição do <i>Mastersizer</i> durante a monitorização <i>online</i> (imagem à esquerda) e durante a lavagem do equipamento (imagem à direita).....	44
<b>Figura 15.</b> Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 6,5 (imagem à esquerda) e 47 (imagem à direita) do processo de microencapsulação. ....	45
<b>Figura 16.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação base no ensaio 07/05.....	45
<b>Figura 17.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação	46
<b>Figura 18.</b> Evolução temporal do valor de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva azul) e no ensaio 09/05 (curva a preto).....	46
<b>Figura 19.</b> Evolução temporal do valor da moda $m_1$ das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva azul) e no ensaio 09/05 (curva a preto).....	47

<b>Figura 20.</b> Influência da eliminação de <i>DCM</i> na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05.....	47
<b>Figura 21.</b> Influência da eliminação de <i>DCM</i> na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 09/05.....	48
<b>Figura 22.</b> Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva vermelha) e no ensaio 09/05 (curva verde).....	48
<b>Figura 23.</b> Comparação das distribuições obtidas na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base no lote 07/05 por difração <i>laser</i> sem aplicação de ultrassons (curva vermelha), após a 3ª aplicação de ultrassons (curva verde) e 10 minutos após a aplicação de ultrassons (curva azul) .....	49
<b>Figura 24.</b> Distribuições relativas ao final da monitorização <i>online</i> (curva vermelha) e na análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base (curva verde) no lote 07/05.....	50
<b>Figura 25.</b> Imagem das partículas produzidas a partir da formulação base obtida por microscopia ótica no lote 07/05.....	51
<b>Figura 26.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 30/07 .....	52
<b>Figura 27.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 31/07 .....	52
<b>Figura 28.</b> Evolução temporal do valor de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 30/07 (curva azul) e no ensaio 31/07 (curva a preto) .....	53
<b>Figura 29.</b> Evolução temporal do valor da moda $m_1$ das partículas produzidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 30/07 (curva azul) e no ensaio 31/07 (curva a preto). .....	53
<b>Figura 30.</b> Influência da eliminação de <i>DCM</i> na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 31/07. ....	54
<b>Figura 31.</b> Influência da eliminação de <i>DCM</i> na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 30/07. ....	54
<b>Figura 32.</b> Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação $\phi+$ no ensaio 30/07 (curva vermelha) e no ensaio 31/07 (curva verde).....	55
<b>Figura 33.</b> Distribuições relativas ao final da monitorização <i>online</i> (curva vermelha) e na análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação $\phi+$ (curva verde) no lote 31/07. ....	56

<b>Figura 34.</b> Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação $\phi+$ (à direita) obtida por microscopia ótica.....	57
<b>Figura 35.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação N+ no ensaio 27/07.....	57
<b>Figura 36.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação N+ no ensaio 01/08.....	58
<b>Figura 37.</b> Evolução das distribuições de tamanho obtidas na encapsulação do ensaio 27/07 realizada com a formulação N+, desde o minuto 133 até ao final da monitorização.....	59
<b>Figura 38.</b> Evolução temporal do valor de $D_{3,2}$ das partículas produzidas com a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva azul) e no ensaio 01/08 (curva a preto).....	59
<b>Figura 39.</b> Evolução temporal do valor da moda $m_1$ das partículas produzidas com a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva azul) e no ensaio 01/08 (curva a preto).....	60
<b>Figura 40.</b> Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação N+ no ensaio 27/07.....	60
<b>Figura 41.</b> Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação N+ no ensaio 01/08.....	61
<b>Figura 42.</b> Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva vermelha) e no ensaio 01/08 (curva verde).....	61
<b>Figura 43.</b> Distribuições relativas ao final da monitorização <i>online</i> (curva vermelha) e na análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação N+ (curva verde) no lote 27/07. ....	63
<b>Figura 44.</b> Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação N+ (à esquerda) obtida por microscopia ótica. ....	63
<b>Figura 45.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05. ....	64
<b>Figura 46.</b> Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 24/05. ....	64
<b>Figura 47.</b> Evolução temporal do valor de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05 (curva azul) e no ensaio 24/05 (curva a preto). ....	65
<b>Figura 48.</b> Evolução temporal do valor da moda $m_1$ das partículas produzidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05 (curva azul) e no ensaio 24/05 (curva a preto) ....	65
<b>Figura 49.</b> Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05.....	66

<b>Figura 50.</b> Influência da eliminação de <i>DCM</i> na evolução temporal de $D_{3,2}$ das partículas produzidas a partir da formulação <i>Tween+</i> no ensaio 24/05.....	66
<b>Figura 51.</b> Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação <i>Tween+</i> no ensaio 21/05 (curva vermelha) e no ensaio 24/05 (curva verde).....	67
<b>Figura 52.</b> Distribuições relativas ao final da monitorização <i>online</i> (curva vermelha) e na análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação <i>Tween+</i> (curva verde) no lote 21/05.....	68
<b>Figura 53.</b> Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação <i>Tween+</i> (à esquerda) obtida por microscopia ótica. ....	69

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Princípio de encapsulação de algumas das principais técnicas de encapsulação .....	7
<b>Tabela 2.</b> Especificações da formulação base.....	34
<b>Tabela 3.</b> Especificações da formulação $\phi+$ . .....	40
<b>Tabela 4.</b> Especificações da formulação <i>Tween+</i> .....	40
<b>Tabela 5.</b> Quantidade de partículas recolhidas após secagem e peneiração no ensaio 19/06..	42
<b>Tabela 6.</b> Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base.....	48
<b>Tabela 7.</b> Resultados obtidos na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base por difração <i>laser</i> . .....	49
<b>Tabela 8.</b> Resultados obtidos na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base por difração <i>laser</i> . .....	50
<b>Tabela 9.</b> Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação $\phi+$ .....	54
<b>Tabela 10.</b> Comparação dos resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base e formulação $\phi+$ . .....	55
<b>Tabela 11.</b> Comparação dos resultados obtidos no final da monitorização online com os obtidas análise das partículas produzidas a partir da formulação $\phi+$ por difração <i>laser</i> .....	56
<b>Tabela 12.</b> Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação N+, após se restringir os diâmetros a $d=[0; 200]$ $\mu\text{m}$ . .....	61
<b>Tabela 13.</b> Comparação dos resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base e formulação N+.....	62
<b>Tabela 14.</b> Comparação dos resultados obtidos no final da monitorização online com os obtidas na análise das partículas finais produzidas a partir da formulação base por difração <i>laser</i> .....	63
<b>Tabela 15.</b> Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação <i>Tween+</i> , após se restringir os diâmetros a $d=[0; 200]$ $\mu\text{m}$ .....	67
<b>Tabela 16.</b> Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação <i>Tween+</i> . .....	67
<b>Tabela 17.</b> Comparação dos resultados obtidos no final da monitorização online com os obtidas na análise das partículas finais produzidas a partir da formulação <i>Tween+</i> por difração <i>laser</i> . .....	68



## Nomenclatura

**BSA:** Bovine Serum Albumin  
**CAP:** Acetato de Celulose  
**CMC:** Concentração micelar crítica  
**CMOS:** Complementary Metal-oxide Semiconductor  
**CSTR:** Continuous stirred tank reator (Reator contínuo perfeitamente agitado)  
**CTAB:** Brometo de Cetiltrimetil Amônio  
**CyA:** Ciclosporina A  
**DCM:** Diclorometano  
**EC:** Etilcelulose  
**FBRM:** Focused beam reflectance measurement  
**FDA:** Food and drug administration  
**HLB:** Balanço hidrofílica-líofílico  
**HPLC:** High performance liquid chromatography (Cromatografia líquida de alta eficiência)  
**L-B-L:** Layer-by-layer assembly  
**LDS:** Laser diffraction spectroscopy (Espectroscopia de difração laser)  
**MAO:** Metilaluminoxano  
**OVA:** Ovalbumina  
**o/o:** Emulsão óleo em óleo  
**o/w:** Emulsão óleo em água  
**PEG:** Polietilenoglicol  
**PFC:** Hexadecafluoro-1,3-dimetilciclohexano  
**PFPO:** 3-Perfluorooctyl-1,2-propenoxide  
**PLA:** Poliacido Láctico  
**PLDA:** Poli-d-ácido Láctico  
**PLGA:** Poli(ácido Láctico-co-ácido Glicólico)  
**PLLA:** Poli-l-ácido Láctico  
**PMMA:** Polimetil-metacrilato  
**PS:** Poliestireno  
**PTFE:** Politetrafluoretileno  
**PVA:** Álcool Polivinílico  
**PVM:** Particle vision measurement  
**PVP:** Polivinilpirrolidona  
**ROP:** Ropinirol  
**SDS:** Dodecil Sulfato de Sódio  
**SEM:** Microscópio eletrônico de varrimento  
**SFT:** Space filtering  
**s/o/w:** Emulsão sólido em óleo em água  
**w/o/o/o:** Emulsão água em óleo em óleo em óleo  
**w<sub>1</sub>/o/w<sub>2</sub>:** Emulsão água em óleo em água  
**5-FU:** 5-Fluorouracil



## 1. Apresentação do problema e objetivos

A simplicidade e reprodutibilidade da encapsulação por evaporação de solvente fazem com que a técnica seja amplamente aplicada no revestimento de uma vasta gama de compostos. A formulação utilizada influencia as diversas características do produto final. Entre elas, o diâmetro é um parâmetro preponderante no desempenho da partícula.

O diâmetro, apesar de ser determinante na aplicação de partículas para fins terapêuticos, não é, usualmente, monitorizado ao longo do processo de fabrico. Esta lacuna encontra-se intimamente relacionada com o facto da maioria das técnicas de medição de tamanhos ser difícil de implementar na medição *online* de processos a nível industrial. O acompanhamento da evolução do diâmetro das partículas permitiria compreender melhor a cinética de solidificação das mesmas, garantir que o processo decorre de forma controlada e entender a influência dos vários parâmetros operatórios nas características do produto final.

Apesar do referido anteriormente, a área da monitorização em tempo real de um processo de encapsulação por evaporação de solvente apresenta-se como uma área pouco estudada. A partir da literatura consultada, verificou-se que o *Focused Beam Reflectance Measurement* se apresenta como a principal técnica aplicada neste âmbito. Verificou-se, por outro lado, que há referências da utilização de outras técnicas de medições de tamanhos (*Space Filtering*, técnicas ultrassónicas e difração *laser*) na monitorização de processos que envolvem material particulado. Como apurado em Rodrigues (2012) e Lima (2016), a técnica de difração *laser* apresenta potencial para ser aplicada em processos de encapsulação por evaporação de solvente. Assim, o objetivo principal do presente trabalho consiste na confirmação da viabilidade da utilização da técnica de difração *laser* para monitorizar este tipo de microencapsulação.

Deste modo, neste trabalho, optou-se por estudar um processo de encapsulação por evaporação de solvente de Ibuprofeno em Etilcelulose, monitorizando-se o tamanho das gotículas/partículas presentes no sistema ao longo do tempo. Primeiramente, procurou-se desenvolver uma formulação base que produzisse resultados satisfatórios. A partir desta, optou-se por estudar a influência de certos parâmetros no processo: fração volumétrica da fase dispersa, velocidade de agitação e concentração de surfatante. Pretende-se que o conjunto de ensaios realizados permita aferir, com base nos estudos preliminares efetuados, sobre a aplicabilidade da técnica de difração *laser* na monitorização *online* de um processo de microencapsulação por evaporação de solvente. Pretende-se ainda confirmar se esta técnica permite avaliar a influência de vários parâmetros operatórios no processo de microencapsulação (cinética e características do produto final).



## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Microencapsulação

A microencapsulação é um processo que permite revestir sólidos, líquidos (soluções, emulsões e suspensões) ou gases através da formação de um fino revestimento inerte em redor da substância em causa. Consoante o método utilizado, a microencapsulação pode produzir partículas desde as centenas de nanómetros até poucos milímetros (Silva et al. 2003, Ansari et al. 2012, Silva et al. 2014). Considera-se que a "verdadeira" encapsulação corresponde à formação de uma membrana sólida em redor de um único núcleo líquido (Poncelet et al. 2006). Contudo, o termo é aplicado a diferentes tipos de estruturas, como ilustrado na Figura 1. As microcápsulas podem ser classificadas em mononucleares, quando apresentam um único núcleo central; polinucleares, quando possuem vários núcleos no interior da partícula e tipo matriz, quando todo o material da esfera se encontra disperso no seu interior.

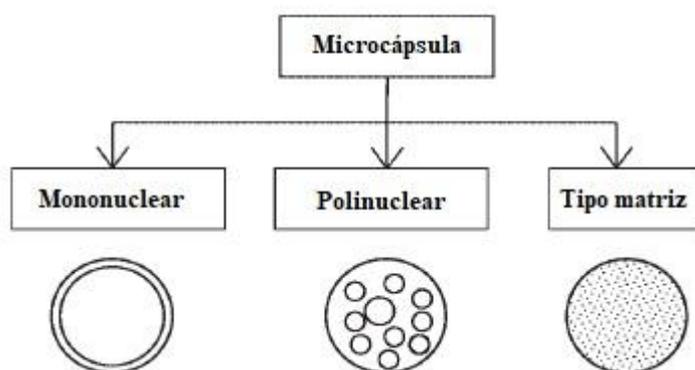


Figura 1. Classificação das micropartículas em função da sua estrutura interna (adaptado de Ghosh (2006))

As partículas podem também obter classificação consoante o seu tamanho. Quando apresentam tamanhos inferiores a 1  $\mu\text{m}$ , são consideradas nanopartículas. Já quando possuem diâmetros até 1 mm são classificadas como micropartículas. Finalmente, para tamanhos superiores, são consideradas macrocápsulas (Poncelet et al. 2006).

Na indústria farmacêutica, utiliza-se a microencapsulação para a preparação de cápsulas contendo ingredientes ativos, tendo sido utilizada pela primeira vez nos anos 30 do século XX quando Bungen burg de Jong e Kan utilizaram a técnica de coacervação para a produção de cápsulas de gelatina (Tiwaria & Verma 2011, Ansari et al. 2012). A microencapsulação permite revestir uma vasta gama de compostos, desde pequenas moléculas até moléculas complexas como peptídeos ou *ADN*.

Várias são as razões que motivam a utilização da microencapsulação de princípios ativos na indústria farmacêutica (Poncelet et al. 2006, Ghosh 2006, Silva et al. 2003, Jyothi et al. 2010, Ansari et al. 2012, Venkatesan et al. 2009):

- Imobilização, ou seja, limitar o contacto entre certos componentes de um sistema;

- Oferecer proteção se o fármaco é física, físico-química ou mecanicamente sensível ou instável e necessita de ser protegido do meio onde é inserido;
- Eliminação de efeitos secundários, como irritação gástrica, provocados por alguns fármacos;
- Controlo/redução da volatilidade do fármaco;
- Redução da higroscopia do material encapsulado;
- Libertação controlada e localizada do encapsulado, isto é, com uma cinética bem controlada;
- Manuseamento seguro de compostos tóxicos;
- Mascaramento de sabores ou odores desagradáveis;
- Estruturação do fármaco, que pode passar por transformar um componente líquido num pó, que é mais facilmente utilizado na indústria;
- Funcionalização através da manipulação das características da membrana, que respondendo a estímulos do meio, altera a sua permeabilidade.

Para que o material encapsulado seja posteriormente libertado é necessário que exista uma alteração na membrana que o envolve. Deste modo, os mecanismos de libertação de fármaco podem-se dividir em mecânicos, térmicos, de dissolução e químicos (Silva et al. 2014).

## **2.2. Técnicas de microencapsulação**

Uma técnica de encapsulação de sucesso deverá ser simples, rápida, reprodutível, fácil de ser adaptada a uma escala industrial e ser o menos dependente possível das propriedades dos materiais utilizados. É desejável que as microcápsulas incorporem concentrações elevadas de fármaco, apresentem estruturas estáveis com tamanhos definidos e com libertação controlada e prolongada do princípio ativo.

Estão atualmente desenvolvidas inúmeras técnicas, baseadas em diferentes princípios, para a realização da microencapsulação. O desempenho da partícula depende não só dos materiais utilizados, como também das propriedades estruturais da mesma. Assim, consoante o princípio ativo que se pretende encapsular e as propriedades desejadas para a partículas, existe para cada fármaco um determinado método assim como uma formulação mais adequados por forma a se atingir o produto final desejado. As técnicas podem ser divididas em processos químicos, físico-químicos ou físico-mecânicos. De seguida, serão destacadas algumas destas técnicas de encapsulação.

### **2.2.1 Processos químicos**

#### **Polimerização interfacial**

O material líquido do núcleo, contendo um monómero dissolvido, é disperso numa fase aquosa. O co-monómero é então adicionado à fase contínua, resultando numa rápida polimerização na interface da gotícula, gerando uma cápsula sólida que envolve o núcleo (Poncelet et al. 2006, Jyothi et al. 2010).

#### **Polimerização *in-situ***

De forma semelhante à técnica anterior, a formação do revestimento ocorre devido a um processo de polimerização. Contudo, o mecanismo para a sua formação é distinto. Na polimerização *in-situ*, é adicionado um pré-polímero de baixo peso molecular ao reator que vai crescendo e depositando-se na superfície do núcleo ao longo do tempo, gerando assim uma cápsula sólida (Jyothi et al. 2010).

### **2.2.2. Processos físico-químicos**

#### **Microencapsulação por Coacervação**

A coacervação baseia-se na deposição de um polímero na superfície do material a encapsular através de alterações físico-químicas no meio. É considerado o primeiro processo de microencapsulação adaptado à produção industrial (Servat et al. 2010, Aloys et al. (2016).

O material do núcleo é inicialmente disperso numa solução polimérica. De seguida, dá-se a separação da dispersão inicial em três fases distintas: a do material a encapsular, a da fase contínua (rica no solvente do polímero) e uma segunda fase líquida (coacervado) muito concentrada em polímero. Este processo de separação pode ser fomentado por diversos fatores, como a alteração de temperatura, alteração de pH, adição de um não-solvente, etc. O coacervado terá tendência para se depositar na superfície do encapsulado e, por fim, solidificar, geralmente por *cross-linking* (Poncelet 2006, Jyothi et al. 2010, Servat et al. 2010, Silva et al. 2014).

#### **Microencapsulação por multicamada de polieletrólitos**

Também denominada *Layer-by-layer assembly (L-B-L)*, nesta técnica as microcápsulas são produzidas mergulhando sucessivamente o núcleo sólido num polieletrólito carregado positiva ou negativamente. O polieletrólito deposita-se à superfície do encapsulado, originando-se deste modo partículas com estrutura mononuclear e tamanho controlado. A *L-B-L* apresenta-se como um processo versátil e simples, podendo-se controlar a espessura do encapsulante variando o número de imersões da partícula (Ghosh 2006).

### **2.2.3. Processos físico-mecânicos**

#### **Microencapsulação por *Spray-drying***

O *Spray-drying* apresenta-se como uma técnica de encapsulação relativamente económica, bastante utilizada no revestimento de óleos e fragrâncias. Primeiramente, o material do núcleo é disperso numa solução polimérica. A dispersão é de seguida pulverizada numa câmara. A elevada temperatura no seu interior provoca a evaporação do solvente do encapsulante, que acaba por se solidificar em volta do fármaco, obtendo-se microcápsulas polinucleares ou tipo matriz. Permite obter partículas esféricas e uniformes, com produção contínua de elevadas quantidades de material (Ghosh 2006, Poncelet et al. 2006, Jyothi et al. 2010, Servat et al. 2010, Silva et al. 2014).

#### **Microencapsulação por *Spray-congealing***

De forma semelhante ao *Spray-drying*, o material encapsulado é disperso no polímero. Contudo, este último encontra-se liquefeito e não em solução. Depois da pulverização, a corrente fria que atravessa a câmara conduz, por abaixamento da temperatura, à solidificação do polímero sobre o material do núcleo. Ceras, ácidos gordos e polímeros com temperatura de transição vítrea baixa são bastante aplicados no *Spray-congealing* (Jyothi et al. 2010).

#### **Microencapsulação por leito fluidizado**

Nesta técnica, uma solução que contém o material do revestimento é injetada num leito fluidizado do material a encapsular, formando-se um revestimento sólido sobre o material do núcleo através da evaporação do solvente do polímero. A técnica permite controlar convenientemente a espessura do invólucro. Este processo pode ser aplicado através de injeção pelo topo, pela base ou tangencialmente ao leito (Ghosh 2006, Poncelet et al. 2006, Jyothi et al. 2010).

As técnicas apresentadas anteriormente (assim com a microencapsulação por evaporação de solvente que será apresentada de seguida) e os seus princípios de encapsulação encontram-se sintetizadas na Tabela 1.

**Tabela 1. Princípio de encapsulação de algumas das principais técnicas de encapsulação**

<b>Tipo de processos</b>	<b>Nome da técnica</b>	<b>Princípio de encapsulação</b>
Químicos	Polimerização interfacial	Co-polimerização à superfície do material do núcleo.
	Polimerização <i>in-situ</i>	Crescimento de um pré-polímero de baixo peso molecular na superfície do núcleo
Físico-químicos	Coacervação	Separação da um fase líquida numa fase rica em polímero (coacervado) e noutra rica em solvente. A primeira deposita-se no núcleo e solidifica.
	<i>Layer-by-layer assembly</i>	Deposição de polieletrólitos na superfície do material do núcleo.
Físico-mecânicos	<i>Spray-drying</i>	Precipitação de polímero sobre a superfície do núcleo por evaporação do solvente.
	<i>Spray-congealing</i>	Solidificação de polímero previamente fundido sobre a superfície do núcleo por abaixamento de temperatura.
	Leito fluidizado	Pulverização de uma solução polimérica num leito fluidizado do material do núcleo. O polímero solidifica por evaporação do solvente.
	Evaporação de solvente	Precipitação do polímero por evaporação do solvente onde estava solubilizado

### **2.3. Microencapsulação por emulsificação/evaporação de solvente**

A microencapsulação por evaporação de solvente baseia-se na precipitação do polímero devido à eliminação do solvente onde se encontra inicialmente dissolvido. É composto por 4 passos principais: incorporação do princípio ativo, formação de gotículas, remoção do solvente e secagem.

#### **Incorporação do princípio ativo**

Este primeiro passo consiste em adicionar o fármaco a uma solução polimérica. Desta etapa, pode-se obter uma dispersão (quando o fármaco, no estado sólido, é suspenso na solução polimérica), solução (quando tanto o polímero como o princípio ativo se encontram solubilizados num solvente comum) ou emulsão (quando uma solução de fármaco é emulsionada na solução polimérica). Esta etapa necessita de agitação ou sonificação para homogeneizar a mistura de componentes.

#### **Formação de gotículas**

De seguida, dá-se a formação de gotículas. Este apresenta-se como um passo de importância capital, uma vez que determina o tamanho das microcápsulas resultantes. O diâmetro das partículas é uma característica fundamental, uma vez que influencia a eficiência de encapsulação e a cinética de libertação do fármaco (Ansari et al. 2012). Para além da simples agitação mecânica, as gotículas podem ser formadas através de outros procedimentos: *static mixers*, extrusão e gotejamento.

### Static Mixers

Tem existindo um crescente interesse em equipamentos contínuos, especialmente nos *static mixers*. Estes baseiam-se na inserção de um conjunto de chicanas ou outro conjunto de obstáculos ao escoamento no interior de tubos. Esta conformação permite a repetida divisão e aglomeração da corrente que atravessa o tubo. Os *static mixers*, para além de permitirem uma operação contínua, apresentam vantagens de eficiência de mistura e *scale-up* relativamente ao reator contínuo perfeitamente agitado (*CSTR*). Na Figura 2, encontra-se esquematizado um processo de encapsulação com *static mixers* (Freitas et al. 2005, Poncelet et al. 2006, Tiwaria & Verma 2011, Ansari et al. 2012).

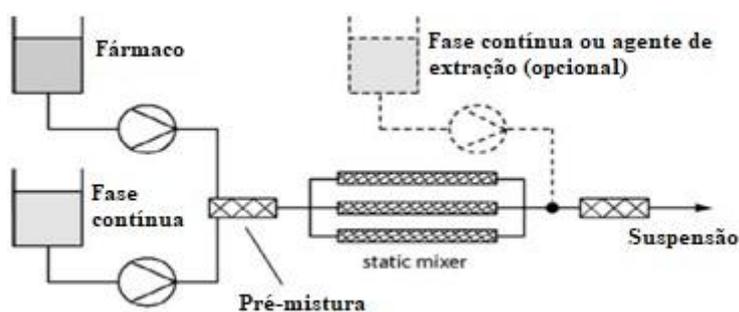


Figura 2. Ilustração esquemática de um processo de encapsulação com formação de gotículas através de *static mixers* (adaptado de Tiwaria & Verma (2011))

### Extrusão

As gotículas podem também ser formadas por extrusão. Neste procedimento, o escoamento da fase interna é realizado por pequenos canais até que a descarregam na fase contínua, formando-se descontinuamente gotículas à saída desses canais. Devido a isso, o momento em que as duas fases se misturam é determinante no tamanho das partículas obtidas. Este procedimento baseia-se no escoamento em regime laminar, contrariamente ao *static mixer* cujo regime turbulento provoca uma alteração no tamanho de gotículas ao longo do comprimento do misturador. Desta forma, a extrusão permite um tamanho de microesferas mais uniforme e controlado (Freitas et al. 2005, Poncelet et al. 2006, Tiwaria & Verma 2011, Ansari et al. 2012).

### Gotejamento

Finalmente, as gotículas podem ser formadas por gotejamento da fase dispersa na fase contínua através de uma agulha. O gotejamento envolve a aplicação um campo elétrico à fase dispersa que, devido ao efeito das forças electrostáticas, se separa da agulha (Poncelet et al. 2006, Tiwaria & Verma 2011, Ansari et al. 2012).

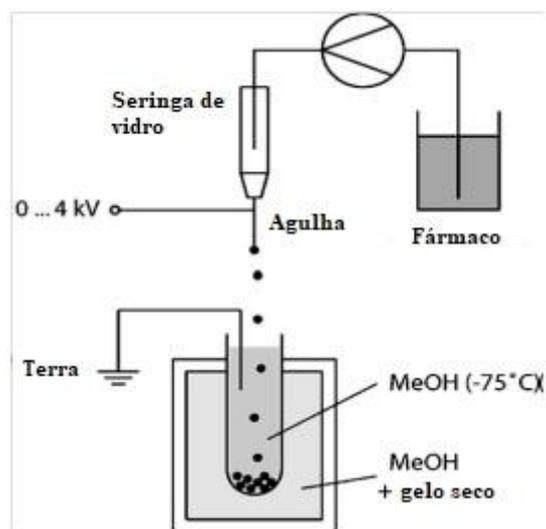


Figura 3. Ilustração esquemática de um processo de encapsulação com formação de gotículas por gotejamento (adaptado de Freitas et al. (2005))

### Remoção do solvente

O terceiro passo desta técnica corresponde à evaporação ou extração do solvente. Para ambos os casos, é importante que o solvente seja ligeiramente solúvel na fase contínua para que seja removido da fase dispersa e o polímero possa precipitar. A remoção de solvente por extração permite obter partículas mais regulares, com menor diâmetro e com distribuições mais estreitas. Contudo, a remoção mais rápida associada à extração faz com que as partículas apresentem maior porosidade, o que aumenta a libertação inicial exagerada (efeito *burst*) do fármaco (Silva et al. 2003). Este passo pode decorrer com o auxílio de aquecimento ou redução de pressão.

### Secagem

Finalmente, as partículas sólidas são recolhidas por filtração ou centrifugação e lavadas com solventes apropriados que permitem retirar eventuais impurezas (como surfatante ou fármaco não encapsulado). Posteriormente, as microcápsulas são secas a temperaturas elevadas ou pressão reduzida, retirando-se eventuais quantidades de solvente ou fase contínua, de modo a se obter o material particulado.

### Estratégias de encapsulação por evaporação de solvente

Consoante o tipo e características dos materiais a utilizar, pode-se realizar o processo de encapsulação partindo de diferentes tipos de emulsão. O sistema *oil-in-water* (*o/w*) tem-se vindo a revelar eficaz quando aplicado a fármacos não solúveis em água. Este tipo de emulsão, uma vez que utiliza água como fase contínua, apresenta-se como um processo mais económico, que não necessita de métodos de reaproveitamento da fase externa, produzindo partículas facilmente laváveis e com menor aglomeração (Silva et al. 2003). Por vezes, é necessário a adição de um co-solvente, como o Metanol ou o Etanol, à fase orgânica, quando esta não consegue solubilizar o fármaco.

Quando se dispersa o encapsulado no estado sólido no seio da fase orgânica, como sucede em Maa & Hsu (1996), a emulsão é denominada *solid-in-oil-in-water (s/o/w)*.

Um dos maiores problemas associados ao sistema *o/w* prende-se com a sua aplicação a fármacos solúveis em água, que apresentam eficiências de encapsulação demasiado baixas. Devido a isso, desenvolveu-se o sistema com múltipla emulsão *water-in-oil-in-water (w<sub>1</sub>/o/w<sub>2</sub>)*. A utilização de uma fase aquosa externa encontra justificação na dificuldade em eliminar fluidos hidrofóbicos das microcápsulas finais, que podem até causar a ocorrência de resíduos indesejáveis no produto final (Freitas et al. 2005). Nesta emulsão múltipla, o fármaco é dissolvido numa primeira fase aquosa que é depois emulsionada na fase orgânica que contém o polímero. Finalmente, a emulsão primária (*w<sub>1</sub>/o*) é dispersa numa fase aquosa externa e, sob agitação, segue-se a etapa de remoção do solvente (Ansari et al. 2012).

Existem outros tipos de emulsões múltiplas, como *water-in-oil-in-oil-in-oil (w/o/o/o)* apresentado em Iwata & McGinity (1991). Neste artigo, as microesferas de Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (*PLGA*) encapsulam a emulsão primária *w/o* que contém o fármaco solubilizado na fase aquosa. O *PLGA* encontra-se solubilizado no solvente da fase orgânica intermédia, neste caso, a Acetonitrila. A fase orgânica mais interna tem como propósito prevenir o contacto entre a proteína a encapsular e solução polimérica. Esta barreira encontra justificação na possibilidade do solvente ou do polímero poderem desnaturar o material encapsulado. Esta metodologia permitiu alcançar eficiências de encapsulação entre 80 e 100%.

Heiskanen et al. (2012) estudaram o processo de encapsulação pelo método *oil-in-oil (o/o)*. Utilizam uma solução de Metilaluminoxano (*MAO*) em Tolueno, dispersa em Hexadecafluoro-1,3-dimetilciclohexano (*PFC*) previamente saturado em Tolueno. De forma semelhante, em Kashif et al. (2016) utiliza-se uma emulsão *o/o* de forma a minimizar a migração do fármaco hidrofílico para a fase contínua. Para a implementação deste tipo de emulsão, é necessário que a fase interna assegure a solubilização do encapsulado.

### **2.3.1. Fatores que influenciam as características das partículas**

Tal como ilustra a Figura 4, as características das micropartículas obtidas (diâmetro, forma, morfologia, etc.) dependem não só dos materiais utilizados, como da formulação utilizada, das condições de operação e da geometria da encapsulação. Estas variáveis influenciam também parâmetros como a eficiência de encapsulação, rendimento global, concentração de fármaco, velocidade de libertação do princípio ativo, etc. Desta forma, é importante entender de que forma se pode manipular o processo de encapsulação de modo a conduzir o processo a produzir microcápsulas com as características pretendidas.

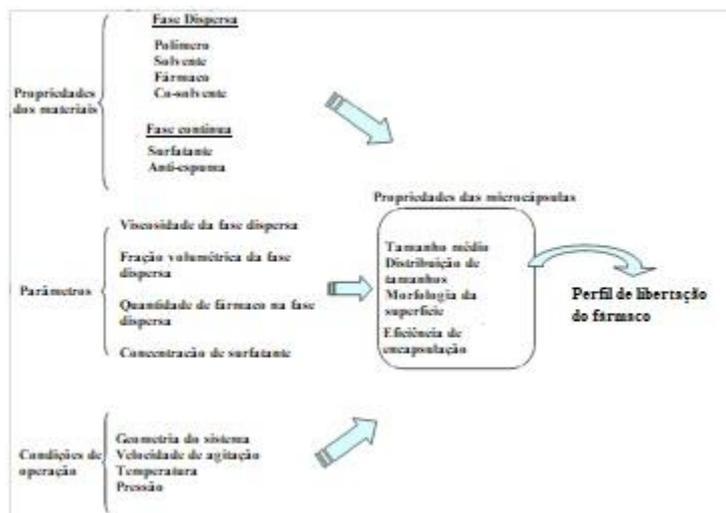


Figura 4. Fatores que influenciam o desempenho das micropartículas (adaptado de Li et al. (2008))

Alguns artigos, como Chatzi et al. (1991) e Li et al. (2008), apresentam equações que pretendem prever o tamanho das partículas. Exemplo disso é a equação apresentada em 1955 por J. O. Hinze que permite calcular a razão entre o diâmetro máximo das partículas,  $d_{\text{máx}}$ , e o diâmetro do agitador,  $D$ , através da Equação 1:

$$\frac{d_{\text{máx}}}{D} = c_1 \left( \frac{\rho_c N^2 D^3}{\sigma} \right)^{-0,6} = c_1 We^{-0,6} \quad \text{Eq. (1)}$$

onde,  $\rho_c$  é a massa volúmica da fase contínua,  $N$  a velocidade de agitação,  $\sigma$  a tensão interfacial e  $c_1$  uma constante. Finalmente,  $We$  é denominado de número de *Weber*. O diâmetro máximo das partículas pode ser linearmente relacionado com o diâmetro de *Sauter*,  $D_{3,2}$ , como apresentado na Equação 2.

$$\frac{D_{3,2}}{D} = c_2 We^{-0,6} \quad \text{Eq.(2)}$$

Contudo, a Equação 1 não contabiliza a coalescência de gotículas, dependendo apenas de fenómenos de quebra. Há ainda outro tipo de equações que contabilizam a influência da fração volumétrica,  $\phi$ , como a apresentada na Equação 3.

$$\frac{d_{\text{máx}}}{D} = c_3 (1 + c_4 \phi) \left( \frac{\rho_c N^2 D^3}{\sigma} \right)^{-0,6} \quad \text{Eq. (3)}$$

No artigo de Maa & Hsu (1996), pretendeu-se desenvolver uma equação que previsse o diâmetro das partículas obtidas, correlacionando-o não só com a configuração do reator, como também com as quantidades e propriedades físicas dos materiais. Experiências realizadas separadamente sugeriram que a área das chicanas não tem influência no diâmetro das partículas.

A equação obtida baseou-se nos resultados de uma encapsulação por evaporação de solvente a partir da técnica *o/w*. As partículas não se encontravam carregadas por qualquer

tipo de fármaco, sendo constituídas exclusivamente por *PLGA*. Este conjunto de ensaios permitiu chegar à Equação 4, dependente de 5 números adimensionais.

$$g(\rho_0 - \rho_\infty) d_p^2 / \sigma = \Pi_3^{-0,280} \Pi_3^{-0,108} \Pi_4^{0,056} (0,0255 \Pi_5 + 0,0071) \quad \text{Eq.(4)}$$

Grupo	Definição
$\Pi_1$	$g(\rho_0 - \rho_\infty) d_p^2 / \sigma$
$\Pi_2$	$g(D\omega)^4 / (\sigma g)$
$\Pi_3$	$g\mu_a^4 / \rho_a \sigma^3$
$\Pi_4$	$g\mu_0^4 / \rho_a \sigma^3$
$\Pi_5$	$c / \rho_a$

Onde  $g$  corresponde à aceleração gravítica,  $\rho_0$  à massa volúmica da fase orgânica,  $\rho_a$  à massa volúmica da fase aquosa,  $\mu_0$  à viscosidade da fase orgânica,  $\mu_a$  à viscosidade da fase aquosa,  $\sigma$  à tensão interfacial entre as duas fases,  $D\omega$  à velocidade de agitação e  $c$  à concentração de polímero

A etapa seguinte passou por testar a validade da equação quando aplicada à previsão de tamanhos de partículas carregadas. Para isso, dispersou-se *BSA* na fase orgânica, utilizando-se, por isso, o método *s/o/w*. Tanto para partículas de *PLGA* como para partículas Polimetilmetacrilato (*PMMA*), verificou-se que os valores previstos pelas equações apresentaram desvios de aproximadamente 10% relativamente aos obtidos experimentalmente. Este comportamento indica que a correlação baseada nos resultados da encapsulação de partículas não carregadas pode prever satisfatoriamente o tamanho das partículas produzidas a partir da emulsão *s/o/w*.

Finalmente, Maa & Hsu (1996) fizeram o *scale-up* do processo, avaliando a validade do modelo para os sistemas com maior dimensão. Partindo do volume inicial de 1 L, testou-se a Equação 4 para volumes de emulsão de 3, 10 e 100 L. Todos os resultados experimentais diferiram menos de 20% dos resultados obtidos pela correlação. Estes desvios sugerem que a equação consegue prever o tamanho de partículas para processos até 100 L.

Contudo, a Equação 4 aparenta ser aplicável apenas a certos sistemas, dependendo das interações entre os diferentes materiais da encapsulação. No estudo do *scale-up*, procurou-se utilizar polímeros economicamente mais vantajosos, diminuindo-se custos associados à utilização de maior quantidade do mesmo. Assim, ainda para um reator de 1 L, avaliou-se a validade da Equação 4 em sistemas com *PMMA* e Poliestireno (*PS*). Enquanto as micropartículas de *PMMA* apresentaram diâmetros experimentais com desvios inferiores a 5% relativamente aos tamanhos previstos, estes desvios chegaram aos 50% no caso de *PS*. Este fenómeno poderá indicar que, como referido anteriormente, o modelo não se adequa a todos os tipos de sistema.

Em suma, os parágrafos anteriores permitiram verificar que a encapsulação por evaporação de solvente depende de inúmeras variáveis a nível de materiais e do próprio processo. Apesar dos esforços desenvolvidos no sentido de se prever o tamanho das partículas obtidas com determinada formulação conhecida, este procedimento tem se demonstrado bastante complicado. Assim, são apresentados de seguida alguns dos fatores que influenciam

o processo de encapsulação e discutida de que forma é que exercem a sua influência no mesmo.

### **Polímero**

O revestimento polimérico deverá ser escolhido em função do fármaco a encapsular. Para além de ter de formar um filme coeso com o fármaco, deverá fornecer à partícula certas características como estabilidade, redução da volatilidade, perfis de libertação desejados, etc. Além disso, deverá ser quimicamente compatível e não reativo com o núcleo, assim como oferecer à partícula flexibilidade, impermeabilidade e determinadas propriedades óticas. Atualmente, os polímeros mais utilizados na microencapsulação por evaporação de solvente são (Ansari et al. 2012):

- Proteínas naturais como a Albumina, Colagénio, Caseína, etc;
- Polissacarídeos naturais como o Amido, Dextrina, Alginato, Quitosana, etc;
- Polissacarídeos semissintéticos como a Etilcelulose (*EC*), Metilcelulose, etc.;
- Polímeros sintéticos como o Poliacido láctico (*PLA*), Poli(ácido láctico-*co*-ácido glicólico) (*PLGA*), Poliacido beta-hidroxibutírico, etc.

As propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade são parâmetros importantes na aplicação de micropartículas na indústria farmacêutica (Silva et al. 2003, Venkatesan et al. 2009). A biodegradabilidade implica que o material se degrade em componentes inócuos que são metabolizados ou expelidos. Já a biocompatibilidade envolve que os compostos sejam fisiologicamente toleráveis e não causem resposta adversa depois de administrados (Li et al. 2008). Devido à excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade do *PLA* e *PLGA*, estes polímeros apresentam-se como os mais utilizados na microencapsulação por evaporação de solvente. A Etilcelulose, Acetato de celulose, Ftalato de Acetato de Celulose (*CAP*), Butirato Acetato de Celulose e os vários polímeros *Eudragit* são também bastante utilizados na encapsulação de vários fármacos através da técnica de evaporação de solvente. Além de se terem revelado eficazes em termos de facilidade de preparação, controlo de tamanhos e de libertação do principio ativo, estes polímeros são bastante mais baratos que o *PLA* e *PLGA* (Freitas et al. 2005, Singh et al. 2014).

Consoante as suas propriedades físico-químicas, o tipo de polímero influencia a encapsulação. No artigo de Dash et al. (2010), os autores estudaram a influência do polímero na encapsulação de Aspirina. Foram avaliados os desempenhos da *EC*, *CAP* e da mistura dos dois polímeros. O diâmetro das partículas produzidas com Etilcelulose foi superior ao das obtidas com *CAP* e com *CAP+EC*. Os autores atribuíram este comportamento às diferentes velocidades de evaporação e solubilidades de cada polímero no solvente. Os rendimentos globais elevados, entre 90 e 94%, foram superiores quando utilizado *CAP*, seguido da utilização de Etilcelulose e, finalmente, *CAP+EC*. Associado a isso, as microcápsulas de *CAP* obtiveram uma eficiência de encapsulação superior.

A encapsulação de Ibuprofeno em Etilcelulose conjuntamente com um dos polímeros solúveis em água Polivinilpirrolidona (*PVP*) ou Polietilenoglicol (*PEG*) realizada em Khan et al. (2010) permitiu concluir sobre a influência do polímero na encapsulação. O *PVP* e o *PEG* são usados com o objetivo de controlar a morfologia/porosidade da partícula formada. Quando a concentração do polímero solúvel em água aumenta, a superfície da microcápsula torna-se mais porosa, adquirindo uma maior velocidade de libertação de Ibuprofeno. Estas modificações resultam da transferência de *PVP* ou *PEG* para a fase aquosa aquando da solidificação. Os resultados também mostraram que a diminuição da concentração de *EC* em prol do aumento da concentração de *PVP* ou *PEG* conduz à diminuição do rendimento global, causada pela perda dos polímeros solúveis em água para a fase aquosa. Por outro lado, a eficiência de encapsulação aumenta com a maior concentração de *PVP* ou *PEG*. Uma vez que existe uma maior quantidade de polímero perdida para a fase contínua com a diminuição da razão *EC/PVP* ou *EC/PEG*, a massa relativa de Ibuprofeno nas cápsulas irá aumentar. Uma vez que o *PVP* é mais solúvel em água, a eficiência da encapsulação é superior nas cápsulas formadas com este polímero.

Para além do tipo de polímero utilizado, a sua quantidade na fase dispersa também é um fator importante. A sua concentração influencia sobretudo a viscosidade dessa mesma fase que, por consequência, terá influência no rendimento global, eficiência de encapsulação e diâmetro das partículas. Apesar de se poder manipular a viscosidade da fase contínua, não é habitual fazê-lo uma vez que é mais difícil recolher as partículas de um líquido viscoso.

No artigo de Bodmeier & McGinity (1988), num estudo de encapsulação de Sulfato de quinidina em *PLA* a partir da emulsão *o/w*, variou-se a razão polímero/solvente, mantendo constante o volume da fase aquosa. Este parâmetro foi ajustado através da alteração do volume de solvente e a viscosidade será tanto maior quanto menor for esse volume. Verificou-se que o aumento da quantidade relativa de polímero faz com que a concentração de *PLA* na gotícula aumente, levando a uma precipitação mais rápida à superfície. A membrana sólida inibe a migração de fármaco para a fase aquosa, aumentando a eficiência da encapsulação. Contudo, este tipo de experiência que varia o volume de solvente, influencia também a fração volumétrica da fase dispersa, outro dos parâmetros que atua sobre o processo. Deste modo, não aparenta ser a forma mais adequada de averiguar a influência da concentração de polímero.

A encapsulação de Aspirina em Etilcelulose estudada por C.Y. Yang et al. (2000) revelou que o aumento da concentração de polímero na fase orgânica aumenta o diâmetro das partículas, rendimento global e eficiência de encapsulação, mas diminui a velocidade de libertação. O autor atribuiu o aumento de rendimento e eficiência à elevada viscosidade da fase dispersa que previne a migração de polímero e fármaco para a fase aquosa. Já a redução da velocidade de libertação está associada ao facto das partículas apresentarem maior diâmetro (o que implica menor área superficial) e paredes mais espessas.

Nepal et al. (2007) estudaram a encapsulação de Josacimina em *Eudragit* E100 por evaporação de solvente. Os autores concluíram que a maior viscosidade associada à maior quantidade de polímero conduz ao aumento do diâmetro das partículas produzidas.

Em Valot et al. (2009) apresenta-se o estudo do processo de encapsulação de Ibuprofeno em *Eudragit RSPO* ou Etilcelulose. A utilização de uma concentração de *Eudragit* de 37,5; 50 e 62,5 g.l<sup>-1</sup> produziu partículas com 10, 28 e 20 µm, respetivamente. Devido à sua menor viscosidade, é normal que a concentração mais baixa de polímero produza partículas com diâmetro menor. Quanto às duas formulações mais concentradas, o autor refere que o diâmetro não apresenta uma variação significativa visto que os desvios das medições rondam os 5 µm. Para as mesmas concentrações de Etilcelulose, a utilização de uma concentração de 50 g.l<sup>-1</sup> produziu microcápsulas com o menor diâmetro e com uma distribuição mais apertada do que a utilização de 37,5 ou 62,5 g.l<sup>-1</sup>.

No artigo de Kashif et al. (2016), onde se estudou a encapsulação de Ropinirol (*ROP*) em *Eudragit RS 100* pelo método de emulsão *o/o* seguido da evaporação de solvente, observou-se o aumento da eficiência de encapsulação com o aumento da concentração de polímero. Este incremento é causado pelo aumento da viscosidade da fase dispersa e aumento da espessura da matriz polimérica, dois fenómenos que previnem a migração de fármaco para a fase externa. O aumento da viscosidade também conduz à produção de partículas com maior diâmetro. O maior diâmetro (e conseqüente menor área superficial) juntamente com a maior espessura da parede fornecem uma menor velocidade de libertação de fármaco às partículas produzidas com maior concentração de *Eudragit RS 100*.

### **Solvente**

O solvente a utilizar na encapsulação por evaporação de solvente deverá dissolver o polímero escolhido, ser pouco solúvel na fase contínua, ser o menos tóxico possível, apresentar um baixo ponto de ebulição e elevada volatilidade.

Atualmente, os solventes mais utilizados são o Clorofórmio, Diclorometano (*DCM*), Acetato de etilo e o Metanoato de etilo. O Clorofórmio, apesar de ter sido utilizado frequentemente no passado, tem visto a sua utilização diminuir devido à elevada toxicidade, tendo sido substituído pelo Diclorometano. Este solvente orgânico é o mais utilizado atualmente na microencapsulação por evaporação de solvente. O sucesso associado à sua utilização deve-se, essencialmente, à sua elevada volatilidade, baixo ponto de ebulição e elevada imiscibilidade na água. A elevada pressão de vapor permite diminuir o tempo da encapsulação. Contudo, o Diclorometano é classificado como carcinogénico pela *Environmental Protection Agency* (Singh et al. 2014)

Neste sentido, o Acetato de etilo tem-se vindo a impor como uma alternativa menos tóxica ao Diclorometano. Contudo, este solvente apresenta uma solubilidade em água cerca de 4,5 vezes superior à do Diclorometano, o que provoca uma extração demasiado rápida do mesmo para a fase contínua. Este fenómeno leva à precipitação do polímero em aglomerados

fibrosos. Apesar disso, este entrave pode ser atenuado através de 3 métodos (Li et al. 2008, Singh et al. 2014):

- Pré-saturação da fase aquosa com o solvente orgânico;
- Dispersão da fase orgânica numa pequena quantidade de fase aquosa, sendo transferida para a quantidade final de solução aquosa depois da formação das gotículas;
- Dispersão da fase orgânica numa pequena quantidade de fase aquosa, agitando-se a emulsão de modo a provocar a evaporação do solvente e solidificação das esferas.

Os substituintes menos tóxicos do Diclorometano aparentam ter um futuro promissor na encapsulação por evaporação de solvente. Contudo, ainda não existem resultados suficientes para realizar uma comparação adequada do desempenho dos solventes. Posto isto, o Diclorometano continua a apresentar-se como um solvente de referência que exhibe elevadas eficiências de encapsulação e produz partículas mais esféricas e uniformes (Li et al. 2008, Singh et al. 2014).

No estudo de Bodmeier & McGinity (1988) avaliou-se o efeito do solvente na encapsulação de Quinida e Sulfato de quinidina em *PLA*. Inicialmente, pensou-se que a solubilidade do encapsulado no solvente fosse o fator mais importante na eficiência de encapsulação. Contudo, apesar da solubilidade de Sulfato de quinidina em Clorofórmio ser cerca de 10 vezes superior à sua solubilidade em *DCM*, este último apresenta eficiências superiores. Conclui-se assim que solventes como o Benzeno e o Clorofórmio, que apresentam uma solubilidade em água demasiado baixa, difundem-se muito lentamente para a fase aquosa. Devido a isso, as gotículas permanecem demasiado tempo no estado líquido, o que permite que o fármaco se difunda através da interface da gota não precipitada e migre para a fase aquosa, o que diminui a sua concentração na partícula. Assim, apesar da solubilidade do encapsulado em Clorofórmio ser cerca de 10 vezes superior à sua solubilidade em Diclorometano, a utilização deste último produz uma encapsulação mais eficiente.

C.Y.Yang et al. (2000) averiguaram a influência de um não-solvente (n-heptano) na encapsulação de Aspirina em Etilcelulose. Este composto permite diminuir o tempo de precipitação do polímero, tendo-se também verificado que a presença de N-heptano diminui a quantidade de *EC* depositado na parede do reator. Este composto orgânico aumenta o rendimento global mas diminui o tamanho das partículas, que também apresentaram uma superfície mais porosa.

### **Razão fármaco/polímero**

O polímero apresenta uma capacidade limitada de encapsulação, sendo que a razão fármaco/ polímero é outro dos fatores que influencia o processo de encapsulação. De forma geral, uma superior concentração inicial de encapsulado na emulsão diminuirá a eficiência da

encapsulação e aumentará o efeito *burst* aquando da sua libertação (Freitas et al. 2005). Contudo, nem toda as referências encontradas na literatura apontam neste sentido.

Uma investigação sobre a encapsulação de Ovalbumina (*OVA*) em *PLGA* pelo método *w/o/w* é apresentada em Jeffery et al. (1993). Os autores verificaram que o aumento da razão *OVA/PLGA* resulta num aumento do diâmetro das partículas, fenómeno atribuído à maior quantidade de matéria encapsulada. A eficiência de encapsulação, contudo, não foi afetada. Em termos de morfologia, elevados rácios de *OVA/PLGA* originam superfícies mais porosas e o colapso de algumas partículas. Quando estas razões são inferiores, as superfícies são mais lisas e não se observam microcápsulas colapsadas. Desta forma, conclui-se que para valores de *OVA/PLGA* elevados, a quantidade de polímero é insuficiente para cobrir completamente o fármaco.

Em Gabor et al. (1999) observou-se que o aumento de Cetoprofeno, apesar de aumentar a concentração de fármaco na partícula, reduz a eficiência de encapsulação. Por outro lado, não teve influência no diâmetro das microesferas.

A microencapsulação de Metformina em Etilcelulose realizada pela equipa do artigo Ansari et al. (2012) revelou que, mantendo a velocidade de agitação e concentração de surfatante constantes, a eficiência de encapsulação aumenta com a redução da razão droga/polímero (alcançada através do aumento da quantidade de polímero). O aumento da quantidade relativa de polímero facilita o revestimento do fármaco. Para além disso, a maior concentração de *EC* levou à produção de partículas de maior diâmetro. Esta razão também influencia a libertação do fármaco: uma vez que a quantidade de polímero aumenta, a velocidade de libertação do principio ativo diminui graças à maior espessura da matriz polimérica.

### **Fração volumétrica da fase dispersa ( $\phi$ )**

Os artigos que estudam a influência da fração volumétrica da fase dispersa, não têm apresentado total consenso. Apesar de equações empíricas como a Equação 3 apontarem para o aumento do tamanho médio das partículas com o aumento da fração volumétrica da fase dispersa,  $\phi$ , como referido, tal não é verificado experimentalmente.

Em Jeffery et al. (1993), estudou-se a influência do volume da fase aquosa externa numa encapsulação a partir de uma emulsão  $w_1/o/w_2$ . Tratando a emulsão primária  $w_1/o$  como uma só fase descontínua, verificou-se que o aumento do volume aquoso externo (diminuição de  $\phi$ ) conduz a um aumento no diâmetro das partículas e na eficiência de encapsulação. O maior tamanho das micropartículas é atribuído à diminuição da eficiência de agitação inerente ao maior volume de emulsão. Uma vez que as partículas são maiores, conseguem incorporar maior quantidade de fármaco logo, a eficiência da encapsulação aumenta. Este parâmetro atingiu os 98%. O volume da fase aquosa externa não afetou a morfologia do produto final.

No estudo desenvolvido por Gabor et al. (1999) verificou-se que o aumento do volume da fase orgânica de uma emulsão *o/w*, com massa constante de polímero, leva à produção de partículas menores e com distribuições mais estreitas. Este tipo de ensaio faz com que a

variação de  $\phi$  seja acompanhada por uma alteração da concentração de polímero na fase dispersa. Desta forma, não permite o estudo isolado do efeito da fração volumétrica da fase dispersa. Pelo contrário, quando a mesma experiência é conduzida com concentração de *PLGA* constante, não se observa alteração no diâmetro das partículas. Os autores referem que o tamanho de gotículas se mantém constante para uma velocidade de agitação constante. Desta forma, reduzindo a concentração de *PLGA*, reduz-se também a quantidade de polímero em cada gotícula o que, após solidificação, faz com que as partículas apresentem um diâmetro menor. O facto da menor concentração de polímero diminuir a viscosidade da fase orgânica também reduz o tamanho das microesferas.

O artigo de Parikh et al. (2003) estuda, através de processo de encapsulação de 5-Fluorouracil (*5-FU*), solúvel em água, em *PLGA* pelo método  $w_1/o/w_2$ , a influência do volume de ambas as fases aquosas. Verificou-se que o aumento do volume da fase externa diminui o rendimento do processo e o diâmetro de partículas. Assim, considerando que a emulsão primária da emulsão  $w_1/o/w_2$  se comporta como a fase orgânica de uma emulsão  $o/w$ , verificou-se que o diâmetro diminui com a redução de  $\phi$ . Este fenómeno foi atribuído à ocorrência de menor número de colisões, que provoca uma coalescência menor. A diminuição da eficiência de encapsulação e do rendimento global são fenómenos que, provavelmente, se deveram à maior migração de fármaco para  $w_2$  e aumento da porosidade.

No artigo de Nepal et al. (2007), observou-se a redução do tamanho das partículas com o aumento de  $\phi$ . Segundo os autores, uma vez que existe maior quantidade de solvente, as gotículas estão sujeitas durante mais tempo a tensões de corte antes de solidificarem, o que provoca uma diminuição de tamanhos. O rendimento global não apresentou uma tendência definida com a variação da fração volumétrica de fase dispersa.

Em Valot et al. (2009) o estudo da influência da fração volumétrica da fase dispersa foi realizado através da variação do volume de solvente (Diclorometano), sem que se tenha alterado a quantidade de fármaco e polímero. De forma semelhante ao sucedido em Gabor et al. (1999), este tipo de experiência não permite isolar o estudo da influência da fração volumétrica da fase dispersa. Verificou-se uma diminuição de diâmetros com o aumento do volume de Diclorometano. Os autores atribuíram este fenómeno à menor viscosidade da fase dispersa provocada pela diminuição da concentração de polímero. Por outro lado, no artigo de Valot et al. (2009) também se avalia a influência do volume da fase externa. O aumento de volume desta fase aquosa (diminuição de  $\phi$ ), que teve um efeito mais notório com a utilização de Etilcelulose, provocou um aumento no diâmetro das partículas. Este efeito é provocado pela rápida remoção de solvente ficando as gotas sujeitas a menos tempo de tensões de corte antes da solidificação.

Em Heiskanen et al. (2012), para uma variação no valor de  $\phi$  desde 0,023 a 0,047, com uma concentração de 0,05% (v/v) de surfatante, 3-Perfluorooctyl-1,2-propenoxide (*PFPO*), na fase externa,  $D_{3,2}$  rondou sempre os 38  $\mu\text{m}$ . Contudo, para a mesma variação de  $\phi$ , mas utilizando uma concentração de *PFPO* de 0,10% (v/v) na formulação com maior volume de fase dispersa, verificou-se uma diminuição do tamanho de partículas de 37,8  $\mu\text{m}$  para 19,7  $\mu\text{m}$

com o aumento de  $\phi$ . Conclui-se que nesta gama de concentração de *PFPO*,  $D_{3,2}$  é principalmente influenciado pelo surfatante. Por outro lado, aumentando a fração volumétrica da fase dispersa para 0,07 e a concentração de surfatante para 0,15%, o diâmetro fixou-se em 25,1  $\mu\text{m}$ . Assim, o aumento da quantidade de surfatante fez com que  $D_{3,2}$  fosse mais influenciado por  $\phi$ .

### **Pressão**

A manipulação da pressão de operação permite alterar a velocidade de remoção do solvente. Izumikawa et al. (1991) estudaram o processo de encapsulação de progesterona em *PLA*, a partir de uma emulsão *o/w*. Os autores concluíram que o rendimento global e a eficiência de encapsulação aumentam quando as partículas são produzidas a pressão reduzida. Através de *Scanning Electron Microscopy (SEM)* verificou-se que as microcápsulas produzidas a vácuo apresentam uma superfície lisa, enquanto o mesmo processo realizado a pressão atmosférica produz partículas de superfície rugosa. Associado à maior área de superfície das partículas rugosas, as cápsulas produzidas à pressão atmosférica apresentam uma velocidade de libertação mais rápida que as produzidas a vácuo.

A influência da pressão também foi avaliada em Chung et al. (2001) que, através do estudo do processo de encapsulação de Lidocaína em Poli-l-ácido láctico (*PLLA*) e Poli-d-ácido láctico (*PDLA*), a partir de uma emulsão *o/w*, verificaram resultados semelhantes. A encapsulação à pressão atmosférica produziu partículas de *PLLA* rugosas. Contudo, as cápsulas de *PDLA* apresentaram sempre uma superfície lisa. Também se voltou a verificar que a operação à pressão atmosférica produz partículas com velocidade de libertação de fármaco superior. Contudo, a operação a pressão reduzida, contrariamente ao que se verificou em Izumikawa et al. 1991, produziu menores eficiências de encapsulação.

Li et al. (2007) estudaram o processo de encapsulação por evaporação de solvente a partir de uma emulsão *o/w*. Optou-se por não se encapsular qualquer fármaco, produzindo-se partículas de Etilcelulose. Para além da encapsulação realizada num sistema aberto à pressão atmosférica, estuda-se também o processo num sistema fechado sob pressão reduzida. Este último, para além de reduzir o tempo de produção, permite que o solvente seja recuperado e reutilizado após evaporação. Os autores verificaram que as partículas produzidas à pressão atmosférica possuem poros menos numerosos à superfície mas com maiores diâmetros. A sua estrutura interna é bastante porosa, devido à lenta difusão de solvente no interior da cápsula. Já as cápsulas produzidas em vácuo apresentam, tal como observado em Izumikawa et al. (1991) e Chung et al. (2001), esferas com uma superfície mais lisa. Apesar do seu exterior ostentar inúmeros poros à superfície, estes apresentam um diâmetro muito reduzido.

### **Temperatura**

A temperatura é uma condição de operação que interfere não só com a evaporação do solvente da fase contínua, como também com certas propriedades como a difusão e

solubilidade do solvente. Assim sendo, é um parâmetro capaz de influenciar diâmetros, rendimentos, eficiências e morfologias das partículas obtidas.

Y. Y. Yang et al. (2000) estudaram a influência da temperatura na preparação de partículas de *PLGA* carregadas de *Bovine Serum Albumine (BSA)*. Verificou-se que, de forma geral, o tamanho das micropartículas aumenta com a temperatura, que também apresentam distribuições de tamanhos mais alargadas e superfícies mais porosas. O acréscimo de tamanho é provocado pela rápida solidificação que leva as gotículas a estarem menos tempo sujeitas a tensões de corte antes de solidificarem. A eficiência de encapsulação não foi afetada. Apesar do aumento na temperatura resultar na maior solubilidade do *BSA* em água que intensifica a migração do fármaco para a fase aquosa, este efeito é compensado pela rápida formação de um revestimento sólido denso que impede a perda de fármaco, o que faz com que as eficiências não se alterem.

Nepal et al. (2007) também constataram que o aumento da temperatura provoca um aumento no diâmetro das partículas. De novo, este fenómeno foi atribuído ao menor tempo que as partículas possuem para se dividirem antes da solidificação. Quando a temperatura alta provoca uma difusão demasiado elevada de solvente, verifica-se a formação de fibras. Estas estruturas resultam do facto da solidificação ocorrer antes das gotículas adquirirem uma configuração esférica.

### **Velocidade de agitação**

A velocidade de agitação é o fator que mais determina o tamanho das partículas. É globalmente aceite pela comunidade científica que o aumento da velocidade de agitação produz partículas com tamanho mais reduzido (Gabor et al. 1999, Nepal et al. 2007, Matsumoto et al. 2008, Valot et al. 2009, Heiskannen et al. 2012, Zafar et al. 2016, Kashif et al. 2016). Associado à sua maior área superficial, as partículas mais pequenas apresentarão maior velocidade de libertação do fármaco.

Em Nepal et al. (2007), refere-se que existe uma diminuição do rendimento global com a diminuição da velocidade da agitação, resultante da baixa velocidade de solidificação. Os autores também verificaram que, com agitações demasiado elevadas, a solidificação ocorre antes que as gotículas possam alcançar um formato esférico. Devido a isso, ocorreu a formação de estruturas fibrosas.

No artigo de Kashif et al. (2016), o aumento da velocidade de agitação reduziu a eficiência de encapsulação. Os autores atribuíram este fenómeno ao aumento da migração do fármaco para o exterior da partícula, provocada pelo seu menor diâmetro e maior área superficial.

### **Surfatante**

Também denominado tensioativo, o surfatante permite diminuir a tensão superficial da fase contínua, evitando a coalescência/aglomeração das gotículas. Desta forma, estabiliza as interfaces das duas fases imiscíveis, estabilizando assim a emulsão. O surfatante adequado

permite a produção de partículas com um diâmetro regular e com uma distribuição apertada garantindo assim, uma libertação constante e previsível. Os surfatantes são moléculas anfifílicas, ou seja, possuem uma região com maior afinidade para solutos polares e outra com maior afinidade para moléculas apolares (Li et al. 2008).

Consoante a "cabeça hidrofílica", podem ser divididos em 4 grupos (Li et al. 2008, Myers 2006):

- aniónicos, como o Dodecil sulfato de sódio (*SDS*);
- catiónicos, como o Brometo de Cetiltrimetil Amónio (*CTAB*);
- não iónicos, como o Álcool polivinílico (*PVA*), Metilcelulose e grupos de surfatantes como os *Tween* e os *Span*;
- anfotéricos.

De forma geral, a adição de surfatante à fase contínua resulta na diminuição do tamanho das partículas. Contudo, esta redução não ocorre indefinidamente. Quando se atinge a concentração micelar crítica (*CMC*), a adição de mais tensoativo não resulta numa diminuição da tensão superficial, uma vez que as moléculas se organizam em micelas. É também necessário que a concentração de surfatante atinja um nível mínimo para que o emulsionante consiga estabilizar a formação de novas interfaces (Heiskanen et al. 2012).

No artigo de Zhu et al. (2005) estuda-se a influência dos surfatantes na encapsulação de Insulina em *PLA* pelo método de emulsão  $w_1/o/w_2$ . Foram testados os tensoativos *Span 20*, *Span 60* e *Span 80* na emulsão primária, enquanto o *Tween 20*, *Tween 60* e *Tween 80* foram utilizados na fase aquosa externa. Os surfatante diferem em termos de peso molecular e de balanço hidrofílico-liofílico (*HLB*). Uma vez que se utilizam dois tipos de estabilizadores, calculou-se um parâmetro denominado *Weighted HLB (W-HBL)*, que corresponde a um valor *HLB* ponderado dos dois surfatantes. Verificou-se que quanto maior é o *W-HLB* da encapsulação, maior o diâmetro das partículas. A maior viscosidade provocada pelo aumento de *Tween* conduz a eficiências de encapsulação superiores e a partículas com maior diâmetro.

Num teste realizado com *Span 80* e *Tween 80* em cada uma das fases aquosas, foi possível avaliar a influência da concentração dos tensoativos. Com uma quantidade de *Tween* constante, o aumento na quantidade de *Span* conduz à produção de partículas com menor diâmetro. Já o aumento na concentração de *Tween* com uma quantidade de *Span* constante provoca um aumento no tamanho das partículas. A concentração de *Span* tem maior influência do que a de *Tween* no tamanho das partículas.

Em Nepal et al. (2007) e Kashif et al. (2016) verificou-se um aumento da eficiência de encapsulação e diminuição do diâmetro das partículas com o aumento da quantidade de estabilizante. Os autores do último artigo atribuíram estes fenómenos à maior estabilidade das gotículas e diminuição da tensão superficial, respetivamente. O menor diâmetro e conseqüente maior área superficial proporcionam às partículas produzidas com maior quantidade de surfatante uma velocidade de libertação superior.

Por outro lado, Zafar et al. (2016) não observou qualquer influência da quantidade de estabilizante na fase aquosa externa. Uma vez que o polímero, *Eudragit*, contém grupos amônio, as partículas têm uma carga positiva à superfície. Devido a isso, as microesferas estão electrostaticamente estabilizadas e o *PVA*, surfatante não iônico, não tem influência no tamanho final.

#### **Adição de *buffer* ou sais**

Com o estudo da encapsulação de Somatostatina em *PLA* pelo método  $w_1/o/w_2$ , Herrmann & Bodmeier (1995) avaliaram a influência de *buffers* e sais em várias características das cápsulas. A adição de sais ou *buffers* à fase aquosa externa resulta na formação de uma matriz polimérica densa e homogênea, com menor velocidade de libertação de fármaco e maior eficiência de encapsulação. Por outro lado, quando se adicionam *buffers* à fase interna, promove-se a transferência de água proveniente da fase externa. Este fenómeno é responsável pela menor eficiência de encapsulação, superfície porosa e maior velocidade de libertação. Foi possível atingir eficiências de encapsulação de 94 a 97% com a adição de sais a ambas as fases aquosas. Quando o sal é apenas adicionado à fase interna, as eficiências são significativamente inferiores.

### **2.4. Técnicas de monitorização de processos de formação de partículas a partir de sistemas dispersos**

Neste capítulo, tendo em conta o propósito do trabalho, apresentar-se-ão algumas técnicas de medição de tamanhos de sistemas dispersos. Propriedades como o tamanho, forma e uniformidade de partículas são características com grande importância na qualidade do produto final. Devido a isso, é necessário um procedimento apropriado para o acompanhamento do processo de formação deste tipo de material. Preferivelmente, os processos na indústria de partículas devem ser monitorizados por instrumentos *online*. Sendo um dos objetivos da microencapsulação a libertação controlada de fármaco num determinado local, o diâmetro, que influencia a área de disponível para a libertação de fármaco e as propriedades de escoamento da partícula, revela-se um parâmetro capital no seu desempenho.

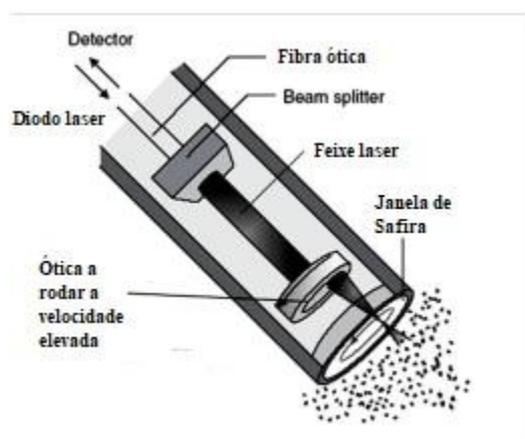
Apesar da importância de uma monitorização em tempo real, as técnicas de medição *online* não são muito utilizadas na indústria. Uma vez que muitos equipamentos foram inicialmente desenvolvidos para aplicações laboratoriais, a sua implementação em meio industrial é dispendiosa e complicada (Ma et al. 2000).

Pela literatura consultada, o *Focused Beam Reflectance Measurement (FBRM)* apresentou-se como a técnica mais frequentemente utilizada na monitorização *online* de processos de encapsulação por evaporação do solvente. O *FBRM* é baseado na medição de comprimentos de "corda". A referida corda corresponde ao comprimento da partícula que é atravessado pelo feixe luminoso, como ilustrado na Figura 5.



**Figura 5. Exemplo do conceito de "corda" no FBRM na presença de partículas esféricas e irregulares (adaptado de Silva et al. (2013))**

De forma sintética, o equipamento é composto por um feixe *laser* com movimento circular a velocidade constante, que pode ir de 2 a 8 m/s (Kumar et al. 2013, Silva et al. 2013) que, depois de atravessar uma janela de safira, incide no sistema a analisar. Ao atingir uma partícula, a luz é refletida para trás, sendo medida e analisada num detetor. Neste, são contabilizados os tempo durante os quais o aparelho recolhe a luz refletida que, depois de multiplicados pela velocidade de rotação do feixe, permitem calcular o comprimento de cordas. Desta forma, o *FBRM* gera uma distribuição de comprimentos de cordas. A partir desta, é aferida a correspondente distribuição de tamanho das partículas recorrendo a relações existentes entre estes dois parâmetros. O funcionamento do sensor de *FBRM* encontra-se ilustrado na Figura 6.



**Figura 6. Ilustração de um sensor FBRM (adaptado de Muhaimin (2013))**

Segundo Silva et. al (2013), esta técnica não apresenta problemas relacionados com amostragem ou diluição, podendo-se introduzir o sensor diretamente no meio, o que comprova a robustez da técnica. Apresenta uma elevada resolução e resposta rápida para uma gama alargada de diâmetros (desde 0,25 até 4000  $\mu\text{m}$ ) (Silva et al. 2013). Além disso, pode suportar condições de operação bastante agrestes.

Contudo, também revela algumas limitações. Apesar de se referir em Silva et al. (2013) que suporta uma alargada gama de tamanhos, os autores de Kougoulos et al. (2005) verificaram que o *FBRM* apresentou fraca sensibilidade para partículas inferiores a 1  $\mu\text{m}$  num processo de cristalização. No mesmo artigo, refere-se que o equipamento exibiu problemas

quando os índices de refração da partícula e dispersante são próximos. Já em Kumar et al. (2013), na monitorização de um processo de granulação-secagem-moagem, o *FBRM* apresenta fenómenos de *fouling*, sobretudo na presença de partículas menores. As propriedades óticas do sistema a analisar também têm influência na medição. O *FBRM* não consegue operar quando o dispersante é opaco, apresentando também dificuldade na avaliação de partículas transparentes, visto que não consegue refletir devidamente a luz (Shukla et al.)

No que diz respeito à sua aplicação na monitorização em linha, Zidan et al. (2010) demonstram a aplicabilidade do *FBRM* da *Lasentec* na monitorização online das distribuições de tamanhos da microencapsulação de Ciclosporina A (*CyA*) em *PLGA* por evaporação de solvente a partir de uma emulsão *o/w*. No mesmo estudo, aplicou-se a técnica de *Particle Vision and Measurement (PVM)* para se acompanhar visualmente a formação das micropartículas. As partículas são divididas em 3 categorias de tamanhos. Foi estudada a influência da quantidade de polímero, de princípio ativo e de estabilizador, verificando-se uma relação linear destes parâmetros com a velocidade de desaparecimento das diferentes categorias de tamanhos de partículas. Em suma, Zidan et al. (2010) permitiram demonstrar, pela primeira vez, que tanto o *FBRM* como o *PVM* podem ser utilizados com sucesso na monitorização *online* do processo de microencapsulação por evaporação de solvente e avaliar o efeito de diferentes formulações.

Num estudo desenvolvido por Vay et al. (2012) avalia-se a aplicação do *FBRM* ao longo do processo de formação de partículas de *PLGA*. Contudo, o seu principal foco é avaliar a validade da aplicação do *FBRM* consoante as propriedades refletoras do material, o seu formato, a posição da sonda de *FBRM* e a concentração de partículas. Enquanto a concentração e posição da sonda não revelaram ser parâmetros influentes nas distribuições obtidas, as restantes variáveis exercem bastante influência na medição. Os autores concluíram que a técnica em questão não é adequada para todo o tipo de materiais, sobretudo quando são analisadas gotículas transparentes. Foi também possível detetar a transição líquido-sólido, já que é acompanhada pela alteração do sinal recolhido pelo *FBRM*.

Muhaimin (2013) propõe-se investigar a influência de certos parâmetros na formulação de uma microencapsulação por evaporação de solvente monitorizando-a através da utilização de *FBRM*. Avalia-se o efeito do tipo de solvente, método de preparação, tipo de polímero, velocidade de agitação, volume de fase contínua e concentração de polímero. De forma concisa, o sensor é imerso na emulsão com uma inclinação que permite que um caudal significativo seja atravessado pelo *laser* e, por consequência, que a quantidade de partículas analisadas também seja significativa. Durante as 4 horas do processo, as medições do *FBRM* são realizadas a cada 10 segundos. As evoluções temporais do diâmetro médio das partículas dos diferentes ensaios revelam um decréscimo de tamanhos inicial bastante acentuado e um final de processo caracterizado por uma variação quase nula nas dimensões das partículas. Além disso, as medições do *FBRM* mostram que a intensidade do sinal aumenta ao longo do processo, o que se deve ao aumento da opacidade da fase dispersa à medida que se dá a solidificação. Concluindo, verificou-se que o *FBRM* pode ser utilizado para a monitorização

*online* da encapsulação por evaporação de solvente, avaliando-se a influência de diversos parâmetros e formulações.

Por outro lado, os equipamentos de espectroscopia de difração *laser* (*LDS*) utilizam a teoria da difração da luz para correlacionar a luz dispersa com o tamanho das partículas. Ao ser atravessado por um feixe de luz monocromático, um caudal de matéria suspensa faz com que a luz seja dispersa. Uma vez que o ângulo de dispersão se encontra diretamente relacionado com o tamanho da partícula, é possível aferir o seu tamanho através da medição da intensidade da luz em função do ângulo de dispersão.

A interação entre a luz incidente com a gota/partícula pode resultar em diversos fenômenos: absorção, refração, reflexão e difração (fenômeno fundamental para o *LDS*). A difração é o fenômeno óptico que ocorre quando a luz encontra um obstáculo ou uma pequena fenda e, no caso de partículas, trata-se de um fenômeno superficial. As ondas acabam por sofrer desvios que originam zonas de interferência construtiva e destrutiva. Como apresentado na Figura 7, criam-se padrões de difração que se correlacionam com o tamanho e forma das partículas que os originam. De forma geral, partículas maiores dispersam a luz com menores ângulos e maior intensidade, enquanto partículas menores espalham a luz com ângulos maiores mas com menor intensidade.

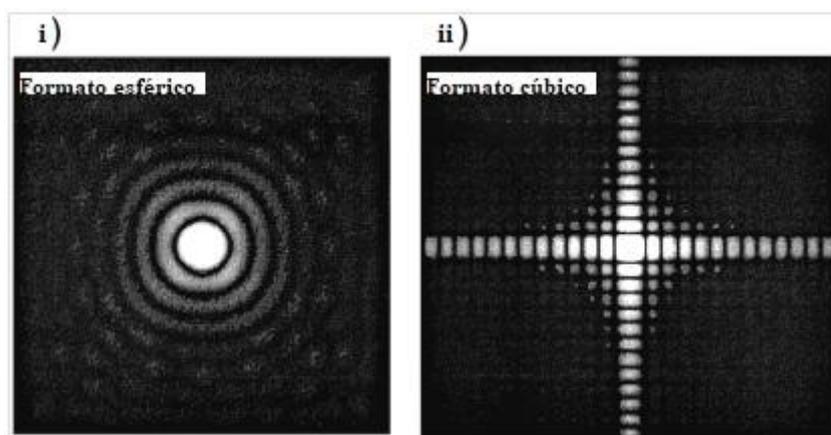


Figura 7. Padrões de difração de (i) uma partícula esférica e (ii) uma partícula com formato cúbico (adaptado de Ma et al. (2000))

Um instrumento comum de difração *laser*, como o ilustrado na Figura 8, é geralmente composto por uma fonte luminosa e uma unidade de processamento do feixe luminoso (para se obter um feixe monocromático, coerente e paralelo com poucos milímetros de diâmetro), uma corrente de partículas dispersas que atravessam o feixe luminoso, uma lente (ou conjunto de lentes) de *Fourier* que focam a luz dispersa para um detetor que mede a intensidade da luz dispersa em diferentes ângulos e, finalmente, uma interface e um computador capazes de processar os sinais medidos pelos detetores e transformá-los numa curva de distribuição de tamanhos.

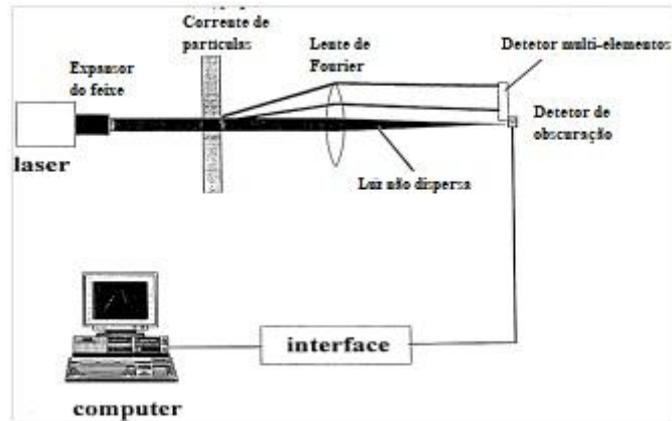


Figura 8. Ilustração esquemática de um aparelho de difração laser (adaptado de Ma et al. (2000))

A técnica começou a ser desenvolvida nos anos 70 do século XX (Ma et al. 2000) e, desde então, o sistema ótico, sensores e os computadores sofreram melhoramentos significativos, o que conduziu ao aperfeiçoamento da própria técnica. Outras inovações como a incorporação de uma lente de *Fourier* reversa, de alguns elementos de deteção em ângulos maiores ou utilização de dois feixes *laser* permitiram a medição de partículas na região sub-micrométrica (Ma et al. 2000).

Para a análise de material particulado, a utilização de técnicas baseadas na dispersão da luz é uma prática comum a nível laboratorial. Comparativamente com outras técnicas, a espectroscopia da luz difratada apresenta vantagens a nível de rapidez, reprodutibilidade e precisão de resultados.

Contudo, também apresenta algumas limitações. É uma técnica sensível a partículas de diâmetros elevados, o que limita a aplicação do *LDS* na monitorização de processos em que a presença de partículas maiores prejudiquem o produto final, como ocorre em processos de encapsulação/revestimento (Ma et al. 2000). O facto de os modelos óticos pressuporem que todas as partículas são esféricas faz com que a medição de partículas não esféricas resulte em desvios sistemáticos nas curvas de distribuição de tamanhos. Finalmente, é uma técnica que atua numa gama de concentrações estreita. Quando se analisa sistemas demasiado diluído, a reprodutibilidade das medições é baixa graças à grande influência do ruído. Por outro lado, para concentrações demasiado elevadas, as medições podem ser desviadas para zonas de tamanhos mais baixos devido a fenómenos de dispersão múltipla.

Os fenómenos óticos são descritos por um conjunto de equações diferenciais parciais denominadas equações de *Maxwell* (Ma et al. 2000). Quando o tamanho da partícula é significativamente superior ao comprimento de onda da luz incidente e o seu índice de refração é suficientemente distinto do meio envolvente, a luz é maioritariamente dispersa no sentido da sua emissão e com ângulos relativamente pequenos. Nestas condições, a teoria de *Fraunhofer* descreve os fenómenos de dispersão de forma adequada (Ma et al. 2000). Por

outro lado, não produz uma medição muito eficaz na presença de partículas de tamanhos muito reduzidos. Esta teoria, a mais utilizada nos equipamentos mais antigos, assume também que todas as partículas são opacas.

Já a teoria de *Mie*, desenvolvida em 1908 (Ma et al. 2000), apresenta-se como uma solução mais rigorosa do conjunto de equações de *Maxwell*. É utilizada na maioria dos equipamentos atuais e descreve o padrão de dispersão gerado por partículas esféricas. Esta teoria tem em conta não só toda a dispersão à superfície do sólido, cuja intensidade da luz é calculada tendo em conta os índices de refração da partícula e do meio, como também os fenómenos de refração, que são especialmente importantes em partículas com tamanhos inferiores a 50  $\mu\text{m}$  (Muhaimin 2013).

A literatura apresenta-se escassa em referências da aplicação da difração *laser* na monitorização *online* da encapsulação por evaporação de solvente, apesar de ser a técnica mais utilizada para a medição de partículas na área farmacêutica (Silva et al. 2013). É deste modo utilizada na medição de tamanhos de microesferas formadas por evaporação de solvente após a sua recolha e secagem. Outras técnicas são também recorrentes na análise de partículas produzidas por evaporação de solvente. A *Scanning Electron Microscopy (SEM)* é usualmente utilizada na avaliação da morfologia e propriedades de superfície enquanto a *High-performance liquid chromatography (HPLC)* ou a espectroscopia *UV-Vis* são técnicas comumente utilizadas para avaliação das eficiências de encapsulação e da libertação de fármaco (Izumikawa et al. 1991, Jeffery et al. 1993, Herrmann & Bodmeier 1995, Gabor et al. 1999, C.Y. Yang et al. 2000, Y.Y. Yang et al. 2000, Chung et al. 2001, Parikh et al. 2003, Zhu et al. 2005, Nepal et al. 2007, Matsumoto et al. 2008, Valot et al. 2009, Dash et al. 2010, Jyothi et al. 2010, Khan et al. 2010, Heiskanen et al. 2012, Kashif et al. 2016, Thakare et al. 2016, Zafar et al. 2016).

Rodrigues (2012) e Lima (2016) apresentam-se como as únicas referências encontradas sobre a utilização de *LDS* na monitorização *online* de processos de encapsulação por evaporação de solvente. No primeiro, estuda-se a encapsulação de Aspirina em Etilcelulose através da evaporação de Acetato de etilo. Para minimizar a migração de polímero e fármaco para o exterior da gotícula, é realizada a pré-emulsão da fase descontínua numa pequena quantidade de solução aquosa que previamente se satura com solvente e princípio ativo. A monitorização do processo é realizada com recurso ao sistema de bombagem e agitação do próprio equipamento de *LDS*. Verificou-se que a sua hidrodinâmica é substancialmente diferente da hidrodinâmica obtida com um agitador mecânico, provocando a agregação de gotículas aquando da monitorização. Apesar deste fenómeno levar a que certos resultados sejam inconclusivos, os testes conduzidos permitiram concluir que é possível monitorizar um processo de encapsulação por evaporação de solvente através da técnica de difração *laser*. Neste sentido, a autora sugere a acoplação de *LDS* a um sistema externo de agitação que permitisse uma melhor regulação das condições hidrodinâmicas do sistema.

No seguimento deste trabalho, Lima (2016) propôs-se continuar a desenvolver a temática da aplicação de *LDS* na encapsulação por evaporação de solvente. As principais

alterações relativamente ao trabalho anterior consistem em simplificar todo o processo e, assim, diminuir certos efeitos que pudessem interferir com os resultados, centrando o estudo na avaliação da viabilidade do *LDS* enquanto técnica de monitorização *online*. A autora escolhe um solvente e um fármaco com menor solubilidade em água que o Acetato de Etilo e a Aspirina, respetivamente, e não realiza a pré-emulsão da fase orgânica num pequeno volume de solução aquosa. Passa-se a realizar a microencapsulação de Ibuprofeno, a partir de uma solução de Diclorometano. A emulsificação passa por uma primeira fase em que a emulsão é agitada mecanicamente durante 45 minutos e com temperatura controlada (20°C), com o copo tapado com parafilme de modo a minimizar a evaporação do solvente. No final desta fase, que decorre numa *hotte*, considera-se que, em princípio, a emulsão se encontra bem estabilizada e apta para ser analisada por *LDS*.

Contudo, voltou-se a confirmar que a hidrodinâmica do aparelho interfere com a evolução normal das gotículas da fase dispersa. Assim, a autora refere que um sistema de agitação externo representa uma possível solução para os problemas que se têm vindo a verificar.

Apesar da rara aplicação em processos de encapsulação por evaporação de solvente, o *LDS* encontra aplicação na monitorização em tempo real de outros processos que envolvem sistemas dispersos. Chatzi et al. (1991) apresentam um estudo da aplicação de *LDS* para monitorizar o tamanho de partículas de um sistema disperso em estado transiente. Para isso, analisa-se em tempo real uma suspensão de estireno numa solução aquosa de *PVA*, recorrendo ao modelo 2605c da *Malvern Instruments*, avaliando-se a influência da temperatura e velocidade de agitação no diâmetro das partículas. Os resultados obtidos por difração *laser* foram comparados com os tamanhos obtidos por métodos de imagem.

O *LDS* também apresenta aplicabilidade na monitorização *online* de processos de cristalização, como é o caso apresentado por Jager et al. (1992). Neste artigo, utiliza-se a técnica de difração *laser* no controlo da cristalização de Sulfato de Amónio. O instrumento de medição *Malvern 2600* é acoplado a um sistema de diluição, uma vez que o processo em causa apresenta uma concentração demasiado elevada para ser analisado diretamente por difração *laser*. Os resultados obtidos por *LDS* são comparados com as distribuições de tamanhos obtidas por peneiração que, apesar de calcular o tamanho de partículas através de um princípio diferente, produziu resultados concordantes.

Em Harvill et al. (1995) utiliza-se a tecnologia de difração *laser* da *Insitac* em processos de moagem. De forma a suportar a larga gama de concentrações verificada, os autores desenvolvem um algoritmo que contabiliza a difração múltipla. Com o intuito de aplicar a técnica a um ambiente industrial, desenvolveu-se um sistema de limpeza da janela de medição que permite a aplicação de *LDS* durante um período extenso tempo.

Heuer et al. (1995) utilizam a difração *laser* para controlar e avaliar o desempenho de um *air classifier*. A monitorização em tempo real apresentada permite ajustar certos parâmetros como a velocidade do classificador e o caudal de alimentação.

Com o objetivo de aplicar a técnica no controlo *online* de processos, Ma et al. (2000) apresentam alguns dos principais desenvolvimentos da técnica nesse sentido. Estes progressos não se centram apenas na medição de tamanhos, como também abordam a avaliação da forma de partículas. A técnica é testada em processos de cristalização de Sacarose. Os autores destacam a *PCA (Principal Component Analysis)* como forma de identificar partículas maiores que apenas se refletiriam em flutuações nas distribuições de tamanhos, a aplicação de um detetor sensível aos perfis azimutais da intensidade da luz que permite a posterior aferição da forma das partículas e, finalmente, a utilização de sensor *CMOS (complementary metal-oxide semiconductor)* que proporciona uma determinação altamente precisa do sinal e, portanto, do tamanho e forma das partículas.

O artigo de Ma et al. (2001) apresenta a aplicação do *LDS* a um processo de cristalização de Sulfato de Amónia. O estudo compara o equipamento comercial *Malvern Mastersizer* com o *CMOS sizer*, que possui uma matriz de pixéis *CMOS*.

A literatura também apresenta referências da aplicação da difração *laser* ao processo de floculação. No artigo de Rasteiro et al. (2007), aplica-se a técnica no processo de floculação de finos e *filler* da indústria papelreira. Estudou-se o processo de floculação de Carbonato de Cálcio na presença de diferentes Poliacrilamidas (floculantes). Os resultados permitiram aferir que o *LDS* é uma técnica válida na monitorização deste tipo de processos. Verificou-se também que através da difração *laser* é possível entender como o processo é influenciado pela dosagem e características do floculante, avaliar a resistência dos flocos, verificar a influência de tensões mecânicas e calcular a dimensão fractal.

No mesmo âmbito, os autores de Rasteiro et al. (2008) utilizaram o *LDS* de forma a avaliar o tamanho e estrutura dos flocos de Carbonato de Cálcio precipitado na presença de floculantes de Poliacrilamida. Foi estudado o efeito da carga e concentração dos polímeros em todo o processo. Para além da evolução temporal do tamanho e da quebra dos agregados, foi avaliada a estrutura dos mesmos, os mecanismos de floculação e as cinéticas de aglomeração. Paralelamente, foram medidos os diâmetros através de análise de imagem, o que validou os resultados obtidos por *LDS*.

Em Medendorp et al. (2015) faz-se a comparação de dois equipamentos da *Malvern*, que realizam medições de tamanhos segundo o mesmo princípio, na monitorização de um processo de *Spray Drying*. O *Malvern Insittec* é utilizado na medição *online* de tamanhos de partículas, enquanto o *Malvern Mastersizer* realiza um controlo *offline*. O aparelho *Insittec* revelou ser mais sensível a alterações no processo e nas matérias-primas. Deste modo, os autores discutem correções no tratamento dos dados obtidos pelo instrumento de modo a se conseguir resultados mais coerente das duas medições.

Para além dos exemplos apresentados sobre a utilização de *LDS*, também se utilizam técnicas de ultrassons na monitorização de tamanhos de sistemas dispersos. As técnicas ultrassónicas baseiam-se nas relações entre as propriedades acústicas dos materiais e o seu tamanho. Para a sua implementação, são necessários dois transdutores: um que emite o sinal ultrassónico na amostra e outro que recolhe este sinal e o converte num sinal elétrico. A

técnica pode ser dividida em dois passos. O primeiro, consiste na medição da velocidade ou do coeficiente de atenuação (uma medida da redução da amplitude do pulso que atravessa o material) para uma certa gama de frequências. Já o segundo passo corresponde à conversão, através de um modelo matemático adequado, das medições numa distribuição de tamanhos. As maiores vantagens associadas à utilização de técnicas ultrassónicas são o facto de esta poder operar em meios bastante concentrados, com concentrações mássicas superiores a 30%, e não depender das propriedades óticas dos materiais (D. J. McClements 1996). Em Shukla et al. (2010) utiliza-se a espectroscopia ultrassónica na monitorização de um processo de cristalização. Na aplicação da técnica de ultrassons deve haver o cuidado de investigar se os próprios ultrassons estão a provocar alterações no tamanho das partículas, devendo-se otimizar a frequência dos mesmos.

Oliveira (2010) monitoriza o tamanho de gotas numa emulsão através da três técnicas destacadas nesta secção: *FBRM*, equipamento ultrassónico e *LDS*. Enquanto os dois primeiros são utilizados em linha, a difração *laser* necessita de amostragem periódica para análise do tamanho de gotas da emulsão. Depois de recolhidos os dados no *Mastersizer*, o autor avalia também a influência do modelo de cálculo, forma das partículas e índice de refração na curva de distribuição de tamanhos obtida. As diferenças nos princípios físicos e algoritmos de cada técnica conduziram a que os tamanhos obtidos pelos três equipamentos fossem diferentes.

Finalmente, é de destacar a utilização de técnica de *Space Filtering (SFT)* em processos de granulação, moagem, cristalização, *Spray Drying* e encapsulação por leito fluidizado (*Wurster Coating*). Esta técnica, tal como o *FBRM*, é baseada na medição de tamanhos de corda. A janela de safira, onde se realiza a medição, é atravessada por um feixe luminoso que incide num conjunto de fibras óticas. Quando uma partícula entra na janela, cria uma zona de sombra que gera um impulso que depende do tamanho, velocidade e localização do material. A informação que chega à fibra ótica, e que é posteriormente conduzida a um conjunto de fotodetetores, permite aferir sobre o tamanho e velocidade das partículas medidas. O *SFT* permite uma monitorização em tempo real e com um *hardware* simples, apresentando um *design* robusto com um baixo custo de aplicação (Dieter et al. 2010).

Em suma, esta secção permitiu apurar que existem algumas técnicas aplicáveis à monitorização de processos envolvendo sistemas dispersos. Contudo, também se averiguou que nenhuma é infalível, existindo vantagens e desvantagens em cada uma delas. A difração *laser*, como referido em Rodrigues (2012) e Lima (2016), apresenta potencial para ser desenvolvida como técnica de monitorização *online* de processos de encapsulação por evaporação de solvente. O facto de produzir medições precisas e com rapidez poderá ser essencial quando se pretende acompanhar um processo em tempo real. A maior limitação da difração *laser* é o facto de não conseguir operar em sistemas demasiado concentrados, uma vez que estes provocam fenómenos de *multiple scattering* que adulteram as medições. Esta restrição pode ser ultrapassado através de, por exemplo, sistemas de diluição como o implementado em Jager et al. (1992).

Uma vez que a difração *laser* não se apresenta implementada como uma técnica na monitorização *online* de processos de encapsulação por evaporação de solvente, optou-se por continuar a desenvolver os trabalhos de Rodrigues (2012) e Lima (2016), também realizados no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra. Neste trabalho, são promovidas as alterações que se consideram benéficas para ajustar, com sucesso, a técnica à monitorização em linha da encapsulação. Apresenta-se, no final do trabalho, algumas sugestões para desenvolvimento futuro, por forma a tornar a utilização de *LDS* na monitorização de processos de encapsulação mais fácil e precisa.



### 3. Materiais e métodos experimentais

#### 3.1. Formulação base

Uma vez que a avaliação por *LDS* enquanto técnica de monitorização *online* do processo de encapsulação por evaporação de solvente se encontra no estado embrionário, tentou-se escolher um sistema simples, com uma formulação que apresentasse evidências de conseguir proporcionar elevados rendimentos globais. Deste modo, optou-se por estudar o processo de encapsulação de Ibuprofeno em Etilcelulose partindo de uma emulsão óleo em água. O Diclorometano foi o composto orgânico selecionado para compor a fase dispersa e o *Tween 80* foi utilizado como estabilizador da emulsão.

A Etilcelulose, aprovada para aplicações farmacêuticas pela *FDA (Food and Drug Administration)*, apresenta elevada compatibilidade com produtos agro-farmacêuticos, é degradável e biocompatível, para além de ser uma escolha económica (Li et al. 2007, Li et al. 2008). Já o Ibuprofeno apresenta-se como um excelente candidato para estudos de encapsulação por evaporação de solvente devido à baixa solubilidade em água e conseqüente baixa migração para a fase aquosa (Valot et al. 2009). Finalmente, o Diclorometano é um solvente capaz de dissolver a maioria dos polímeros, quase imiscível em água, com elevada volatilidade e com uma baixa temperatura de ebulição (Li et al. 2007). Este tipo de formulação apresenta na literatura eficiências de encapsulação perto dos 100% (Valot et al. 2009).

Como referido na secção 2.3.1, o solvente deverá solubilizar a maior quantidade possível de polímero e fármaco. Posto isto, o parâmetro de solubilidade é também um critério de avaliação/escolha dos materiais a encapsular, procurando-se que o solvente, polímero e fármaco tenham valores próximos para este parâmetro. A literatura apresenta diversos valores deste parâmetro para o mesmo composto (Kent et al. 1998, Hancock et al. 1997, Kitak et al. 2015), muitas vezes por se tratarem de valores calculados por diferentes métodos. Contudo, foi possível constatar que o trio Diclorometano, Etilcelulose e Ibuprofeno tem valores do parâmetro de solubilidade no intervalo  $18,5 \pm 2,92 \text{ MPa}^{0,5}$ , o que é desde logo indicativo da capacidade do solvente incorporar o polímero e o fármaco.

Primeiramente, procurou-se seguir a formulação com 2% (v/v) de fase dispersa adotada em Lima (2016), visto que esta foi a quantidade de fase orgânica que produziu maiores rendimentos. A concentração de polímero na fase dispersa (4,00% (m/v)) e razão Ibuprofeno:Etilcelulose (1:6) foram também as utilizadas em Lima (2016). Através de testes preliminares, averiguou-se que a utilização de uma concentração 0,3% (v/v) de *Tween 80* conduz a níveis de obscuração adequados e não provoca a formação de espuma. Para evitar a migração demasiado rápida de solvente para a fase aquosa, saturou-se a fase aquosa a 65% de Diclorometano. Garantiu-se a estabilidade da emulsão através de uma velocidade de agitação mecânica de 600 rpm, que garante que não há formação de espuma no copo da emulsão. A formulação base utilizada encontra-se descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Especificações da formulação base

<i>Fase contínua (98% (v/v))</i>		
<i>Componente</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Quantidade relativa</i>
Água destilada	727,6 ml	98,99% (v/v)
Tween 80	2,3 ml	0,31% (v/v)
Diclorometano	5,1 ml	0,70% (v/v)
<i>Fase dispersa (2% (v/v))</i>		
<i>Componente</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Quantidade relativa</i>
Diclorometano	15 ml	-
Etilcelulose	0,600 g	4,00 % (m/v)
Ibuprofeno	0,100 g	0,67 % (m/v)

### 3.2. Montagem experimental

De acordo com o descrito na secção anterior, constata-se que os materiais a utilizar no presente trabalho, coincidem com os utilizados em Lima (2016). Contudo, e uma vez que as principais dificuldades com que a autora se deparou estão relacionadas com a hidrodinâmica da unidade de preparação da amostrado *Mastersizer2000*, optou-se por recorrer a um sistema de agitação externa, construído para este trabalho, que cumpre as especificações geométricas referidas em Brown et al. (2004).

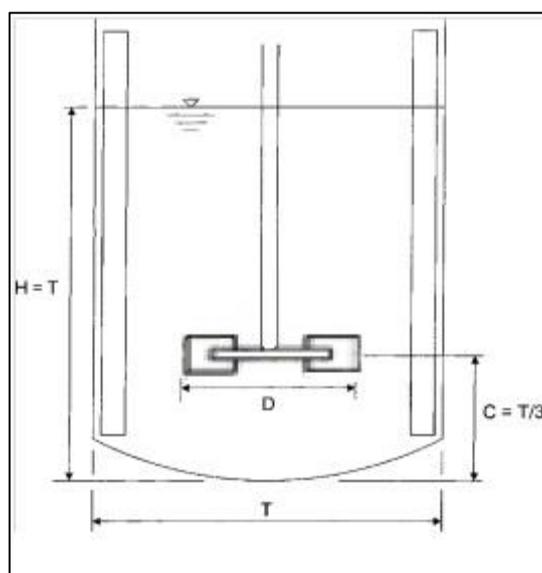


Figura 9. Tanque com agitação *standard*, para a escala laboratorial (adaptado de Brown et al. (2004))

Deste modo, foram utilizados os seguintes equipamentos e geometrias:

- Copo com 800 ml (9,5 cm de diâmetro) equipado com 2 chicanas;
- Altura do líquido (**H**) de aproximadamente 9,5 cm;
- Agitador do tipo *Rushton* com 6 pás radiais 3,5 cm de diâmetro (**D**) e situado a aproximadamente 3,1 cm da base do copo (**C**).

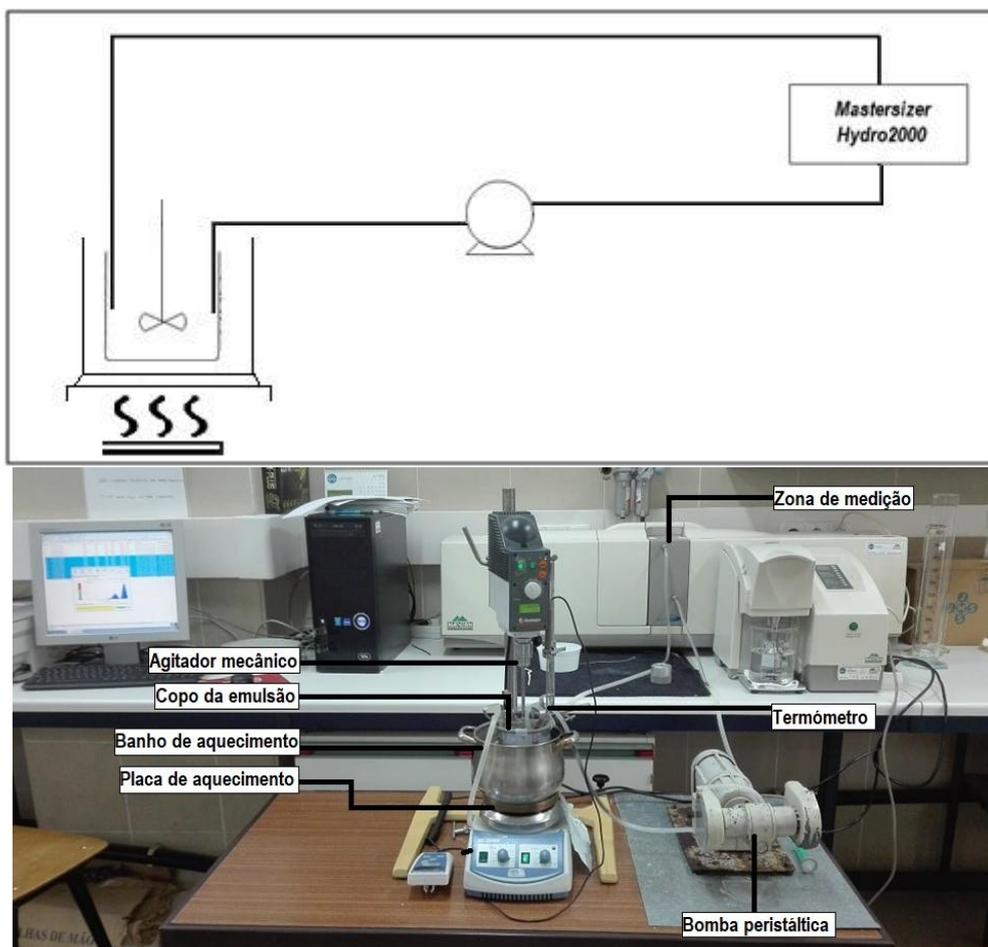


Figura 10. Esquema (imagem a cima) e fotografia (imagem abaixo) de montagem do sistema de monitorização *online* do processo de encapsulação.

A emulsão é transportada do copo descrito anteriormente para a célula de medição do equipamento através de uma bomba peristáltica da *Heidolph*, que se encontra regulada para um caudal de 10,47 ml/s. Este valor da caudal encontra-se dentro da gama de caudais *standard* do *Mastersizer*. Para conhecer esta gama, foram medidos os tempos que o equipamento demora a bombear um certo volume de água, variando-se a velocidade de bombagem do *Mastersizer*.

O copo da emulsão está ligado à célula do *Mastersizer* por um sistema de tubagem de silicone no qual foi instalada uma peça metálica que atenua a pulsação do caudal provocada pela bomba peristáltica. Os tubos de sucção e de retorno inserem-se na emulsão pelo topo do copo.

De forma a acelerar o processo de encapsulação, o copo com a emulsão encontra-se imersa num banho aquecido por uma placa de aquecimento. A placa possui um sistema de controlo *on/off* a partir da medição da temperatura, sendo o termómetro (sonda termopar) colocado no seio da emulsão e o *setpoint* do sistema fixo em 35°C.

Finalmente, utilizou-se um agitador mecânico da *Heidolph* de forma a garantir a estabilidade da emulsão, operando-se com velocidades de rotação da ordem das centenas de

rotações por minuto. Nele está aplicado um agitador Rushton com 6 pás radiais. O esquema de montagem do sistema de monitorização encontra-se ilustrado na Figura 10.

### 3.3. Métodos experimentais

#### 3.3.1. Preparação das micropartículas

As micropartículas foram preparadas por emulsificação seguida de evaporação de solvente. Referindo-nos à formulação base, a fase dispersa é produzida através da dissolução de 0,6 g de polímero e 0,1 g de Ibuprofeno em 15 ml de Diclorometano, homogeneizando-se a solução através de agitação magnética a 500 rpm durante 30 minutos, à temperatura ambiente. Já a fase contínua consiste em 735 ml de uma solução aquosa com 0,3% (v/v) de *Tween* 80. A fase contínua é diretamente preparada no copo da emulsão e começa a ser preparada pela adição dos 735ml ao referido copo. Depois de se ligar a bomba de modo a preencher o sistema de tubagem, adiciona-se o surfatante à água. A fase contínua é agitada mecanicamente a 300 rpm o que, juntamente com a circulação, permite alcançar a homogeneização. De seguida, aumenta-se a velocidade de agitação mecânica para 600 rpm (para a formulação base), com a qual se opera durante toda a encapsulação, realiza-se o *background* da medição por *LDS* e satura-se a fase contínua até 65% com Diclorometano. Após a pré-saturação, a fase dispersa é adicionada gota-a-gota ao meio aquoso pelo método de decantação com o auxílio de uma vareta. A monitorização do processo de encapsulação inicia-se 2 minutos após a adição da fase dispersa ao copo da emulsão.

Os níveis de obscuração obtidos na maior parte do processo rondam os 15-25%, ou seja, estão, quase na totalidade, dentro da zona ideal de obscurações recomendada pela marca do instrumento. Contudo, no início da monitorização, estes níveis chegam a atingir os 40% (no caso das formulações com emulsões mais concentradas). Apesar de se tratar de valores admitidos pela *Malvern*, a marca avisa para a possibilidade de existir dispersão múltipla.

Durante as 3 horas em que ocorre a evaporação de Diclorometano, o tamanho das gotículas é monitorizado por difração *laser*. No final do processo, as partículas são filtradas com um papel de filtro com abertura de 2,5 micrómetros e secas na estufa a 37°C durante 24h. De forma a garantir que o produto se encontra completamente seco, as partículas são transferidas para o exsiccador durante 1 hora e, posteriormente, para a estufa a 37°C durante outra hora. Se a massa das partículas após secagens sucessivas diferir menos de 2 mg da massa após serem retiradas do exsiccador, considera-se que o produto está completamente seco. Caso contrário, volta-se a colocar as partículas no exsiccador até que as pesagens sucessivas entre exsiccador e secagem apresentem uma diferença inferior a 2 mg.

Depois de secas, as partículas são peneiradas num peneiro com uma malha de 600 µm, de modo a retirar possíveis aglomerados ou resíduos fibrosos. O produto final é guardado no exsiccador.

### **3.3.2. Monitorização da concentração de Diclorometano na emulsão/fase contínua**

De forma a monitorizar a evaporação do solvente ao longo do processo, recorreu-se ao refratómetro *RX-50000a* da *Atago* para se obter valores de concentração de Diclorometano em certos instantes da encapsulação. Este tipo de instrumento mede o índice de refração de uma amostra, através da determinação do ângulo crítico para o qual se dá a reflexão total da luz. O feixe luminoso é focado num ponto da superfície de um prisma sobre o qual se coloca a amostra, sendo analisada a reflexão em função dos ângulos de incidência. A dependência da intensidade da luz refletida do ângulo de incidência é recolhida numa matriz de sensores de elevada resolução e depende do índice de refração da amostra.

Para que se possa medir a concentração de Diclorometano na emulsão, é necessária a construção prévia de uma curva de calibração. Para além de depender da concentração de Diclorometano na fase aquosa, o índice de refração é também influenciado pela quantidade de *Tween 80*. Posto isto, é necessário construir uma curva de calibração para cada concentração de surfatante utilizada na fase contínua. As curvas de calibração e os correspondentes gráficos e equações, estão apresentados no Anexo I. A amostragem é feita com o auxílio de uma seringa e um filtro que evita que sejam transportadas partículas para o refratómetro. As amostras são retiradas do copo da emulsão e as concentrações são medidas nos minutos 4,7 e 15 da monitorização. De seguida, até ao final da encapsulação, as medições são realizadas de 15 em 15 minutos.

### **3.3.3. Monitorização do estado de solidificação das partículas**

Em algumas encapsulações, foram-se retirando ao longo da monitorização pequenas amostras da emulsão para as analisar no microscópio *Olympus BH-2*. A microscopia ótica permite não só avaliar o diâmetro das partículas/gotículas, como também o seu estado de solidificação. A técnica só permite avaliar uma pequena quantidade de amostra, sendo a representatividade, juntamente com o facto de se tratar de um tipo de análise moroso, as suas maiores desvantagens. Devido a isso, para cada instante monitorizado, são preparadas três lamelas com amostra.

### **3.3.4. Monitorização online do tamanho das partículas**

Como referido nas secções anteriores, o presente trabalho tem como principal objetivo investigar a viabilidade da técnica de *LDS* na medição do tamanho das partículas ao longo do processo de encapsulação. Para isso, foi utilizado o modelo *Mastersizer2000* da *Malvern Instruments*. As distribuições de tamanhos são obtidas utilizando a teoria de *Mie*, que contabiliza as diferenças de índices de refração entre as partículas e o meio, assim como a absorção de luz pela fase dispersa. Devido a isso, o *software Mastersizer2000* necessita que sejam especificados quais os materiais utilizados na emulsão: a Etilcelulose é utilizada como material da fase dispersa e a água como dispersante, ambos presentes na sua base de dados. É utilizado o modelo geral de distribuições do *software*, que, para além de utilizar a

teoria de *Mie*, também considera que as partículas podem apresentar uma forma irregular. São realizadas 120 medições, intervaladas por 90 segundos, durante as 3 horas de monitorização.

O instrumento permite ao utilizador obter uma curva de distribuição do sistema que analisa em cada instante. O *software* do *Mastersizer* também consegue calcular diferentes parâmetros. No presente trabalho, os parâmetros de interesse selecionados foram os diâmetros médios em área e volume ( $D_{3,2}$  e  $D_{4,3}$ , respetivamente), os diâmetros abaixo dos quais se encontram 10, 50 e 90% de todas as partículas ( $d(0,1)$ ,  $d(0,5)$  e  $d(0,9)$ , respetivamente) e a moda. Os níveis de obscuração do detetor são bastante importantes na avaliação do estado de diluição adequado da dispersão a ser analisada.

### 3.3.5. Caracterização das partículas

#### **Rendimento global**

O Rendimento global é o parâmetro mais imediato para a avaliação da qualidade da encapsulação, correspondendo à razão entre massa de micropartículas obtidas após peneiração e massa inicial de polímero e fármaco. Neste trabalho, calculou-se este rendimento com a quantidade de material seco, produzido como descrito anteriormente.

#### **Determinação do tamanho das partículas finais**

##### Técnica de difração laser

De forma a validar os resultados obtidos durante a monitorização *online* do processo de encapsulação, será necessário medir o diâmetro das cápsulas após secagem e peneiração das partículas. Desta forma, foi realizada nova medição de tamanhos recorrendo ao *Mastersizer2000* da *Malvern Instruments*. Para isso, num vidro de relógio é adicionada à totalidade das partículas um pequeno volume de uma solução aquosa com 1% de *Pluronic*, um surfatante não iónico que garante a dispersão adequada das partículas secas. Primeiramente, foi testada a utilização do surfatante *Tween 80* (o mesmo que fora utilizado aquando da encapsulação) para estabilizar a suspensão. Contudo, revelou formar uma elevada quantidade de espuma, razão pela qual foi rejeitado para este efeito. Foi necessário utilizar a totalidade das partículas recolhidas de modo a se obter níveis de obscuração razoáveis (acima de 5%).

Os sólidos são bem misturados com o surfatante com o auxílio de uma espátula antes de serem dispersos em água destilada num copo de vidro com agitação magnética a 200 rpm. Esta suspensão é por sua vez adicionada ao copo do próprio equipamento de *LDS* que contém cerca de 600 ml de água destilada, com o qual se procede, previamente, à determinação do *background*.

Com o objetivo de avaliar a existência de agregação no material produzido, fez-se uso de ultrassons no próprio *Mastersizer*. Deste modo, cada lote de partículas foi analisado por 6 vezes:

- Sem aplicação de ultrassons;

- Após a primeira aplicação de ultrassons (durante 30 segundos);
- Após a segunda aplicação de ultrassons ultrassons (durante 30 segundos);
- Após a terceira aplicação de ultrassons ultrassons (durante 30 segundos);
- Cinco minutos após a última aplicação de ultrassons;
- Dez minutos após a última aplicação de ultrassons.

Enquanto a sucessiva utilização de ultrassons pretende avaliar os fenómenos de desagregação das partículas, as duas últimas medições pretendem avaliar a reagregação a que estas poderão estar sujeitas.

### Microscopia ótica

Apesar de existirem técnicas de imagem mais desenvolvidas, a microscopia ótica continua a ser bastante útil atualmente na avaliação das características das partículas. Para além dos problemas de representatividade presentes na maioria das técnicas de imagem, a microscopia ótica apresenta uma resolução bastante limitada, limitação que acabou por estimular o desenvolvimento de outras técnicas. Contudo, a microscopia é uma tecnologia fácil de utilizar, económica e que pode ser aplicada a uma grande variedade de materiais, permitindo a visualização direta das partículas.

Optou-se por analisar as partículas finais no microscópio ótico *Olympus BH-2* e, recorrendo ao *software Analysis S*, realizar uma medição de diâmetros baseada num princípio distinto do utilizado no *Mastersizer2000*, uma vez que calcula o diâmetro médio pesado em número, caracterizando as partículas pelo diâmetro médio de *Feret*. Para além do diâmetro médio, o *software* também calcula a mediana dos diâmetros medidos. Depois de se adquirirem as imagens procede-se ao tratamento das mesmas com o *software* de tratamento de imagem *Analysis S*.

Contudo, esta não é uma técnica com tanta precisão e representatividade como o *LDS*, servindo apenas como termo de comparação. Trata-se também de uma técnica que requer uma quantidade muito pequena de amostra para análise. O simples procedimento resume-se à deposição da amostra a seco sobre a lamela, e a colocação da mesma no microscópio ótico para a aquisição das imagens para posterior tratamento.

### **3.4. Plano de experiências**

A partir da formulação base exposta na secção 3.1, definiu-se um plano de experiências com o intuito de estudar a influência dos seguintes parâmetros na formação de microcápsulas: velocidade de agitação, fração volumétrica de fase dispersa e concentração de surfatante. Desta forma, foram estabelecidas três novas formulações denominadas  $\phi+$ ,  $N+$  e *Tween+*. A segunda apresenta a mesma formulação utilizada na formulação base, aumentando-se a velocidade de agitação de 600 para 750 rpm. Por esta razão, a formulação base não se encontra especificada em qualquer tabela. Já as formulações  $\phi+$  e *Tween+* encontram-se

detalhadas nas Tabelas 3 e 4, respetivamente. Para aumentar o nível de representatividade dos resultados, todas as formulações foram testadas em duplicado.

**Tabela 3. Especificações da formulação  $\phi+$ .**

<b><i>Fase contínua (97% (v/v))</i></b>		
<b><i>Componente</i></b>	<b><i>Quantidade</i></b>	<b><i>Quantidade relativa</i></b>
Água destilada	715 ml	98,28% (v/v)
<i>Tween 80</i>	7,5 ml	1,03% (v/v)
Diclorometano	5,0 ml	0,69% (v/v)
<b><i>Fase dispersa (3% (v/v))</i></b>		
<b><i>Componente</i></b>	<b><i>Quantidade</i></b>	<b><i>Quantidade relativa</i></b>
Diclorometano	22,5 ml	-
Etilcelulose	0,900 g	4,00 % (m/v)
Ibuprofeno	0,150 g	0,67 % (m/v)

**Tabela 4. Especificações da formulação *Tween+*.**

<b><i>Fase contínua (98% (v/v))</i></b>		
<b><i>Componente</i></b>	<b><i>Quantidade</i></b>	<b><i>Quantidade relativa</i></b>
Água destilada	726,2 ml	98,80% (v/v)
<i>Tween 80</i>	3,7 ml	0,50% (v/v)
Diclorometano	5,0 ml	0,70% (v/v)
<b><i>Fase dispersa (2% (v/v))</i></b>		
<b><i>Componente</i></b>	<b><i>Quantidade</i></b>	<b><i>Quantidade relativa</i></b>
Diclorometano	15 ml	-
Etilcelulose	0,600 g	4,00 % (m/v)
Ibuprofeno	0,100 g	0,67 % (m/v)

É de realçar que o aumento da fração volumétrica da fase dispersa implica um aumento proporcional de surfatante. Contudo, aumentou-se a quantidade de *Tween 80* para 1% (v/v). Este aumento deveu-se ao facto das medições com 3% (v/v) apresentarem picos em regiões demasiado elevadas que, primeiramente, foram atribuídas a fenómenos de agregação, o que levou a um aumento da quantidade de estabilizante na tentativa de eliminar este problema. Quando se conseguiu, finalmente, entender a origem deste tipo de anomalias, optou-se por não diminuir a quantidade de surfatante.

## 4. Apresentação e discussão de resultados

Esta secção tem como objetivo principal apresentar os resultados obtidos na monitorização por difração *laser* com as diferentes formulações estudadas. Contudo, antes de se abordar estes resultados, é importante discutir alguns aspetos que se apresentaram como dificuldades ao longo do trabalho, na aplicação desta técnica à monitorização do processo de formação de microcápsulas.

### 4.1. Pontos prévios

#### Acumulação de material na janela

Alguns ensaios não apresentam uma tendência de tamanhos definida, existindo variação nos resultados obtidos ao longo do processo. Este fenómeno ocorre devido ao aparecimento de picos na região milimétrica, que é uma ordem de tamanhos demasiado elevada para este processo, tendo em conta a técnica utilizada e os valores encontrados na literatura (que se situam entre os micrómetros e centenas de micrómetros).

A título de exemplo, é apresentado um ensaio realizado com a formulação N+, denominado 19/06. A evolução temporal de  $D_{3,2}$  está representada na Figura 11.

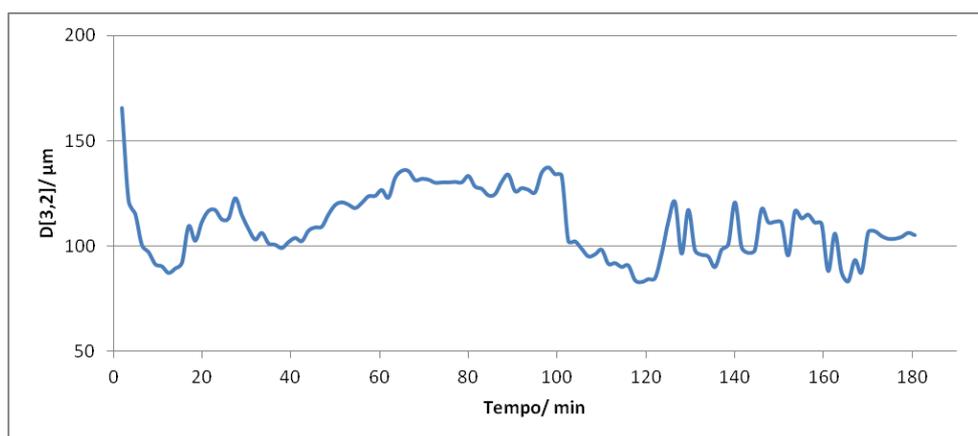
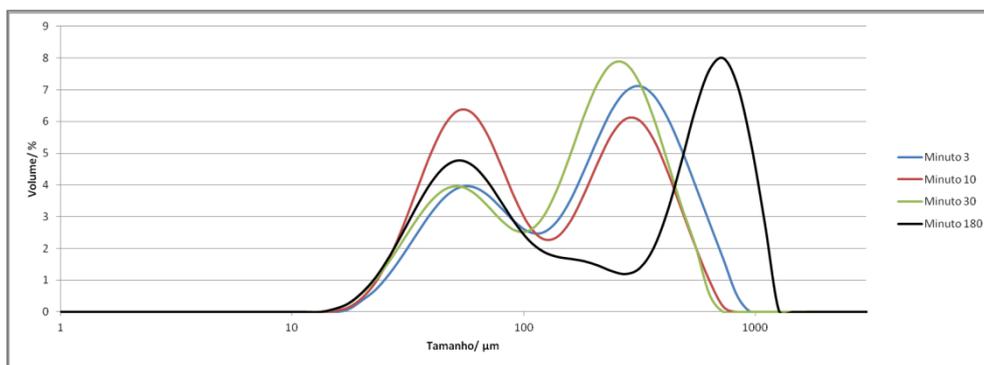


Figura 11. Evolução temporal do valor de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas no ensaio 19/06.

Apesar do gráfico correspondente ao diâmetro de *Sauter* ilustrar que, de forma geral, as gotículas decrescem ao longo do processo, a sua evolução não apresenta a diminuição contínua que seria de esperar. Depois de uma redução de tamanhos acentuada no início do processo, o diâmetro médio exibe um crescimento gradual entre os 40 e os 100 minutos da monitorização, decrescendo após este tempo, e voltando a apresentar grandes oscilações após a segunda hora. Este trata-se de um fenómeno anómalo, visto que o solvente da gotícula está a ser eliminado.

Na Figura 12, encontram-se ilustradas as distribuições de tamanhos obtidas em diferentes instantes da monitorização.



**Figura 12. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação base no ensaio 19/06.**

As distribuições calculadas pelo *Mastersizer* apresentam, em diferentes períodos do processo, picos em três zonas distintas: numa região perto dos 55  $\mu\text{m}$ , numa zona intermédia que varia entre os 250 e os 300  $\mu\text{m}$  e, finalmente, nos 750  $\mu\text{m}$ . Estes dois últimos, nem sempre estão presentes quando se analisa as distribuições obtidas para os vários instantes. O pico intermédio é predominante desde o início da monitorização até perto da segunda hora. A partir do minuto 120, sofre um decréscimo, e o pico que se situa nos 750  $\mu\text{m}$ , que aparecera a partir do minuto 90, começa a ganhar preponderância. Ao minuto 125, a moda deste último pico situa-se nos 740  $\mu\text{m}$ . O facto dos dois picos situados nas regiões de tamanhos mais elevados apresentarem um comportamento intermitente, indicia que não representam (pelo menos na sua totalidade) entidades presentes no copo da emulsão.

Atendendo às distribuições obtidas ao minuto 180 apresentadas na Figura 12, e considerando que são representações fieis do material presente no copo da emulsão, seria de esperar que a maioria das partículas apresentasse um diâmetro a rondar os 750  $\mu\text{m}$  e outra grande parte tivesse cerca de 55  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Isto implicaria que a maioria das partículas ficasse retida no peneiro com abertura 600  $\mu\text{m}$ . Contudo, as quantidades de partículas obtidas após secagem e peneiração apresentadas na Tabela 5 não confirmam este tipo de comportamento.

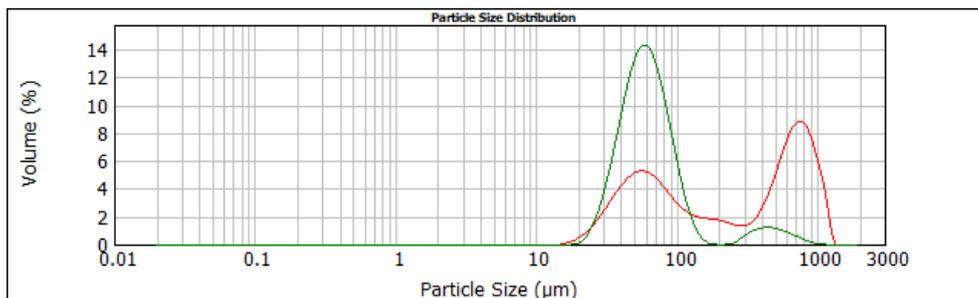
**Tabela 5. Quantidade de partículas recolhidas após secagem e peneiração no ensaio 19/06.**

$m$ após secagem/ g	$m$ após peneiração/ g	Percentagem mássica de partículas com $d < 600 \mu\text{m}$	Rendimento global/ %
0,4447	0,4081	92	58

Como ilustrado na Tabela 5, mais de 90% das partículas secas foram recolhidas no recipiente de recolha do peneiro, o que indica que a quase totalidade dos sólidos tem tamanhos inferiores a 600  $\mu\text{m}$ . Desta forma, a existência do pico na zona dos 750  $\mu\text{m}$  não é causada (pelo menos na sua totalidade) por entidades presentes no copo da emulsão.

Posto isto, é pertinente analisar, em termos de tamanhos, as partículas finais por forma a realizar um paralelismo com os resultados obtidos no final da monitorização. Para isso, analisou-se o produto final produzido no ensaio 19/06 através de uma análise convencional no

*Mastersizer*, como descrito na secção 3.3.5. A Figura 13 permite comparar a distribuição de tamanhos das partículas peneiradas com a última distribuição obtida na monitorização *online*.



**Figura 13.** Distribuições obtidas no final da monitorização *online* (curva vermelha) e na análise das partículas peneiradas produzidas no ensaio 19/06 (curva verde) por difração *laser*.

Como é notório na Figura 13, o pico mais à direita obtido no final da monitorização *online* desaparece quando se analisam as partículas peneiradas. Contudo, apesar da peneiração, continua-se a verificar a ocorrência de uma pequena cauda na zona mais à direita da curva a verde que pode ser o resultado de alguma aglomeração de partículas. O facto do pico mais à direita da curva a vermelho deixar de estar representado na análise das partículas peneiradas sustenta a hipótese do pico na zona mais à direita do gráfico obtido durante a monitorização não representar (pelo menos na sua totalidade) entidades presentes no copo da emulsão. Contrariamente, o pico na zona dos 60 µm continua a surgir após peneiração, o que indicia que, no final do processo existem, de facto, partículas com este diâmetro e que representam a maioria das entidades no copo.

Verificou-se posteriormente que existe alguma agregação de material na célula do equipamento de *LDS* que, provavelmente, causou esta adulteração das medições. Este fenómeno deveu-se a uma redução do caudal da bomba após ter ocorrido uma avaria neste equipamento. A Figura 14 ilustra a referida acumulação de material na célula do *Mastersizer*. Contudo, não é de rejeitar que alguma agregação entre microcápsulas possa também contribuir para a formação de picos em regiões de tamanhos mais elevadas.



**Figura 14. Acumulação de material na janela de medição do *Mastersizer* durante a monitorização *online* (imagem à esquerda) e durante a lavagem do equipamento (imagem à direita).**

Deste modo, pôde-se verificar que, em certas medições, os resultados se apresentam contaminados pela ocorrência de picos em zonas de tamanhos demasiado elevados. Posto isto, é importante referir a metodologia adotada em Oliveira 2010. Neste artigo, o *LDS* gerou curvas de distribuição trimodais, que o autor atribui à presença de bolhas de ar e de micropartículas, para além das gotículas da própria emulsão. Devido a isso, a emulsão é deixada em "descanso" de modo a libertar o ar que forma as bolhas para a atmosfera e o gráfico é limitado a uma certa gama de tamanhos de forma a se obter uma curva que apenas contabilize as gotículas da emulsão. Este procedimento, que pode aparentar constituir uma manipulação de dados, é uma forma de evitar a adulteração das medições do tamanho de gotículas, uma vez que parâmetros como a mediana ou tamanho médio são influenciados pela presença dos dois picos que não representam a fase dispersa.

Assim, e de forma semelhante ao realizado em Oliveira (2010), limitou-se o domínio de tamanhos partículas dos ensaios em que existe uma "contaminação" considerada excessiva das distribuições que correspondem a material acumulado a janela. Desta forma, sempre que necessário, limitou-se o domínio de tamanhos até os 200  $\mu\text{m}$ . Esta manipulação pretende isolar a zona da distribuição referente à fase dispersa e eliminar os efeitos de picos em regiões de tamanhos demasiado elevados resultante de efeitos que não têm a ver com a formação de microcápsulas. Além disto, o valor da moda do pico principal gerado pelo *software* do *Mastersizer* receberá especial atenção, uma vez que se trata do parâmetro menos influenciado pela existência de regiões nas curvas de distribuição que não correspondam a partículas do copo da emulsão.

## Alguns resultados da microscopia ótica no acompanhamento da formação das microcápsulas

A título de exemplo, a Figura 15 apresenta imagens obtidas por microscopia ótica em dois instantes da monitorização *online*. Estas imagens obtiveram-se durante um processo de encapsulação realizada com a formulação  $\phi+$ .

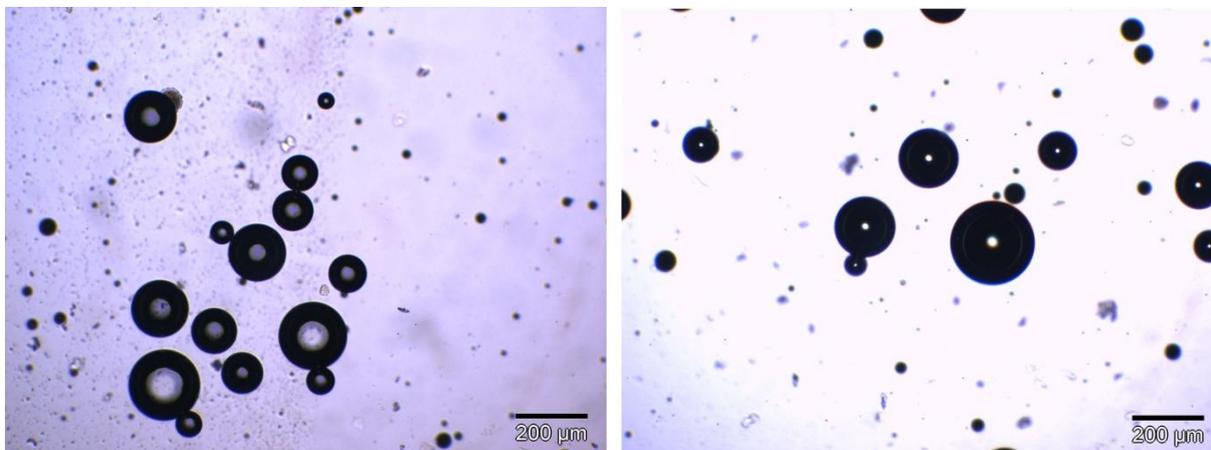


Figura 15. Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 6,5 (imagem à esquerda) e 47 (imagem à direita) do processo de microencapsulação.

A Figura 15 evidencia que as partículas presentes no copo não apresentam uma agregação significativa. Além disso, as duas imagens permitem identificar dois estágios de solidificação distintos. Como era expectável, a imagem à direita apresenta um estado de solidificação bastante mais avançado que as partículas da imagem à esquerda, resultante da perda de solvente da fase dispersa. As restantes imagens recolhidas por microscopia ótica durante a monitorização *online* encontram-se apresentadas no Anexo II.

### 4.2. Formulação base

As diferentes distribuições obtidas ao longo da monitorização que se encontram apresentadas nas Figuras 16 e 17 permitem aferir que as principais alterações nas curvas ocorrem na primeira meia hora. Comparando os dois ensaios, a curva do lote 07/05 aparenta estabilizar mais rapidamente: a distribuição obtida no minuto 30 é mais próxima do seu estado final no ensaio 07/05.

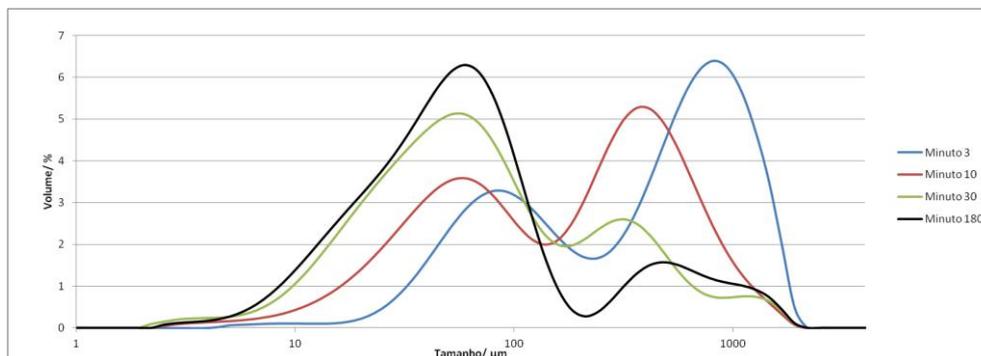
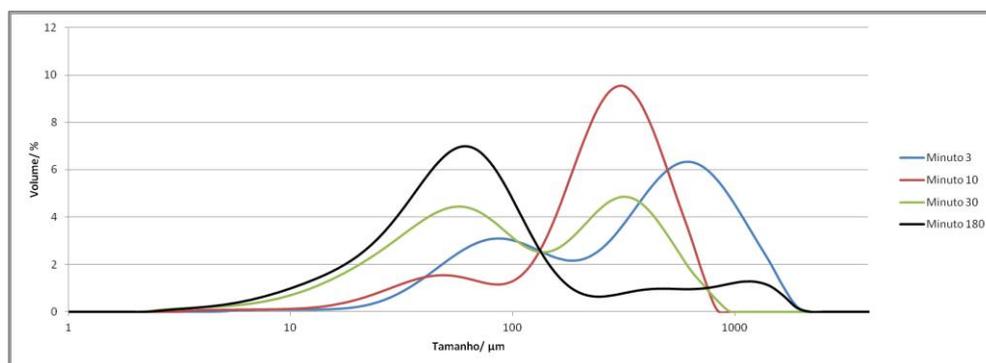


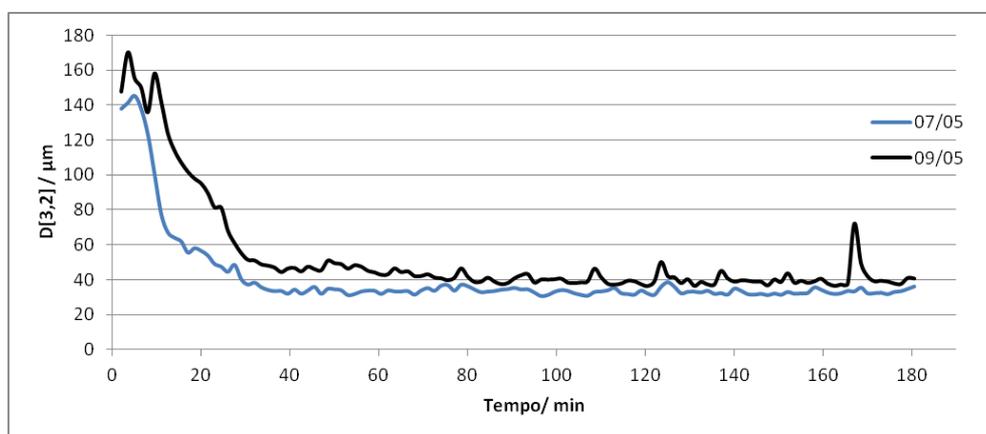
Figura 16. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação base no ensaio 07/05.



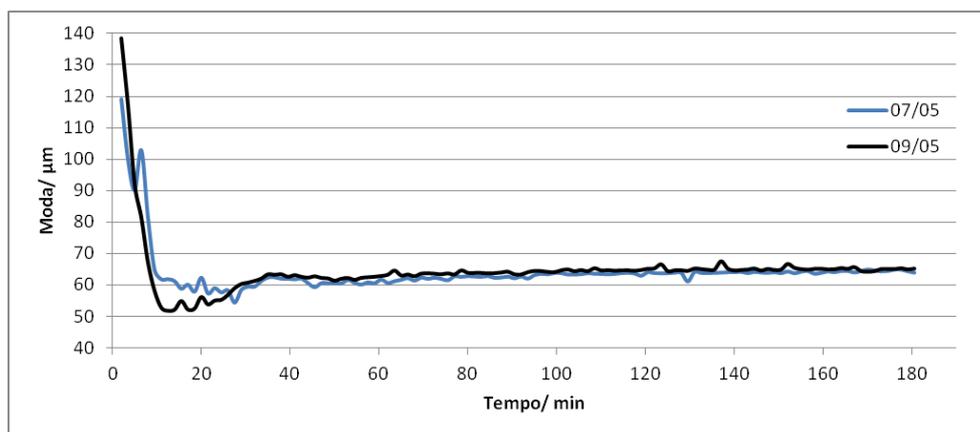
**Figura 17. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação base no ensaio 09/05.**

Inicialmente, obtiveram-se distribuições bimodais, com picos nos 350 e 65  $\mu\text{m}$ . A existência de picos nestas duas zonas permite agrupar os valores da moda obtidos em dois tipos de moda:  $m_1$ , quando o valor deste parâmetro se encontra próximo de 65  $\mu\text{m}$  e  $m_2$  se o seu valor ronda os 350  $\mu\text{m}$ .

Como ilustram as Figuras 18 e 19, a velocidade de alteração do diâmetro das gotículas foi mais elevada num período inicial, verificando-se, a partir de certo momento, uma alteração muito lenta no tamanho das microcápsulas até ao final do processo. Este tipo de evolução já tinha sido reportado em Muhaimin (2013).



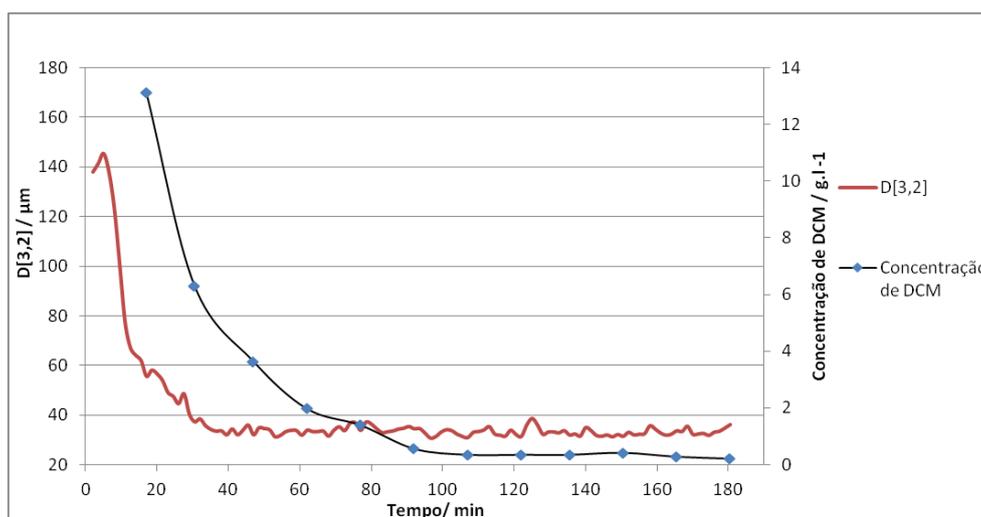
**Figura 18. Evolução temporal do valor de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva azul) e no ensaio 09/05 (curva a preto).**



**Figura 19.** Evolução temporal do valor da moda  $m_1$  das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva azul) e no ensaio 09/05 (curva a preto).

As evoluções temporais do valor de  $D_{3,2}$  e da moda  $m_1$  dos dois ensaios revelou-se semelhante para nos dois ensaios. A Figura 18 mostra que o diâmetro de Sauter do ensaio 07/05 estabiliza ligeiramente mais rápido, fenómeno que se deve ao facto do pico mais à direita do ensaio 09/05 evoluir mais lentamente. Já a evolução da moda  $m_1$  dos dois ensaios apresenta elevada concordância, já que não é afetado pelo referido pico. Pode por isso concluir-se que foi possível obter, para este ensaio, uma boa reprodutibilidade.

As medições realizadas no refratómetro para o índice de refração da emulsão/solvente indicam uma diminuição semelhante do índice de refração dos dois lotes, ou seja, uma velocidade de eliminação de solvente semelhante. No final da primeira hora de monitorização, os lotes 07/05 e 09/05 apresentam uma concentração de 1,98 e 1,73  $\text{g.l}^{-1}$  de DCM, respetivamente. As Figuras 20 e 21, para além de confirmarem o comportamento referido anteriormente, permitem comprovar que a evolução/diminuição do diâmetro das partículas depende da eliminação do solvente.



**Figura 20.** Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 07/05.

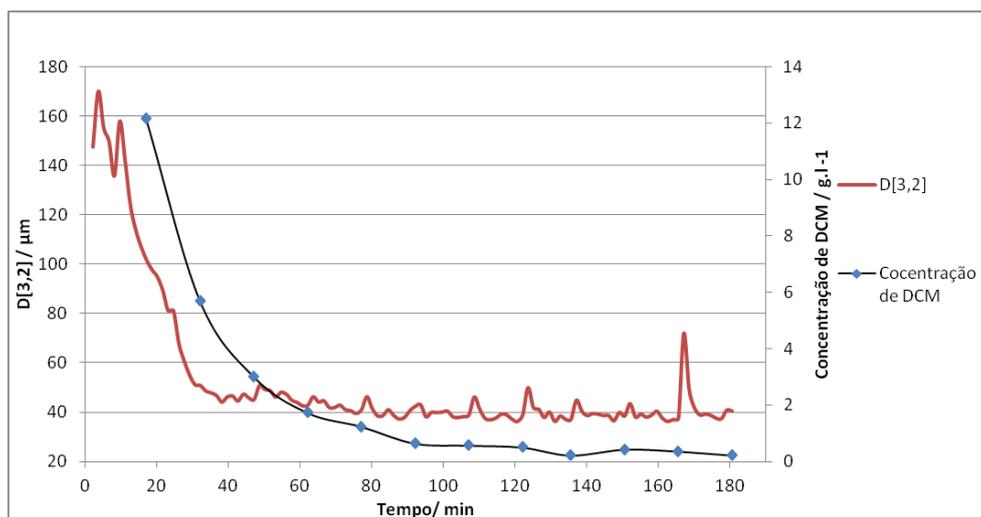


Figura 21. Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação base no ensaio 09/05.

Os diâmetros médios e valores da moda finais das encapsulações realizadas com a formulação base encontram-se apresentados na Tabela 6. Já as últimas distribuições obtidas durante a monitorização *online* encontram-se ilustradas na Figura 22.

Tabela 6. Tamanhos médios obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base.

Ensaio	Tamanhos médios finais	
	Moda/ $\mu\text{m}$	$D_{3,2}/\mu\text{m}$
07/05	63,85	36,12
09/05	65,18	40,47

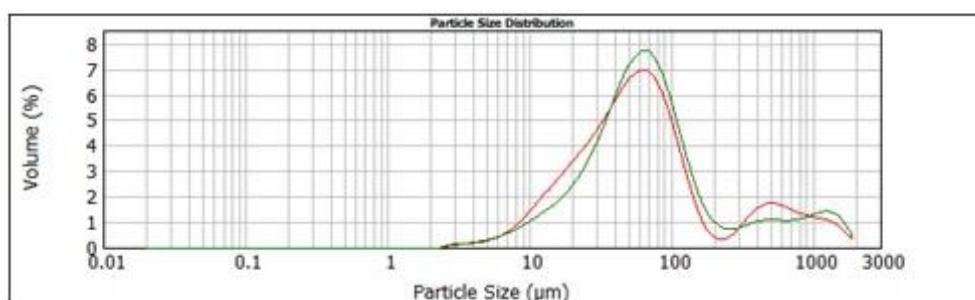


Figura 22. Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação base no ensaio 07/05 (curva vermelha) e no ensaio 09/05 (curva verde).

Em suma, os resultados obtidos nos dois lotes revelaram elevada concordância. Apesar das modas dos dois lotes serem muito semelhantes, as pequenas diferenças nas distribuições globais leva a valores ligeiramente diferentes nos diâmetros médios. Estes resultados atestam a reprodutibilidade da encapsulação, que é notória quando se compara as últimas distribuições obtidas em cada um dos lotes, exibidas na Figura 22. O pico principal encontra-se na mesma zona de tamanhos, existindo uma pequena cauda no lado direito do gráfico que, provavelmente, é originada por alguma acumulação de material na janela do equipamento e pela existência de agregados no copo da emulsão.

### Análise das partículas peneiradas por LDS

Depois de peneiração, o rendimento global dos ensaios 07/05 e 09/05 foi de 35 e 33%, respetivamente. Também neste parâmetro, a encapsulação realizada com a formulação base revelou-se reprodutível.

Os tamanhos médios e modas obtidas na análise das partículas peneiradas encontram-se apresentados na Tabela 7, enquanto as respetivas distribuições estão apresentadas na Figura 23. Uma vez que se considerou que ambos os lotes produziram partículas semelhantes, optou-se por analisar apenas um deles, neste caso, o 07/05.

Tabela 7. Resultados obtidos na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base por difração *laser* no lote 07/05.

<i>Distribuição</i>	<i>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></i>	<i>D<sub>3,2</sub>/ <math>\mu\text{m}</math></i>
Sem aplicação de ultrassons	93,52	114,28
Após aplicação dos 1 <sup>os</sup> ultrassons	77,88	88,05
Após aplicação dos 2 <sup>os</sup> ultrassons	76,25	86,14
Após aplicação dos 3 <sup>os</sup> ultrassons	75,92	86,07
Cinco minutos após aplicação de ultrassons	76,21	86,31
Dez minutos após aplicação de ultrassons	76,30	89,88

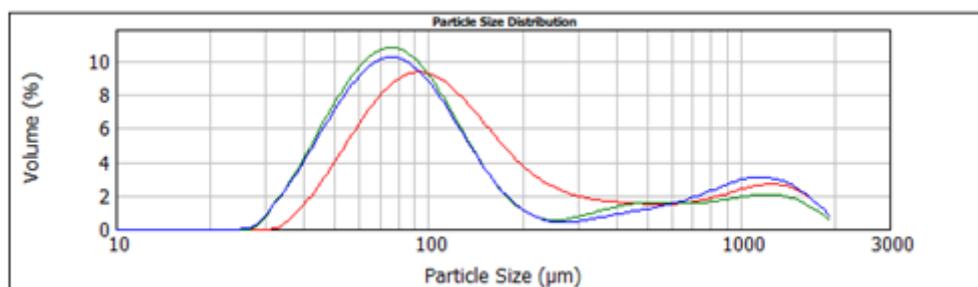


Figura 23. Comparação das distribuições obtidas na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base no lote 07/05 por difração *laser* sem aplicação de ultrassons (curva vermelha), após a 3ª aplicação de ultrassons (curva verde) e 10 minutos após a aplicação de ultrassons (curva azul).

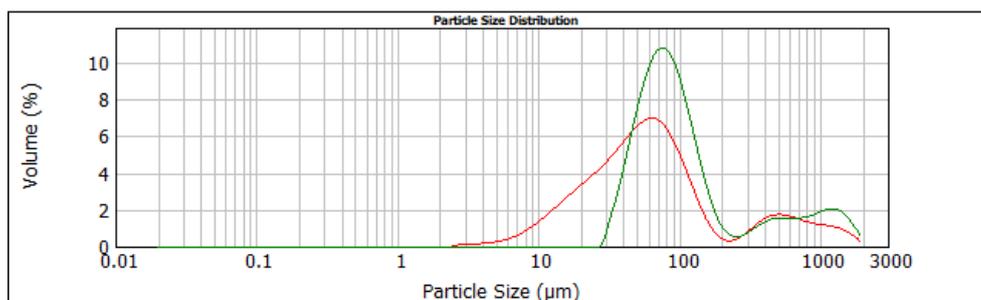
Pela análise da Figura 23, é possível concluir que as distribuições de tamanhos apresentadas anteriormente demonstram que a aplicação inicial de ultrassons provocou a diminuição do diâmetro das partículas. O pico que na primeira medição se situava nos 93  $\mu\text{m}$  deslocou-se para os 78  $\mu\text{m}$  após aplicação dos primeiros ultrassons. As seguintes aplicações tiveram um impacto reduzido na diminuição dos tamanhos médios, transportando o pico para os 76  $\mu\text{m}$  que não se altera significativamente nos 10 minutos seguintes. Isto leva a concluir que as partículas, com diâmetro que ronda os 76  $\mu\text{m}$ , não tendem a agregar ao longo do tempo.

Para a comparação da monitorização *online* com a análise após peneiração, utiliza-se a última distribuição da monitorização e a distribuição obtida após a aplicação de ultrassons pela terceira vez, uma vez que representa o estado de maior desagregação. Por esta razão, para as formulações seguintes apenas se apresentará a curva obtida após a terceira aplicação de ultrassons. Associado a isto, esta medição será denominada por "medição após secagem e peneiração" de forma a facilitar a linguagem e conseqüente leitura. O estudo comparativo

entre a medição *online* e a medição após secagem e peneiração encontra-se exposto na Tabela 8 e Figura 24.

**Tabela 8. Resultados obtidos por difração *laser* na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base no lote 07/05.**

<b>Distribuição</b>	<b>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></b>	<b><math>D_{3,2}</math>/ <math>\mu\text{m}</math></b>
Última distribuição da monitorização <i>online</i>	63,85	36,12
Após secagem e peneiração	75,92	86,07



**Figura 24. Distribuições relativas ao final da monitorização *online* (curva vermelha) e à análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação base (curva verde) no lote 07/05.**

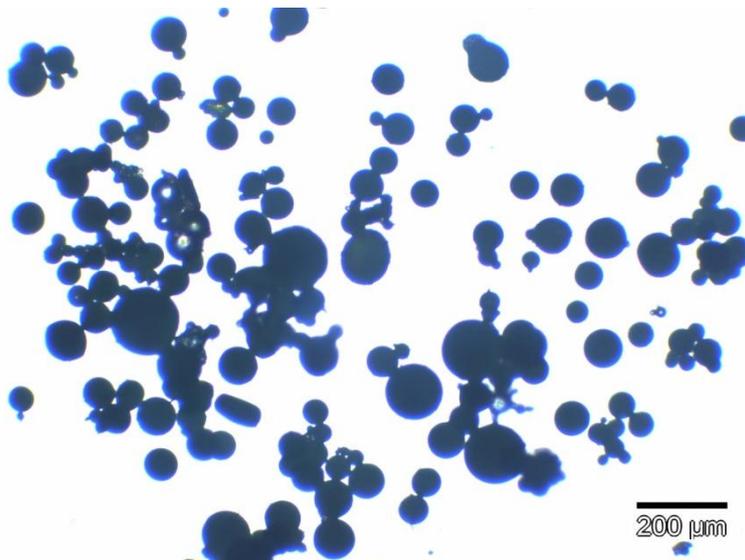
Os resultados obtidos na monitorização *online* apresentam um pico mais largo, que se prolonga sobretudo para as regiões de tamanhos inferiores, o que faz com que os tamanhos médios sejam inferiores aos obtidos na medição das partículas finais. O facto de alguns dos finos desaparecerem na medição realizada após secagem e peneiração poderá indicar que, durante a secagem das partículas, as partículas estão expostas a fenómenos, maioritariamente de agregação, que fazem com que algumas das microcápsulas não estejam representadas na curva verde.

A medição realizada às partículas secas e peneiradas apresenta uma pequena cauda que se estende até à região milimétrica que não seria expectável, na medida em que a peneiração eliminou todas as partículas com mais de 600  $\mu\text{m}$ . Desta forma, este pico é provavelmente provocado pela agregação de partículas, apesar da aplicação de ultrassons.

A moda, que na monitorização *online* se situava nos 64  $\mu\text{m}$ , fixou-se nos 76  $\mu\text{m}$  no produto final. Apesar deste aumento, os últimos resultados obtidos na monitorização *online* estão em relativa conformidade com a análise obtida depois da recolha das partículas.

### **Análise das partículas peneiradas por microscopia ótica**

Finalmente, a microscopia ótica combinada com a análise de imagem permitiu concluir que as partículas obtidas com a formulação base são esféricas, sem presença de fibras ou indício de colapso. Na Figura 25 apresenta-se uma imagem obtida através da microscopia ótica.



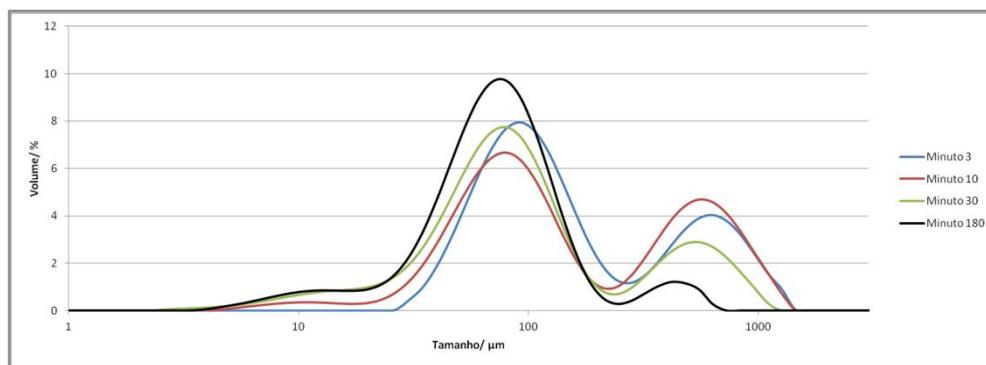
**Figura 25.** Imagem das partículas produzidas a partir da formulação base obtida por microscopia ótica no lote 07/05.

Através do *software Analysis S* foi também possível obter o valor médio das partículas analisadas. Uma vez que esta medição foi feita manualmente, apenas se mediram as partículas com os contornos bem definidos na imagem, omitindo-se conjuntos de partículas sobrepostas. Por outro lado, a média calculada pelo *software* trata-se da média dos diâmetros de *Feret* pesados em número. Em suma, a microscopia apresenta uma medição de tamanhos pouco representativa, que ignora algumas entidades e que apresenta uma média ponderada em número (contrariamente aos diâmetros pesados em área e volume calculados por *LDS*). Desta forma, não é possível realizar uma comparação direta das duas técnicas.

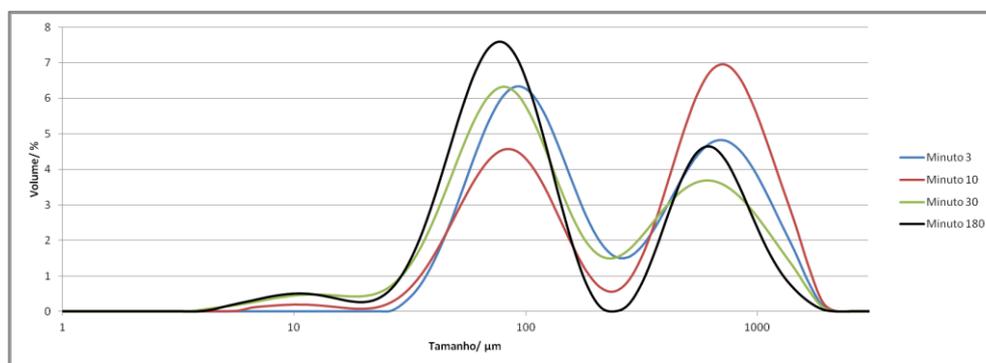
O diâmetro médio obtido por microscopia ótica foi de 68,12 µm para o lote 07/05 produzido a partir da formulação base. Apesar do referido anteriormente, este valor encontra-se relativamente próximo dos diâmetros obtidos por difração *laser*.

#### **4.2. Formulação $\phi+$**

A evolução temporal das distribuições obtidas com a formulação  $\phi+$  encontra-se exposta nas Figuras 26 e 27. É desde logo visível que as distribuições dos dois ensaios não se revelam tão concordantes como no caso da formulação base. A principal diferença entre os dois ensaios reside no facto das alturas do pico secundário ser diferente, com maior representatividade no ensaio 31/07. Por outro lado, o pico mais à esquerda no gráfico situa-se na mesma zona de tamanhos. Com o aumento da fração volumétrica da fase dispersa, as distribuições aproximaram-se do seu formato final desde o início da monitorização. Este comportamento não está de acordo com o esperado na medida em que, sendo necessário eliminar uma maior quantidade de solvente, as curvas poderiam necessitar de mais tempo para estabilizar.



**Figura 26. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 30/07.**



**Figura 27. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 31/07.**

Para ambos os ensaios, são obtidas distribuições bimodais, com um pico principal na zona dos 80  $\mu\text{m}$  e um pico secundário situado entre 500 e 800  $\mu\text{m}$ . Assim, de forma análoga ao realizado na formulação base, voltou-se a agrupar duas regiões para os valores da moda:  $m_1$ , quando o seu valor ronda os 80  $\mu\text{m}$ , e  $m_2$ , quando apresenta um valor na ordem das centenas de micrômetros.

A evolução do diâmetro de *Sauter* e da moda  $m_1$  ilustrada nas Figuras 28 e 29, respetivamente, volta a revelar um período inicial com uma alteração brusca, seguido de uma região com velocidade de alteração muito lenta. Graças à existência de certos períodos de instabilidade no ensaio 30/07, algumas medições foram ignoradas para a construção do gráfico da Figura 28. De novo, nos gráficos da Figura 29, foram apenas utilizados os valores de  $m_1$ .

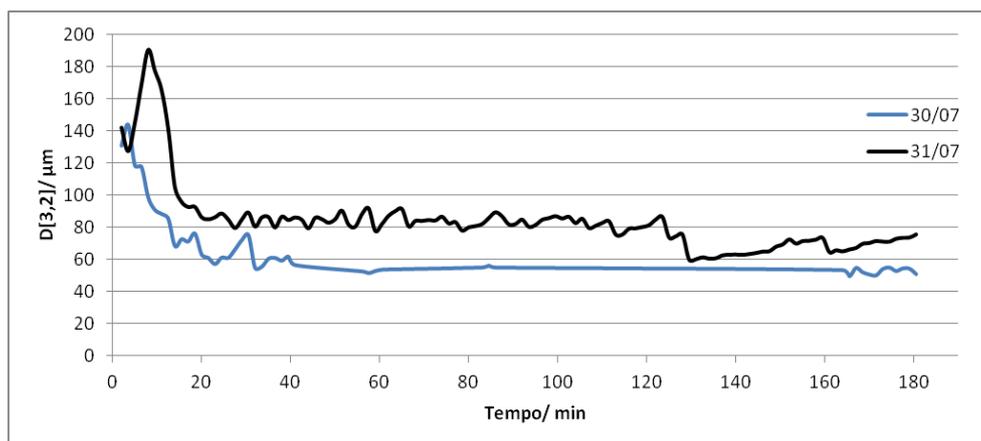


Figura 28. Evolução temporal do valor de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 30/07 (curva azul) e no ensaio 31/07 (curva a preto).

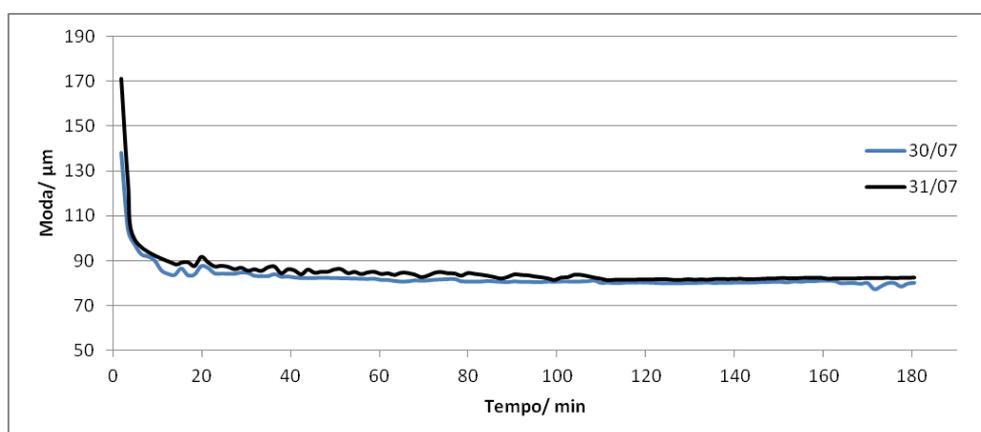


Figura 29. Evolução temporal do valor da moda  $m_1$  das partículas produzidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 30/07 (curva azul) e no ensaio 31/07 (curva a preto).

Atendendo à evolução temporal dos valores de  $D_{3,2}$  da Figura 28, é de novo notório que os dois lotes apresentam maiores diferenças relativamente ao que sucedeu com a formulação base. Contudo, os dois ensaios apresentam evoluções temporais do diâmetro de *Sauter* relativamente concordantes. Por outro lado, através do pico referente ao valor de  $m_1$ , pode-se afirmar que a maioria das partículas dos dois ensaios apresenta tamanhos muito semelhantes ao longo de todo o processo.

Apesar da evolução da concentração de Diclorometano exposta nas Figuras 30 e 31 apresentar uma eliminação ligeiramente mais rápida no lote 30/07, este fenómeno não tem uma influência significativa na evolução temporal de tamanhos. Quando comparado com a formulação base, a eliminação de Diclorometano é agora significativamente mais lenta. As Figuras 30 e 31 revelam também que a velocidade de alteração de diâmetros é bastante superior à velocidade de eliminação do solvente. Este fenómeno poderá indiciar que existe a solidificação da camada exterior da gotícula na fase inicial do processo. Até ao final da monitorização, o solvente no interior desta cápsula difunde-se para a fase aquosa, sem que exista alteração significativa do diâmetro da fase dispersa.

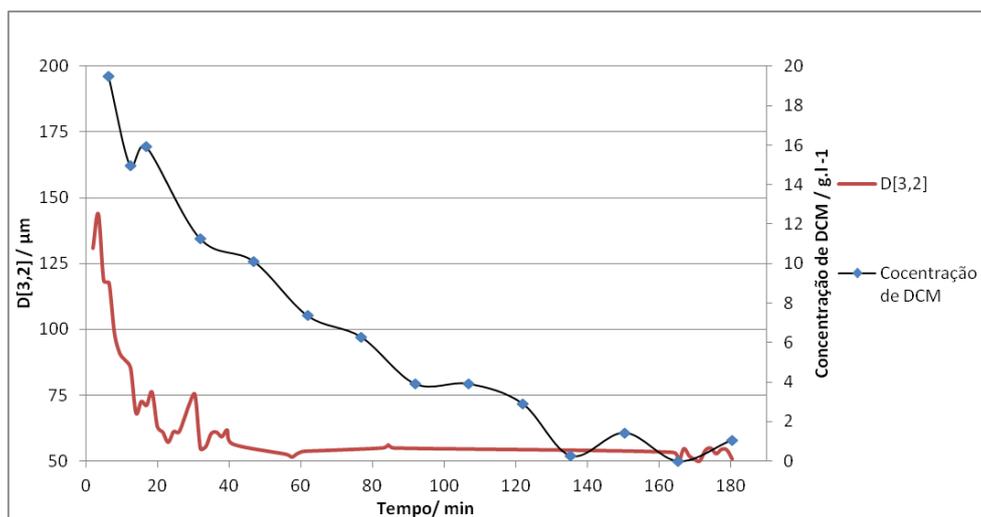


Figura 30. Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 30/07.

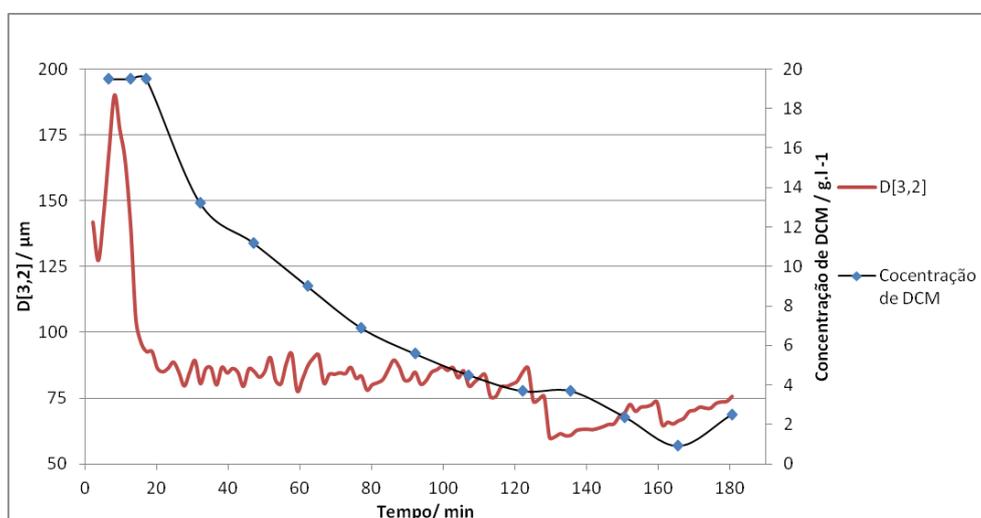


Figura 31. Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 31/07.

A Tabela 11 expõe alguns dos parâmetros mais importantes para a comparação das duas encapsulações. Na Figura 32 apresentam-se as últimas distribuições obtidas nos ensaios realizados com a formulação  $\phi+$ .

Tabela 9. Tamanhos médios obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação  $\phi+$ .

Ensaio	Tamanhos médios finais	
	Moda/ $\mu\text{m}$	$D_{3,2}$ / $\mu\text{m}$
30/07	80,25	50,81
31/07	82,42	75,70

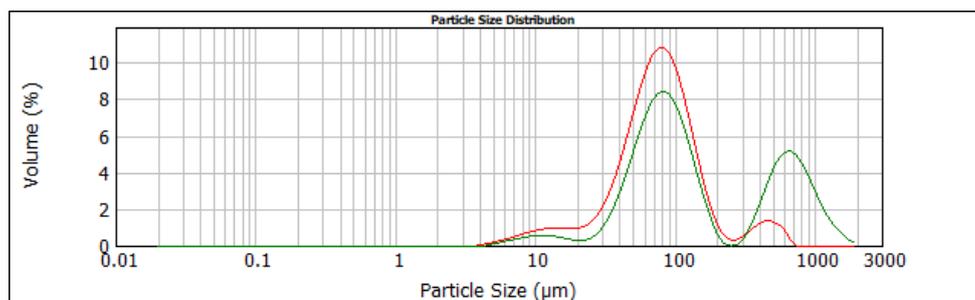


Figura 32. Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação  $\phi+$  no ensaio 30/07 (curva vermelha) e no ensaio 31/07 (curva verde).

A localização dos picos principais das últimas distribuições de cada ensaio, ilustrados na Figura 32, revelaram-se muito concordantes. A proximidade dos picos principais traduz-se na reduzida diferença no valor da moda dos dois ensaios. O facto dos picos secundários dos dois ensaios serem bastante distintos tem especial influência no cálculo dos diâmetros médios. O referido anteriormente permite, de novo, afirmar que as distribuições produzidas com formulação  $\phi+$  não foram tão coincidentes como as obtidas com a formulação base.

#### Efeito da fração volumétrica da fase dispersa

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos nas encapsulações realizadas com 3% (v/v) de fase dispersa, assim como os obtidos com formulação base, já apresentados anteriormente.

Tabela 10. Comparação dos tamanhos médios das distribuições finais obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base e formulação  $\phi+$ .

Formulação	Ensaio	Rendimento global/ %	Tamanhos médios finais	
			Moda/ $\mu\text{m}$	$D_{3,2}$ / $\mu\text{m}$
Base	07/05	35	63,85	36,12
	09/05	33	65,18	40,47
$\phi+$	30/07	45	80,25	50,81
	31/07	56	82,42	75,70

É notório que o aumento do volume da fase orgânica conduz à produção de partículas com maior diâmetro do que as produzidas com a formulação base. Este fenómeno pode ser explicado pela maior probabilidade de duas gotículas se encontrarem e coalescerem, ou pelo aumento da viscosidade da emulsão que, conseqüentemente, diminui a grau da mistura da emulsão, levando à obtenção, inicialmente, de gotas de maior tamanho.

Foi também perceptível que o aumento de  $\phi$  provoca um aumento significativo de rendimento global do processo, relativamente à formulação base. Uma possível explicação para este fenómeno será o facto da menor quantidade relativa de fase aquosa reduzir a transferência de fármaco e polímero para o exterior da gotícula. Para além disso, o facto do tamanho das gotículas estabilizar mais rapidamente do que no caso da formulação base poderá

indicar que a solidificação ocorre mais rapidamente, o que dificultará a transferência destes compostos para a fase contínua.

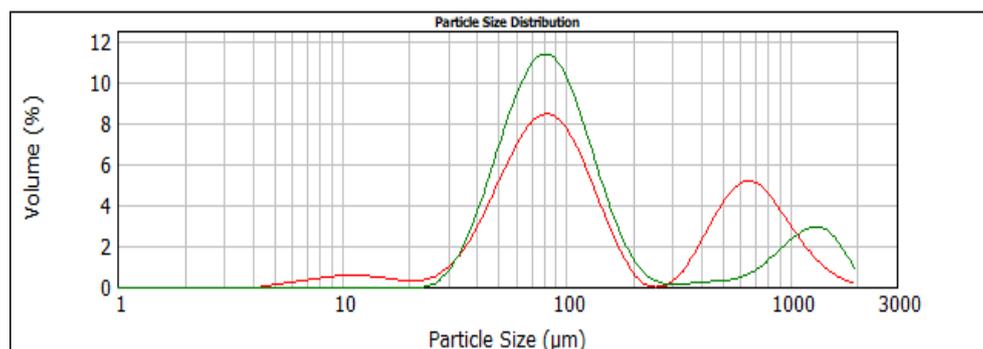
### Análise das partículas peneiradas por LDS

Em ambos os ensaios, foi possível peneirar cerca de 80% das partículas obtidas após secagem. Este fenómeno pode sustentar a possibilidade do pico mais à direita da curva verde da Figura 32 não se dever, na totalidade, à presença de agregados.

A comparação da monitorização *online* com a análise realizada às partículas secas e peneiradas encontra-se sintetizada pela Tabela 11 e Figura 33. Como já referido, apenas se representou os resultados obtidos após a última aplicação de ultrassons, uma vez que representa o cenário de maior desagregação.

**Tabela 11. Resultados obtidos por difração *laser* na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação  $\phi+$  no lote 31/07.**

<i>Distribuição</i>	<i>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></i>	<i>D<sub>3,2</sub>/ <math>\mu\text{m}</math></i>
Última distribuição da monitorização <i>online</i>	82,42	75,70
Após secagem e peneiração	81,19	86,76



**Figura 33 . Distribuições relativas ao final da monitorização *online* (curva vermelha) e à análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação  $\phi+$ (curva verde) no lote 31/07.**

A moda, que na monitorização *online* se fixou nos 82  $\mu\text{m}$ , sofreu uma ligeira diminuição, fixando-se nos 81  $\mu\text{m}$ . O facto de as regiões mais à direita do gráfico serem distintas, faz com que as diferenças em  $D_{3,2}$  sejam superiores.

A pequena cauda da análise das partículas secas e peneiradas deve-se a fenómenos de agregação, já que a peneiração permite eliminar as partículas com diâmetros superiores a 600  $\mu\text{m}$ . Por outro lado, a última distribuição obtida na monitorização *online* apresenta um pequeno pico perto dos 10  $\mu\text{m}$  que não aparece na distribuição de tamanhos das partículas secas e peneiradas. De forma semelhante ao sucedido na formulação base, este acontecimento poderá dever-se a fenómenos físico-químicos que ocorrem durante a secagem.

### Análise das partículas peneiradas por microscopia ótica

A formulação  $\phi+$  revela ter produzido partículas de maior diâmetro, apesar de não ter sido muito evidente nas imagens de microscopia apresentadas na Figura 34. As microcápsulas

continuam a apresentar um formato esférico sem sinais de colapso. O *software Analysis S* calculou um diâmetro médio de 68,80  $\mu\text{m}$ , valor da mesma ordem do obtido por difração *laser*.

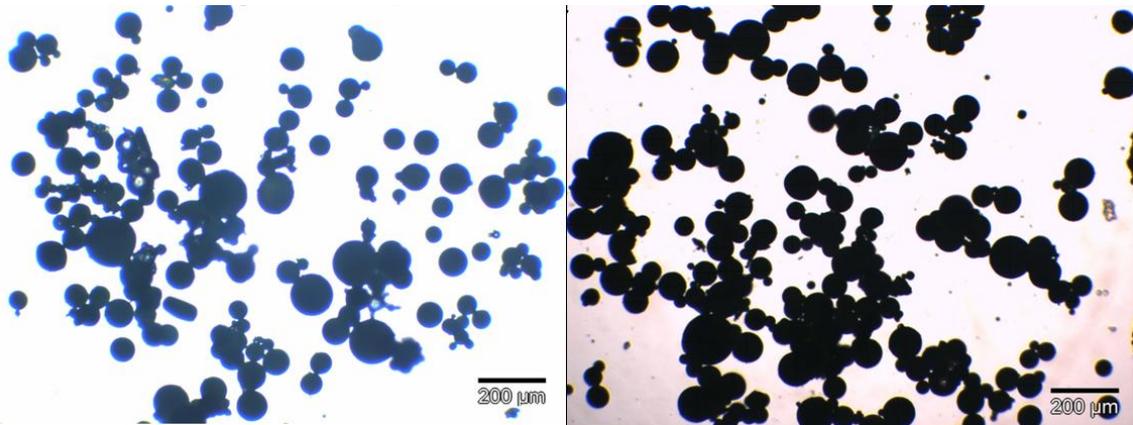


Figura 34. Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação  $\phi+$  (à direita) obtida por microscopia ótica

### 4.3. Formulação N+

As Figuras 35 e 36 apresentam a evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas com a formulação N+ nos ensaios 27/07 e 01/08, respectivamente. É evidente que o aumento da velocidade de agitação produziu um conjunto de distribuições menos concordantes entre ensaios.

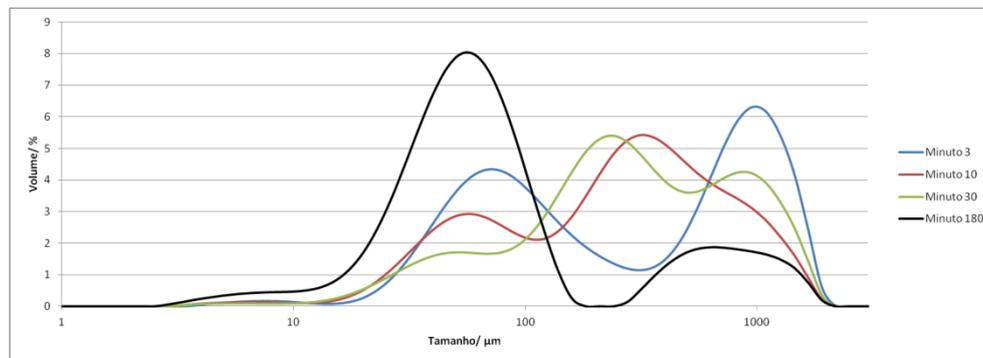
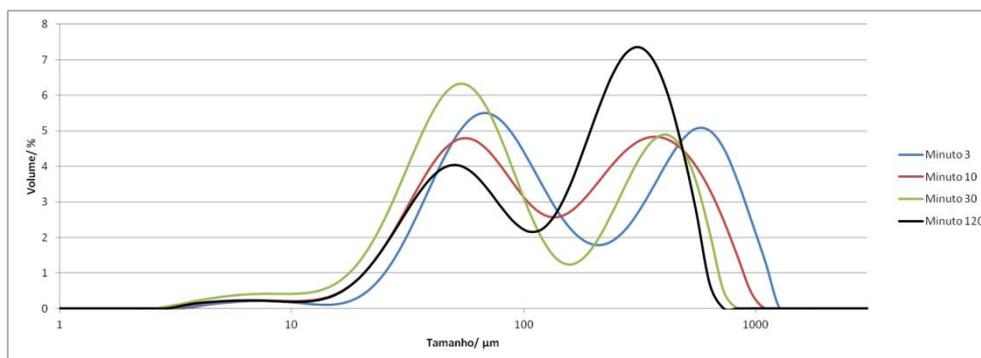


Figura 35. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação N+ no ensaio 27/07.

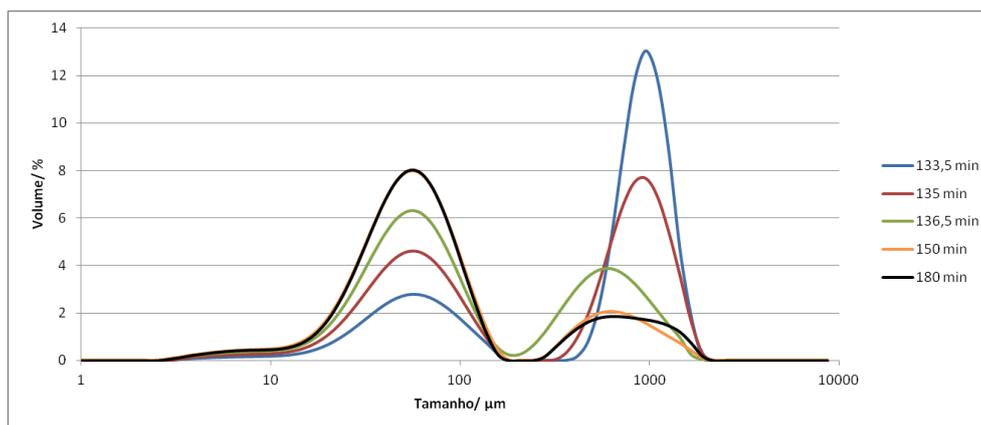


**Figura 36. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação N+ no ensaio 01/08.**

Com aumento da velocidade de agitação, voltou-se a verificar a existência de algumas distribuições multimodais. O ensaio 27/07 apresentou um comportamento mais difícil de analisar, que dificulta a obtenção do tamanho real das partículas. O pico na zona dos 60  $\mu\text{m}$ , correspondente ao tamanho da maioria das partículas, foi ofuscado ou por um pico na zona dos 300  $\mu\text{m}$  ou por outro perto dos 1000  $\mu\text{m}$ , durante quase toda a monitorização. A partir das três zonas de tamanhos identificadas anteriormente, e de forma análoga ao efetuado nas formulações anteriores, classificaram-se os picos consoante a região de tamanhos onde estão situados. Assim, os valores da moda são classificados em  $m_1$  se se situam perto dos 60  $\mu\text{m}$ ,  $m_2$  se estão na zona dos 300  $\mu\text{m}$  e  $m_3$  se estão próximos da região milimétrica.

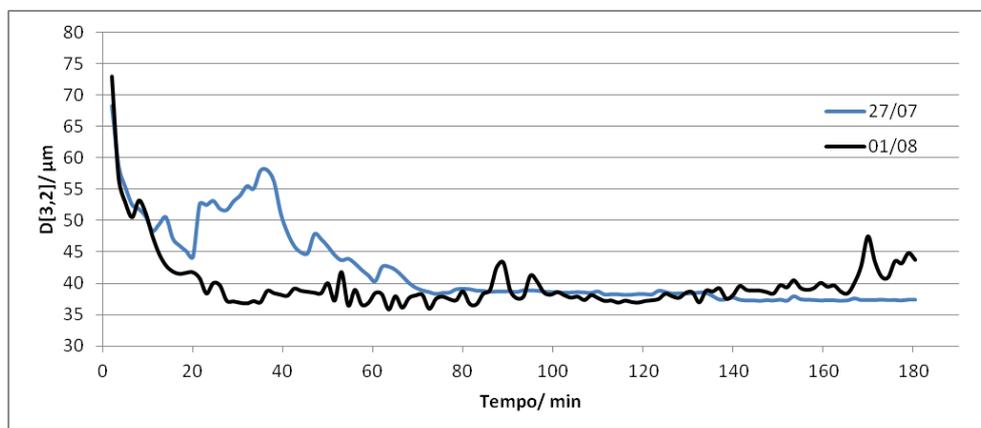
No ensaio 27/07, as distribuições iniciais apresentam apenas dois picos, mas perto dos 15 minutos, desenvolve-se o pico na região intermédia. Já o pico mais à direita subsiste até perto do minuto 130, altura em que diminui abruptamente. De novo, o comportamento intermitente dos picos das regiões dos 300 e 1000  $\mu\text{m}$  indicam que não são representativos de entidades presentes na emulsão. O lote 01/08 apresenta distribuições bimodais que, para além do pico na zona dos 60  $\mu\text{m}$ , apresentam um pico secundário entre os 300 e os 500  $\mu\text{m}$ . Este último apresenta uma altura bastante variável ao longo da monitorização.

Apesar de não estar representada na Figura 35, existe uma alteração brusca verificada no diâmetro de *Sauter* obtido no ensaio 27/07 que merece ser analisada com a devida atenção. As distribuições que ilustram este comportamento encontram-se apresentadas na Figura 37. Existe uma redução brusca dos tamanhos verificada ao minuto 135 da monitorização, o que indicia que, até esse instante, ocorre acumulação de material na célula do equipamento. Ao soltar-se, provoca a abrupta redução de tamanhos que faz com que o diâmetro de *Sauter*, que se situava nos 117  $\mu\text{m}$  (curva azul da Figura 35), se fixasse nos 55  $\mu\text{m}$  (curva verde da Figura 35), em apenas 3 minutos. Até ao final da monitorização, verifica-se que o pico situado perto dos 60  $\mu\text{m}$  aumenta em altura, enquanto o pico na região milimétrica diminui substancialmente ao mesmo tempo que se desloca para os 700  $\mu\text{m}$ .



**Figura 37. Evolução das distribuições de tamanho obtidas na encapsulação do ensaio 27/07 realizada com a formulação N+, desde o minuto 133 até ao final da monitorização.**

Optou-se assim por restringir o domínio de tamanhos de partículas até aos 200  $\mu\text{m}$  de modo a atenuar a influência do pico mais à direita no cálculo do diâmetro médio. O comportamento de  $D_{3,2}$  e da moda ao longo da monitorização encontra-se ilustrado nas Figuras 38 e 39, respetivamente. O aumento da velocidade de agitação não alterou o comportamento geral da processo. Também se observou que o pico principal se desloca para a esquerda relativamente à formulação base. Este comportamento está de acordo com o que seria esperado. Apesar de não ser tão notório como nas formulações atrás apresentadas, o tamanho das partículas apresenta uma diminuição inicial bastante acentuada, seguida de um período de evolução muito lenta.



**Figura 38. Evolução temporal do valor de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas com a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva azul) e no ensaio 01/08 (curva a preto).**

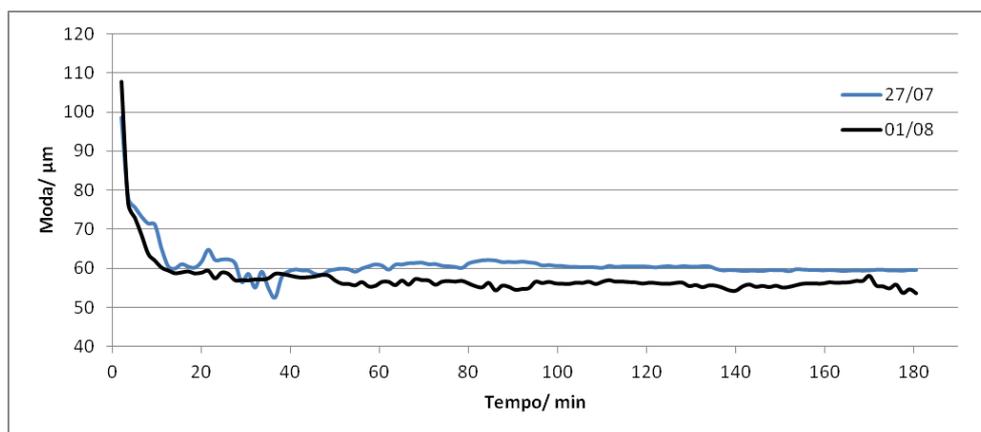


Figura 39. Evolução temporal do valor na moda  $m_1$  das partículas produzidas com a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva azul) e no ensaio 01/08 (curva a preto).

Mesmo após se restringir o tamanho das partículas até  $200 \mu\text{m}$ , o gráfico do diâmetro de Sauter do ensaio 27/07 ainda apresenta uma região instável dos 20 aos 60 minutos do processo. Por outro lado, foi possível suavizar o comportamento do diâmetro médio do lote 01/08 através da restrição do domínio de tamanhos. Apesar da pequena instabilidade referida anteriormente, o valor deste parâmetro foi, a partir da primeira hora de monitorização, concordante nos dois ensaios.

A moda tende para valores bastante semelhantes nos dois ensaios ao longo de todo o processo, o que pode indicar que foram produzidas partículas semelhantes nos dois lotes.

As medições realizadas no refratômetro apresentadas nas Figura 40 e 41 revelaram que a eliminação do solvente ocorreu com velocidade semelhante nos dois ensaios. Estes perfis, contrariamente ao sucedido com a formulação  $\phi+$ , foram bastante semelhantes aos obtidos com a formulação base. Isto poderá indicar que a fração volumétrica da fase dispersa tem maior influência na velocidade de remoção de solvente que a velocidade de agitação, para a gama tratada.

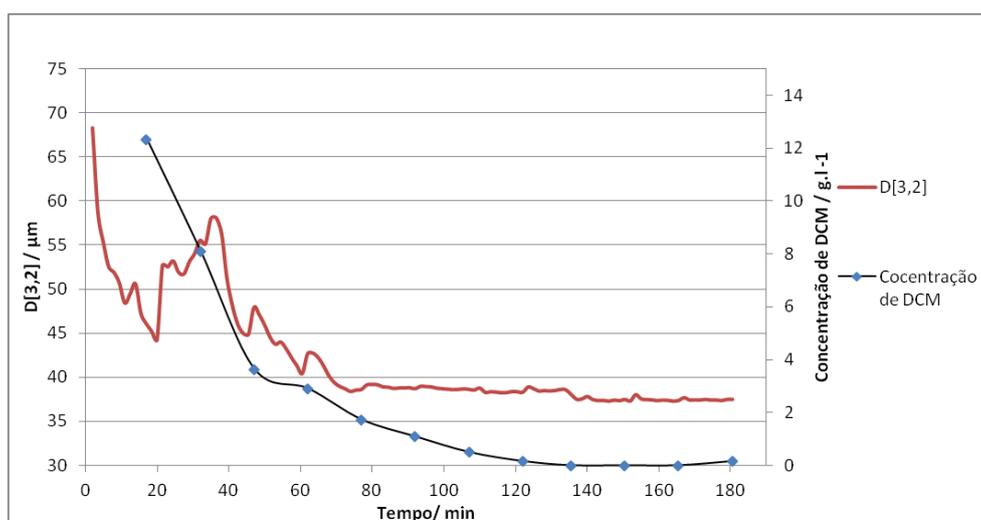


Figura 40. Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação N+ no ensaio 27/07.

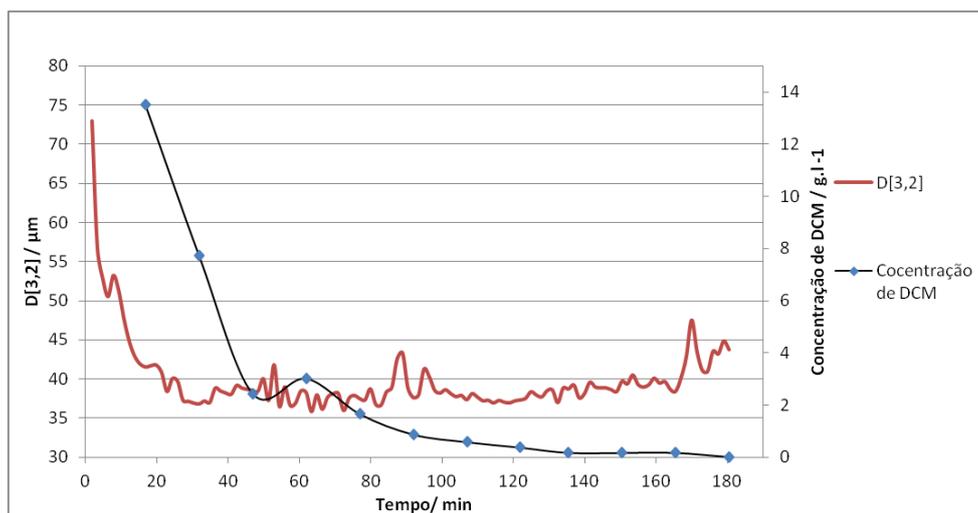


Figura 41. Influência da eliminação de DCM na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação N+ no ensaio 01/08.

A Tabela 12 expõe os resultados das encapsulações realizadas com velocidade de agitação de 750 rpm. Os parâmetros apresentados resultam da limitação do diâmetro de partículas até aos 200 µm. A Figura 42 exhibe as últimas distribuições obtidas na monitorização *online*, para os dois lotes.

Tabela 12. Tamanhos médios obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação N+, após se restringir os diâmetros a  $d=[0; 200]$  µm.

Ensaio	Tamanhos médios finais	
	Moda/µm	$D_{3,2}$ /µm
27/07	59,59	37,46
01/08	53,74	43,76

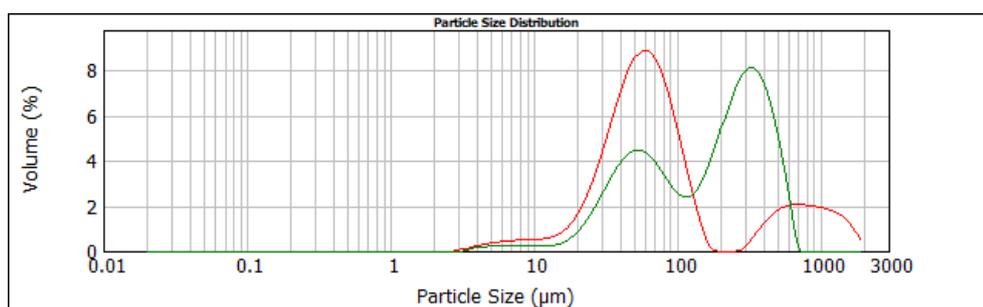


Figura 42. Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação N+ no ensaio 27/07 (curva vermelha) e no ensaio 01/08 (curva verde).

As diferenças nas curvas da Figura 42 originam os grandes desvios verificados nos diâmetros médios apresentados na Tabela 12. Enquanto o gráfico referente ao lote 27/07 apresenta um pico bastante elevado na zona dos 58 µm com uma cauda na zona milimétrica, a curva do lote 01/08 apresenta um pico predominante nos 350 µm e outro inferior nos 58 µm. Desta forma, enquanto o pico secundário do ensaio 27/07 é totalmente eliminado através da

limitação do domínio de tamanhos até 200  $\mu\text{m}$ , isto não acontece no caso do lote 01/08. Este fenómeno justifica as diferenças nos tamanhos médios entre ensaios.

### **Efeito da velocidade de agitação**

Na Tabela 13 são apresentados, para efeitos comparativos, os resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base e com a formulação N+. Para a realização desta comparação, não se analisaram os diâmetros médios, face aos picos estranhos obtidos no caso da formulação N+.

**Tabela 13. Comparação dos resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação base e formulação N+.**

<i>Formulação</i>	<i>Ensaio</i>	<i>Rendimento</i>	<i>Tamanhos médios finais</i>
		<i>global/ %</i>	<i>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></i>
Base	07/05	35	63,85
	09/05	33	65,18
N+	27/07	38	59,59
	01/08	15	53,74

Atendendo ao valor da moda de ambas as formulações, o aumento da velocidade de agitação fez com que o diâmetro das partículas diminuísse. Este comportamento está de acordo com aquilo que era esperado, já que o aumento da velocidade de agitação provoca um aumento das forças de cisalhamento, o que faz diminuir o tamanho das partículas. Isto resulta no deslocamento do pico relativo ao valor da moda  $m_1$  para uma região mais à esquerda do gráfico.

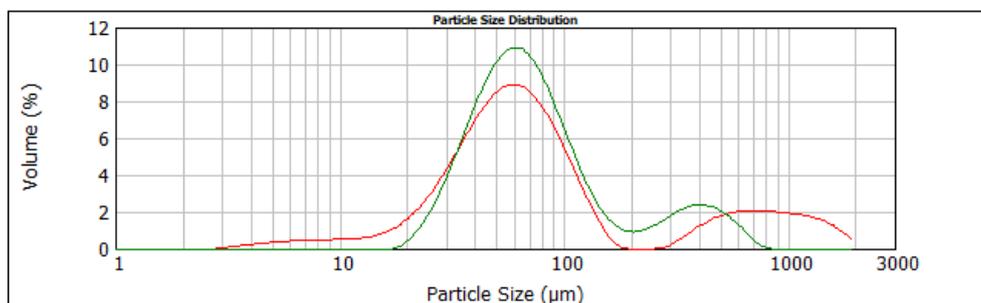
Os rendimentos globais obtidos com velocidade de agitação de 750 rpm não permitem aferir sobre a influência deste parâmetro na quantidade de partículas obtidas, uma vez que os resultados obtidos nos dois lotes foram bastante diferentes. Tal como sucedeu com os rendimentos globais, a análise da percentagem de partículas peneiradas foi inconclusiva. A diferença no valor deste parâmetro verificada nos dois ensaios (72% em 27/07 e 27% em 01/08) não permite aferir se o pico em regiões mais elevadas corresponde a entidades presentes no copo no caso do ensaio 01/08.

### **Análise das partículas peneiradas por LDS**

A avaliação dos resultados da monitorização *online* pode ser realizada através da Tabela 14, que apresenta não só os últimos resultados obtidos na monitorização como as medições das partículas secas e peneiradas. Por outro lado, a Figura 43 apresenta as correspondentes distribuições. Para se poder comparar os dois tipos de análise as distribuições das partículas peneiradas também são restringidas até 200  $\mu\text{m}$  para o cálculo de  $D_{3,2}$ .

**Tabela 14. Resultados obtidos por difração *laser* na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação N+ no lote 27/07.**

<i>Distribuição</i>	<i>Moda/ μm</i>	<i>D<sub>3,2</sub>/ μm</i>
Última distribuição da monitorização <i>online</i>	59,59	37,46
Após secagem e peneiração	60,94	55,69



**Figura 43. Distribuições relativas ao final da monitorização *online* (curva vermelha) e à análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação N+ (curva verde) no lote 27/07.**

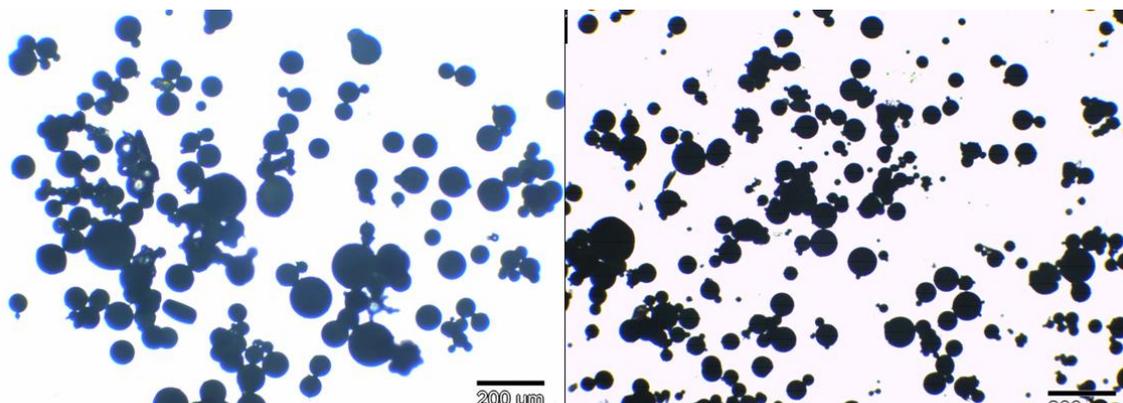
O alargamento da última curva obtida na monitorização *online* para as regiões de tamanhos inferiores, faz com que os seus tamanhos sejam inferiores aos obtidos na medição após peneiração das partículas. Este tipo de acontecimento, já reportado anteriormente, volta a indicar que existe algum tipo de agregação de finos durante a secagem.

A moda da última medição da monitorização *online*, que era inferior a 60 μm, fixou-se nos 61 μm após a secagem das partículas. Posto isto, os resultados obtidos depois da recolha das partículas estão em conformidade com os resultados obtidos na monitorização *online*

De notar que os tamanhos finais obtidos no ensaio N+ é substancialmente inferior ao das partículas da formulação base, devido ao aumento da velocidade de agitação.

### **Análise das partículas peneiradas no microscópio ótico**

A microscopia realizada às partículas produzidas com a formulação N+ apresentada na Figura 44 revela que o aumento da velocidade de agitação produziu partículas de menor diâmetro. As microesferas revelam-se esféricas não colapsadas. A formulação N+ revelou resultados concordantes entre as diferentes técnicas, já que diâmetro médio obtido pela técnica de microscopia ótica com análise de imagem foi de 58,67 μm. Este valor situa-se, novamente, próximo do diâmetro médio calculado pelo *Malvern Mastersizer*.



**Figura 44. Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação N+ (à esquerda) obtida por microscopia ótica.**

#### 4.4. Formulação Tween+

A formulação Tween+ obteve os resultados com maiores diferenças entre ensaios, como ilustram as Figuras 45 e 46. Este fenómeno deve-se ao comportamento anómalo verificado no ensaio 24/05. Já o lote 21/05 apresenta uma evolução normal, com a distribuição de tamanhos obtida ao minuto 30 a apresentar um formato bastante semelhante ao da distribuição final.

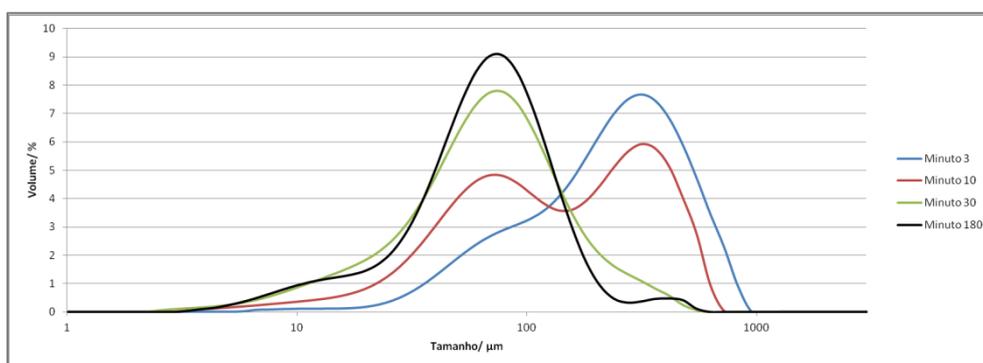


Figura 45. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05.

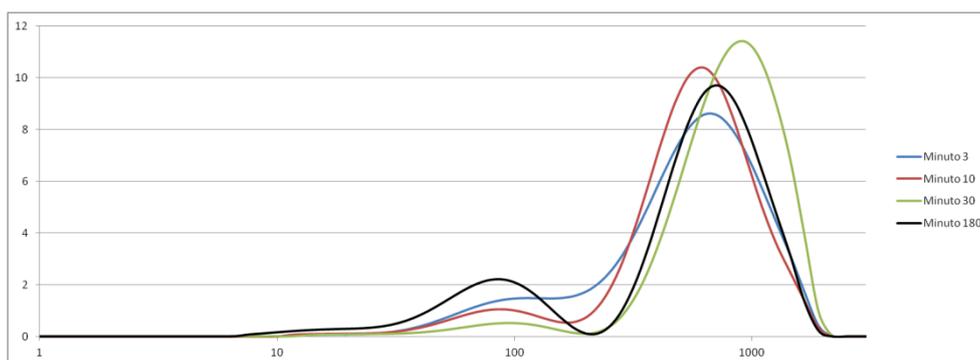


Figura 46. Evolução temporal das distribuições de tamanhos obtidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 24/05.

O lote 24/05 apresenta, ao longo de todo o processo, um pico dominante em zonas de tamanhos demasiado elevados, o que não está de acordo com o ensaio 21/05 nem com o que seria esperado perante os restantes ensaios realizados com as formulações anteriores. Já o comportamento exibido pelo ensaio 21/05 está de acordo com o seria expectável. Este lote apresenta, inicialmente, uma distribuição bimodal com picos nos 80 e 300 µm. Os dois picos, nesta fase inicial, apresentam-se bastante sobrepostos, razão pela qual é difícil isolar o valor da moda do pico mais à esquerda no gráfico. Até ao final do processo, este tende a estreitar-se, ficando apenas um pequeno pico secundário na região dos 450 µm.

Desta forma, optou-se, novamente, por classificar os valores da moda em  $m_1$  e  $m_2$ , consoante sejam da ordem das dezenas ou centenas de micrómetros, respetivamente. A evolução temporal de  $D_{3,2}$  e do valor da moda  $m_1$  encontram-se ilustrados nas Figuras 44 e 45, respetivamente. Com a presente formulação, o decréscimo acentuado seguido de um período

de alteração lenta é apenas notório no ensaio 21/05, devido às grandes oscilações no ensaio 24/05.

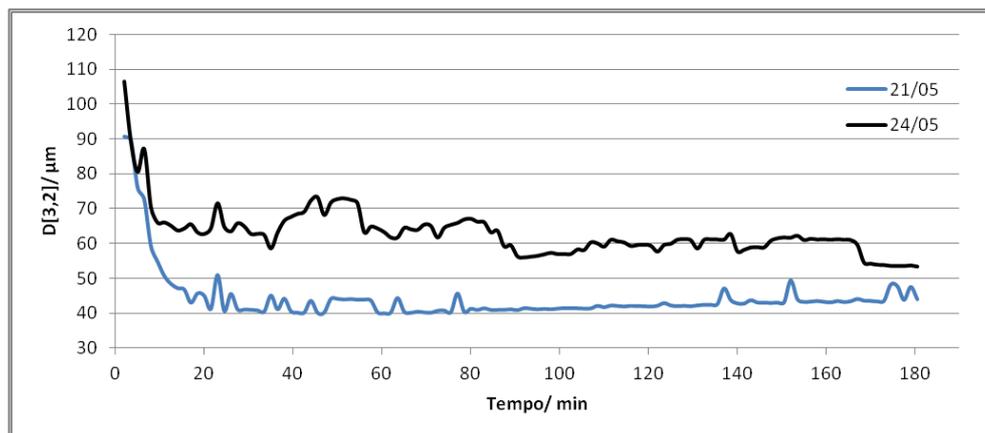


Figura 47. Evolução temporal do valor de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05 (curva azul) e no ensaio 24/05 (curva a preto).

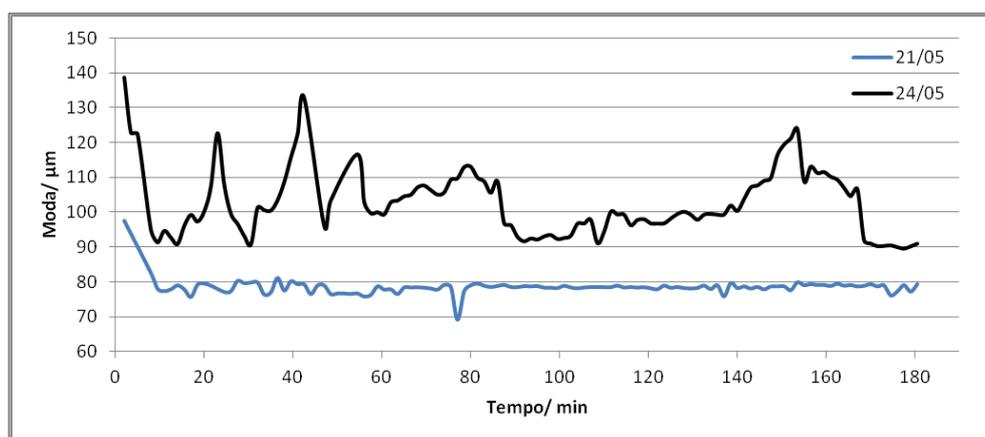


Figura 48. Evolução temporal do valor da moda  $m_1$  das partículas produzidas a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05 (curva azul) e no ensaio 24/05 (curva a preto).

Como já mencionado, o ensaio 21/05 apresenta um comportamento de acordo com o esperado. A influência do pico nas regiões milimétricas é atenuado pela restrição do domínio de partículas até 200  $\mu\text{m}$ . Contudo, uma vez que, em certos instantes, os dois picos se encontram bastante sobrepostos, não foi possível isolar o pico mais à esquerda no gráfico. O diâmetro de Sauter do ensaio 24/05 foi bastante influenciado pela presença do pico perto de 1 mm. Entre os 20 e os 90 minutos,  $D_{3,2}$  exibe um comportamento bastante inconstante. De forma geral, este parâmetro não apresentou concordância entre ensaios.

A moda  $m_1$  do ensaio 21/05, tal como o diâmetro médio, apresenta uma redução inicial acentuada, seguida de um período de alteração lenta. Por outro lado, no ensaio 24/05, o valor da moda  $m_1$  não apresenta, de novo, o tipo de evolução esperada, oscilando entre os 90 e os 140  $\mu\text{m}$  durante todo o processo.

Concluindo, a formulação em questão produziu as encapsulações com menor concordância entre ensaios. O lote 24/05 apresenta um comportamento anômalo que, provavelmente, se deveu à acumulação de material ou bolhas na célula do equipamento.

Devido às significativas diferenças verificadas entre ensaios, é difícil realizar uma comparação entre os dois. Associado a isso, também não será possível averiguar sobre a influência da eliminação de solvente na evolução temporal de tamanhos.

Pode-se, no entanto, referir que as medições realizadas no refratômetro, ilustradas na Figura 49 e 50, indicam que a velocidade de remoção de solvente diminuiu com o aumento da quantidade de surfatante. De facto, a maior estabilidade causada pela maior quantidade de *Tween 80* poderá dificultar a transferência de Diclorometano para a fase aquosa. A velocidade de evaporação de *DCM* aparenta ser ligeiramente superior no ensaio 24/05.

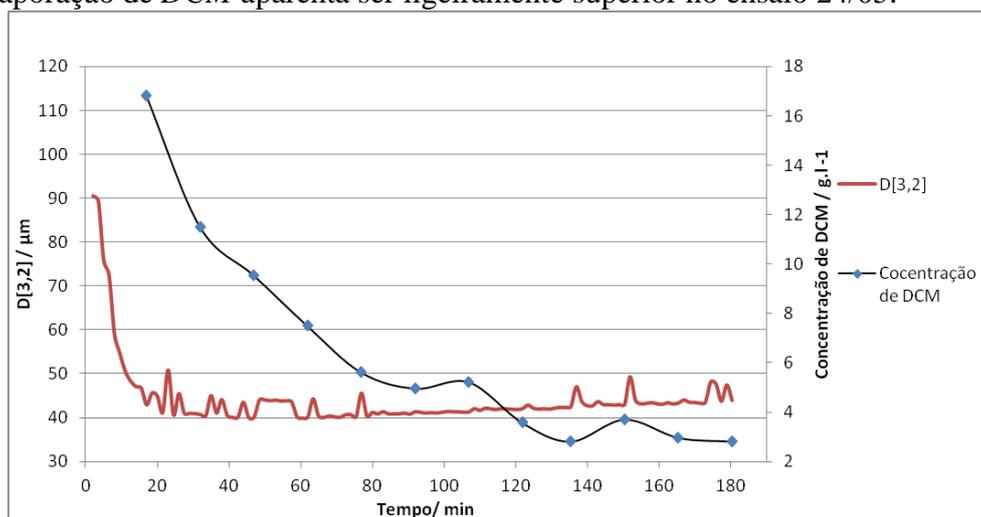


Figura 49. Influência da eliminação de *DCM* na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação *Tween+* no ensaio 21/05.

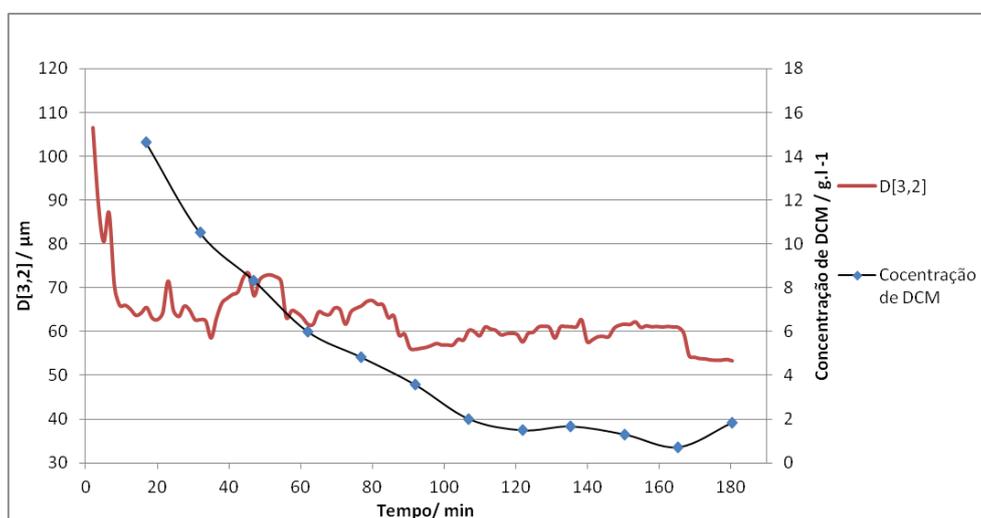


Figura 50. Influência da eliminação de *DCM* na evolução temporal de  $D_{3,2}$  das partículas produzidas a partir da formulação *Tween+* no ensaio 24/05.

A Figura 51 apresenta uma comparação entre as distribuições finais obtidas nos dois ensaios. Os vários parâmetros obtidos destas medições encontram-se apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Tamanhos médios obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação Tween+, após se restringir os diâmetros a  $d=[0; 200]$   $\mu\text{m}$ .

<i>Ensaio</i>	<i>Tamanhos médios finais</i>	
	<i>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></i>	<i><math>D_{3,2}/ \mu\text{m}</math></i>
21/05	79,13	43,95
24/05	91,26	53,77

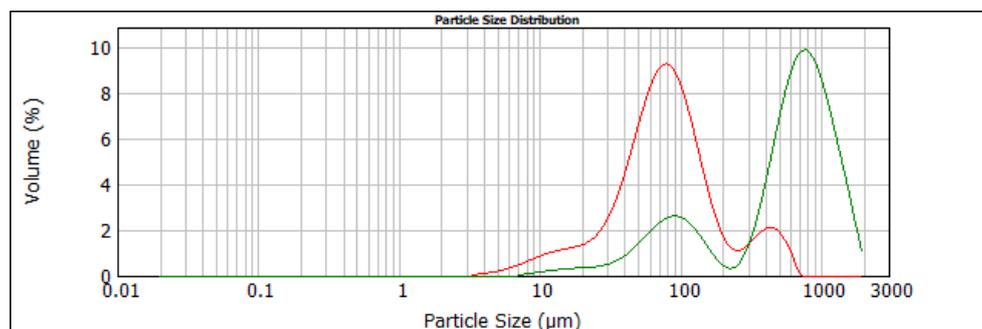


Figura 51. Distribuições obtidas na última medição da monitorização da encapsulação realizada a partir da formulação Tween+ no ensaio 21/05 (curva vermelha) e no ensaio 24/05 (curva verde).

Como referido anteriormente, a Figuras 47 e a Tabela 18 comprovam que a formulação Tween+ produziu ensaios pouco concordantes. Até o valor da moda  $m_1$  apresenta o maior desvio entre ensaios quando comparado com as outras formulações.

### Efeito da concentração de surfatante

A Tabela 16 apresenta os resultados dos ensaios realizados com 0,5% (v/v) de Tween 80, juntamente com os obtidos com a formulação base. Para uma comparação direta destas formulações, os resultados da formulação base também foram truncados até 200  $\mu\text{m}$ .

Tabela 16. Resultados obtidos nas encapsulações realizadas com a formulação Tween+.

<i>Formulação</i>	<i>Ensaio</i>	<i>Rendimento global/ %</i>	<i>Tamanhos médios finais</i>	
			<i>Moda/ <math>\mu\text{m}</math></i>	<i><math>D_{3,2}/ \mu\text{m}</math></i>
Base	07/05	35	63,85	30,54
	09/05	33	65,18	34,63
Tween+	21/05	48	79,13	43,95
	24/05	42	91,26	53,77

O rendimento global sofreu um aumento com o aumento da concentração de surfatante. A maior estabilidade causada pela maior quantidade de Tween 80 pode ser a justificação para a menor transferência de polímero e fármaco para a fase aquosa.

O aumento de Tween 80 deveria diminuir a tensão interfacial entre fases e, consequentemente, diminuir o tamanho das partículas. Contudo, e ao contrário do que seria esperado, a maior quantidade de surfatante produziu partículas com maiores diâmetros. Este

comportamento pode encontrar explicação no facto da concentração micelar crítica ter sido ultrapassada com este aumento de *Tween 80*. Assim, a adição do mesmo não provocará a diminuição da tensão superficial, e o aumento do diâmetro poderá dever-se a um aumento da viscosidade da emulsão que resulta na redução da tensão de corte mistura.

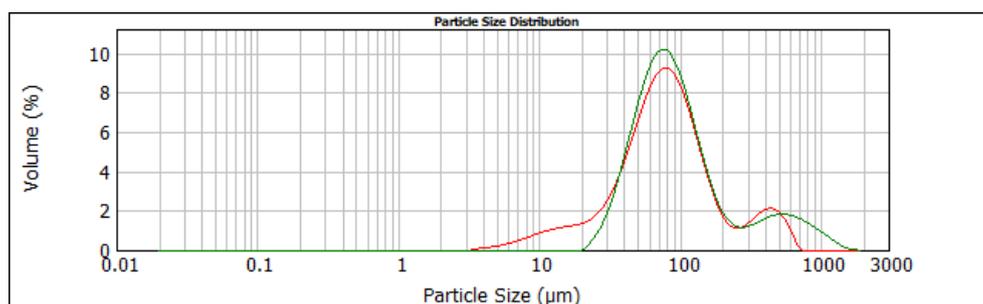
### **Análise das partículas peneiradas por LDS**

Uma vez que 75,96% das partículas do ensaio 24/05 são peneiradas, suporta a hipótese do pico mais elevado da curva verde da Figura 51 não se dever a fenómenos de agregação, mas à acumulação de material na janela de medição.

O produto obtido com a formulação *Tween+* é avaliado através de uma análise convencional das partículas por difração *laser*. A Tabela 17 expõe alguns dos parâmetros que permitem comparar os dois tipos de análises. Esta comparação pode ser realizada graficamente através dos gráficos da Figura 52.

**Tabela 17. Resultados obtidos por difração *laser* na análise das partículas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação *Tween+* no lote 21/05.**

<i>Distribuição</i>	<i>Moda/ μm</i>	<i>D<sub>3,2</sub>/ μm</i>
Última distribuição da monitorização <i>online</i>	79,13	43,95
Após secagem e peneiração	76,39	67,90



**Figura 52. Distribuições relativas ao final da monitorização *online* (curva vermelha) e à análise das partículas obtidas após secagem e peneiração produzidas a partir da formulação *Tween+* (curva verde) no lote 21/05.**

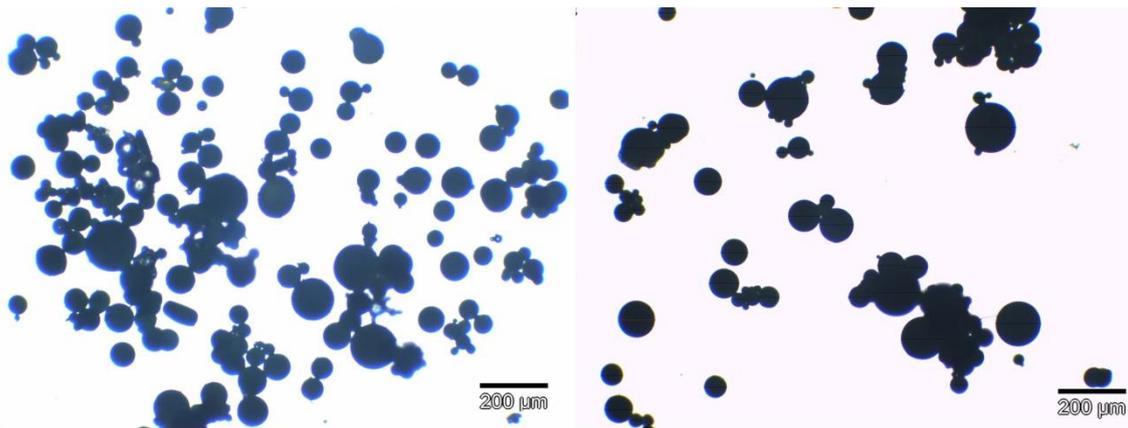
Verificou-se de novo que a monitorização *online* produziu uma distribuição que se estende para regiões mais à esquerda do gráfico, para além da sua cauda à direita ser inferior à obtida na análise das partículas finais. Este fenómeno poderá indiciar que ocorre alguma aglomeração aquando da secagem. Devido a isso, o tamanho médio da monitorização é inferior ao obtido na análise às partículas secas.

Por outro lado, o valor da moda é bastante concordante, como também é visualmente perceptível na Figura 52.

### **Análise das partículas peneiradas no microscópio ótico**

As imagens recolhidas por microscopia ótica das partículas produzidas com a formulação *Tween+* estão apresentada na Figura 49. O aumento de surfatante produziu partículas esféricas de diâmetro superior às produzidas a partir da formulação base. Com isto,

pode-se afirmar que, independentemente da formulação utilizada, a microencapsulação produziu sempre partículas não colapsadas com formato esférico. O diâmetro médio de *Feret* calculado por esta técnica de imagem, 71,98  $\mu\text{m}$ , foi bastante próximo dos valores da moda obtidos no final da monitorização, 79,13  $\mu\text{m}$ , e depois da secagem e peneiração, 76,39  $\mu\text{m}$ , obtidos por *LDS*. Este valor médio de diâmetro de *Feret* para o ensaio *Tween+* é um pouco superior ao da formulação base. Contudo, estes valores para a formulação com 0,5% (v/v) de surfatante devem ser encarados com algum cuidado devido ao número reduzido de partículas na imagem (Figura 53).



**Figura 53.** Comparação das imagens das partículas produzidas a partir da formulação base (à esquerda) e a partir da formulação *Tween+* (à esquerda) obtida por microscopia ótica.



## 5. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros

O presente trabalho permitiu concluir que é possível monitorizar um processo de encapsulação por evaporação de solvente pela técnica de difração *laser*. A maioria dos ensaios revelou uma diminuição contínua do tamanho da fase dispersa ao longo do tempo. Esta diminuição de diâmetros é bastante acentuada na fase inicial, verificando-se, posteriormente, um período em que a redução de tamanhos é muito lenta. Este comportamento está de acordo com o esperado visto que, numa fase inicial, as gotículas perdem o seu solvente rapidamente, até que a extração de Diclorometano sature a fase aquosa. Por outro lado, este tipo de evolução também pode indicar que existe a formação de uma cápsula num período inicial, através da qual se passa a realizar a extração de solvente para a fase aquosa, sem alteração de diâmetro. Este fenómeno é também sustentado pelo acompanhamento da concentração de solvente na emulsão. O facto da remoção do Diclorometano ocorrer de forma mais lenta que a evolução de tamanhos de partículas, ou seja, a eliminação de solvente não estar intimamente ligada à redução de tamanhos da fase dispersa, indica, de novo, que existe a formação de uma cápsula no período inicial.

Excetuando a formulação *Tween+*, as réplicas revelaram-se, de forma geral, bastante concordantes. Apesar de, por vezes, os diâmetros médios apresentarem diferenças relativas mais elevadas, os valores da moda foram sempre muito semelhantes.

O valor da moda das partículas peneiradas obtido por difração *laser* revelou elevada concordância com o valor do mesmo parâmetro obtido no final da monitorização. Os tamanhos médios, por outro lado, apresentam maiores desvios. Este fenómeno deve-se ao facto dos gráficos adquiridos na monitorização *online* apresentarem formatos bastante variáveis, tanto em regiões à direita como à esquerda do pico principal.

A microscopia ótica foi utilizada não como termo de comparação da difração *laser*, uma vez que se baseia noutro princípio de medição, mas antes para visualizar as partículas obtidas. Apesar da microscopia ótica não permitir atingir a representatividade do *LDS*, permite a visualização direta do produto. Através do tratamento das imagens obtidas, verificou-se que todas as formulações produziram partículas esféricas não colapsadas e sem existência de estruturas fibrosas. A tendência observada nos valores de diâmetros médios obtidos concorda com as tendências detetadas pela utilização de *LDS*.

Apesar do sucesso com que se aplicou a difração *laser* à monitorização da encapsulação, a técnica apresenta diversas limitações. Desde logo, é bastante limitada a nível de concentração. Quando se utilizou a formulação  $\phi+$ , os níveis de obscuração atingiram os 40% no início do processo. Apesar de ser um valor admitido pela técnica, o fabricante aconselha a utilização de obscurações até 20% e, a partir dos 50%, a concentração já é demasiado elevada para assegurar a fiabilidade da medição. Contudo, estudos anteriores (Rasteiro et al. (2008)) provaram que mesmo com obscurações de 70% ainda é possível obter resultados com significado. Mesmo assim, é possível concluir que não se poderão analisar emulsões muito mais concentradas. Associado a isto, a quantidade de partículas produzidas por unidade de volume de emulsão também será reduzida.

Outro problema verificado na utilização da técnica neste tipo de processo, está relacionado com a precipitação do polímero. A Etilcelulose é um composto que precipita muito facilmente. Quando ocorre no copo da emulsão ou no sistema de tubagem, este fenómeno implica "apenas" a redução do rendimento da encapsulação. Contudo, quando existe acumulação de matéria na célula do equipamento, poderá existir uma adulteração de resultados.

Este tipo de problemas já fora identificado em artigos em que a difração *laser* é aplicada na monitorização *online* de sistemas dispersos. Em Jager et al. (1992) a limitação de concentração foi contornada através da utilização de um sistema de diluição, enquanto em Harvill et al. (1995) se utilizou um método de limpeza da janela que permite que a técnica seja aplicada por um extenso período de tempo.

Finalmente, a utilização de diferentes formulações permitiu aferir sobre a influência de certas variáveis no processo. O aumento da fração volumétrica da fase dispersa conduziu a um aumento do diâmetro das partículas produzidas, fenómeno atribuído ao aumento dos fenómenos de coalescência e ao aumento da viscosidade da emulsão. Além disso, verificou-se um aumento no rendimento do processo, provavelmente, devido ao facto da menor quantidade relativa de fase contínua diminuir a transferência de polímero e fármaco para o exterior da gotículas.

A velocidade de agitação, como seria expectável, provoca uma diminuição no tamanho de partículas devido ao aumento das forças de cisalhamento. Uma vez que os rendimentos globais foram bastante distintos nos dois ensaios, não foi possível concluir sobre a influência da velocidade de agitação no rendimento global.

O aumento da concentração de surfatante provocou, contrariamente ao que seria esperado, um aumento do diâmetro das partículas finais. Este comportamento pode ser explicado pela possibilidade de se ter ultrapassado a concentração micelar crítica, razão pela qual não se diminui a tensão superficial das interfaces com a adição de *Tween 80* à emulsão. O acréscimo na quantidade de surfatante provoca um aumento da viscosidade da emulsão, o que conduz à redução das forças de cisalhamento e, conseqüentemente, ao aumento do diâmetro das partículas. O aumento na estabilidade da emulsão permite aumentar o rendimento global do processo.

Como conclusão genérica final, é legítimo afirmar, com base nos estudos preliminares realizados, que a técnica de *LDS* se posiciona como uma técnica de grande potencial para perceber a influência de vários parâmetros operatórios no processo de microencapsulação por evaporação de solvente.

Nesta fase final do trabalho, tendo-se discutido as vantagens e limitações da aplicação da difração *laser* na encapsulação por evaporação de solvente, é pertinente sugerir algumas alterações e melhoramentos ao sistema desenvolvido. As primeiras sugestões relacionam-se com a acumulação de sólidos nas diversas superfícies do sistema. Este fenómeno, como referido anteriormente, é mais crítico quando ocorre na janela do *Mastersizer*. Na secção 4.1,

verificou-se que a acumulação excessiva se deveu à utilização de um caudal de circulação demasiado baixo. Deste modo, será pertinente estudar o efeito do caudal na qualidade da distribuição adquirida e, assim, utilizar um caudal ótimo para a aplicação de *LDS* a processos de monitorização de encapsulação por evaporação de solvente.

Associado a isto, outro melhoramento relacionado com a diminuição da acumulação de matéria seria a aplicação de películas anti-aderentes na janela do equipamento. Finalmente, e de forma semelhante ao realizado em Havrill et al. (1995), a aplicação de um sistema de lavagem da janela de apresentação da amostra do *Mastersizer* também asseguraria que a medição poderia ser realizada sem acumulação de material e por um período extenso de tempo. Contudo, trata-se de uma alteração com alguma complexidade.

É notório, no final da encapsulação, que existe formação de uma película de Etilcelulose nas paredes internas do sistema de tubagem, fenómeno que diminui o rendimento da encapsulação. Assim, seria interessante averiguar se, através da utilização de tubos de outro tipo de material, é possível reduzir esta deposição e, conseqüentemente, aumentar os rendimentos obtidos.

Uma vez que o presente estudo se focou na aplicação de *LDS* à encapsulação por evaporação de solvente, não se realizaram alguns procedimentos *standard* deste tipo de processo que têm como objetivo avaliar o desempenho do produto para fins terapêuticos. Em estudos futuros, seria pertinente avaliar a concentração de fármaco nas microcápsulas (por espectroscopia *UV-Vis*, por exemplo), de forma a se poder calcular as eficiências de encapsulação dos processos. Outro parâmetro importante, e que merece uma análise futura, é a velocidade de libertação do fármaco. Por fim, a análise no microscópio eletrónico de varrimento (*SEM*) permitiria analisar a morfologia interna e externa das partículas, podendo-se correlacionar estas características com as condições das diferentes formulações.

## **6. Bibliografia**

- Aloys, H., Sameh, K., Alice, T., Chantal, N., Ali, A., Abed, S. e Ildephonse, H. (2016). Microencapsulation by Complex Coacervation: Methods, Techniques, Benefits, and Applications - A Review. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*, 3(6), 188-192.
- Ansari, T., Farheen, Hasnain, M., Hoda, M. e Nayak, A. (2012). Microencapsulation of pharmaceuticals by solvent evaporation technique: A review. *Elixir International Journal*, 47, 8821-8827.
- Bodmeier, R. e McGinity, J. (1988). Solvent selection in the preparation of poly( DL-lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 43, 179-186.
- Chatzi, E., Boutris, C. e Kiparissides, C. (1991). On-line monitoring of drop size distributions in agitated vessels. 1. Effects of temperature and impeller speed. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 30(3), 536-543.
- Chung, T., Huang, Y. e Liu, Y. (2001). Effects of the rate of solvent evaporation on the characteristics of drug loaded PLLA and PDLLA microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 212(2), 161-169.
- Dash, V., Mishra, S., Singh, M., Goyal, A. e Rath, G. (2010). Release Kinetic Studies of Aspirin Microcapsules from Ethyl Cellulose, Cellulose Acetate Phthalate and their Mixtures by Emulsion Solvent Evaporation Method. *Scientia Pharmaceutica*, 78(1), 93-101.
- Dieter, P., Stefan, D., Günter, E. e Michael, K. (2011). In-line particle sizing for real-time process control by fibre-optical spatial filtering technique (SFT), *Advanced Powder Technology*, 22, 203-208.
- Freitas, S., Merkle, H. e Gander, B. (2005). Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *Journal of Controlled Release*. 102(2), 313-332.
- Gabor, F., Ertel, B., Wirth, M. e Mallinger, R. (1999). Ketoprofen-poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microspheres: influence of manufacturing parameters and type of polymer on the release characteristics. *Journal of Microencapsulation*, 16(1), 1-12.
- Ghosh, S. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. In *Functional Coatings: by Polymer Microencapsulation*. (2006). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Harvill, T., Hoog, J. e Holve, D. (1995) In-Process Particle Size Distribution Measurements and Control. *Particle & Particle Systems Characterization*. 12(6), 309-313.

- Heiskanen, H., Denifl, P., Pitkänen, P. e Hurme, M. (2012). Effect of preparation conditions on the properties of microspheres prepared using an emulsion-solvent extraction process. *Chemical Engineering Research and Design*, 90(10), 1517-1526.
- Herrmann, J. e Bodmeier, R. (1995). The effect of particle microstructure on the somatostatin release from poly(lactide) microspheres prepared by a W/O/W solvent evaporation method. *Journal of Controlled Release*, 36(1-2), 63-71.
- Heuer, M. e Schwechten, D. (1996) In-Line Particle Size Analysis In The Fines Outlet Of An Air Classifier. *Particle & Particle Systems Characterization*. 13(5), 301-308.
- Iwata, M. e McGinity, J. (1991). Preparation of multi-phase microspheres of poly(D,L-lactic acid) and poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) containing a W/O emulsion by a multiple emulsion solvent evaporation technique. *Journal of Microencapsulation*, 9(2), 201-214.
- Izumikawa, S., Yoshioka, S., Aso, Y. e Takeda, Y. (1991). Preparation of poly(l-lactide) microspheres of different crystalline morphology and effect of crystalline morphology on drug release rate. *Journal of Controlled Release*, 15(2), 133-140.
- Jager, J., Kramer, J., Jong, E., Wolf, S., Bosgra, O., Boxman, A., Merkus, H. e Scarlett, B. (1992). Control of industrial crystallizers. *Powder Technology*, 69(1), 11-20.
- Jeffery, H., Davies, S. e O'Hagan, D. (1993). The Preparation and Characterization of Poly(lactide-co-glycolide) Microparticles. II. The Entrapment of a Model Protein Using a (Water-in-Oil)-in-Water Emulsion Solvent Evaporation Technique. *Pharmaceutical Research*, 10(3), 362-368.
- Jyothi, N., Prasanna, P., Sakarkar, S., Prabha, K., Ramaiah, P. and Srawan, G. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187-197.
- Kashif, P., Madni, A., Ashfaq, M., Rehman, M., Mahmood, M., Khan, M. e Tahir, N. (2016). Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1810-1822.
- Khan, I., Ranjha, N. e Mehmood, H. (2010). Development of ethylcellulose-polyethylene glycol and ethylcellulose-polyvinyl pyrrolidone blend oral microspheres of ibuprofen. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 20(6), 439-444.
- Kougoulos, E., Jones, A., Jennings, K. e Wood-Kaczmar, M. (2005). Use of focused beam reflectance measurement (FBRM) and process video imaging (PVI) in a modified mixed

suspension mixed product removal (MSMPR) cooling crystallizer, *Journal of Crystal Growth*, 273, 529-534.

Li, M., Poncelet, D. e Rouaud, O. (2007). Microencapsulation by Solvent Evaporation. *XVth International Workshop on Bioencapsulation*, 1-4, Viena, Áustria.

Li, M., Rouaud, O. e Poncelet, D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1-2), 26-39.

Lima, L. (2016). *Monitorização da formação de micropartículas poliméricas para encapsulamento de princípios activos*. Tese do Mestrado Integrado em Engenharia Química. Universidade de Coimbra.

Ma, Z., Merkus, H., Smet, J., Heffels, C. e Scarlett, B. (2000). New developments in particle characterization by laser diffraction: size and shape. *Powder Technology*, 111(1-2), 66-78.

Ma, Z., Merkus, H., van der Veen, H., Wong, M. e Scarlett, B. (2001). On-line Measurement of Particle Size and Shape using Laser Diffraction. *Particle & Particle Systems Characterization*, 18(5-6), 243-247.

Maa, Y. e Hsu, C. (1996). Microencapsulation reactor scale-up by dimensional analysis. *Journal of Microencapsulation*, 13(1), 53-66.

Matsumoto, A., Kitazawa, T., Murata, J., Horikiri, Y. e Yamahara, H. (2008). A novel preparation method for PLGA microspheres using non-halogenated solvents. *Journal of Controlled Release*, 129(3), 223-227.

McClements, D. J. (1996). Principles of Ultrasonic Droplet Size Determination in Emulsions. *Langmuir*, 12(4), 3454-3461.

Medendorp, J., Bric, J., Connelly, G., Tolton, K. e Warman, M. (2015). Development and beyond: Strategy for long-term maintenance of an online laser diffraction particle size method in a spray drying manufacturing process. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 112, 79-84.

Muhaimin (2013) Study of Microparticle preparation by the solvent evaporation method using Focused Beam Reflectance Measurement (FBRM). Dissertação de Mestrado. Universität Berlin.

Myers, D. *Surfactant science and technology*. 3rd ed. (2006). Hoboken, N.J: Wiley-Interscience.

Nepal, P., Chun, M. e Choi, H. (2007). Preparation of floating microspheres for fish farming. *International Journal of Pharmaceutics*, 341(1-2), 85-90.

- Oliveira, A. (2010) Caracterização da Distribuição do Tamanho de Gotas em Emulsões Água e Óleo Utilizando Diferentes Técnicas de Medição. Universidade Federal de Itajubá.
- Parikh, R., Parikh, J., Dubey, R., Soni, H. and Kapadia, K. (2003). Poly(D,L-Lactide-Co-Glycolide) microspheres containing 5-fluorouracil: Optimization of process parameters. *AAPS PharmSciTech*, 4(2), 14-21.
- Poncelet, D.- Microencapsulation: Fundamentals, methods and applications. In Blitz, J. P. e Gun'ko, V. M. - Surface chemistry in biomedical and environmental science. (2006) Dordrecht: Springer.
- Rasteiro, M. G., Garcia, F. A. P. e Del Mar Pérez, M. (2007). Applying LDS to Monitor Flocculation in Papermaking. *Particulate Science and Technology*. 25(3), 303-308.
- Rasteiro, M.G., Garcia, F. A. P., Blanco, A., Negro, C. e Antunes E. (2008). The use of LDS as a tool to evaluate flocculation mechanisms. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 47(8), 1323-1332.
- Rodrigues, M. (2012). *Monitorização da cinética de formação de microcápsulas usando uma técnica de dispersão de luz*. Tese do Mestrado em Química Farmacêutica Industrial. Universidade de Coimbra.
- Servat, L., Spindola, H., Rodrigues, R. e Foglio, M. (2010). Microencapsulation: a Promising Alternative for Preserving Natural Products. *Revista Fitos*, 5(2), 52-57.
- Shukla, A., Prakash, A. e Rohani, Sohrab. (2018). Ultrasonic Based Process Monitoring Using Advanced Data Processing and Analysis.
- Silva, C., Ribeiro, A., Ferreira, D. e Veiga, F. (2003). Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(1), 1-20.
- Silva, A., Burggraeve, A., Denon, Q., Van der Meeren, P., Sandler, N., Van den Kerkhof, T., Helling, M., Vervaet, C., Remon, J., Lopes, J. e De Beer, T. (2013). Particle sizing measurements in pharmaceutical applications: Comparison of in-process methods versus off-line methods. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 85(3), 1006-1018.
- Silva, P., Fries, L., Menezes, C., Holkem, A., Schwan, C., Wigmann, É., Bastos, J. e Silva, C. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44(7), 1304-1311.
- Singh, C., Purohit, S., Pandey, B. e Singh, M. (2014). Solvent Evaporation Technique of Microencapsulation: A Systemic Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 4(3), 96-104.

- Thakare, M., Israel, B., Garner, S., Ahmed, H., Elder, D. e Capomacchia, A. (2016). Nonionic surfactant structure on the drug release, formulation and physical properties of ethylcellulose microspheres. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22(3), 418-425.
- Tiwari, S. e Verma, P. (2011). Microencapsulation technique by solvent evaporation method (Study of effect of process variables. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2(8), 998-1005.
- Valot, P., Baba, M., Nedelec, J. e Sintes-Zydowicz, N. (2009). Effects of process parameters on the properties of biocompatible Ibuprofen-loaded microcapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, 369(1-2), 53-63.
- Vay, K., Frieß, W., e Scheler, S. (2012). Understanding reflection behavior as a key for interpreting complex signals in FBRM monitoring of microparticle preparation processes. *International Journal of Pharmaceutics*. 437(1-2), 1-10.
- Venkatesan, P., Manavalan, R. e Valliappan, K. (2009). Microencapsulation: A Vital Technique in Novel Drug Delivery System. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4, 26-35.
- Yang, C., Tsay, S. e Tsiang, R. (2000). An enhanced process for encapsulating aspirin in ethyl cellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion. *Journal of Microencapsulation*, 17(3), 269-277.
- Yang, Y., Chia, H. e Chung, T. (2000). Effect of preparation temperature on the characteristics and release profiles of PLGA microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Journal of Controlled Release*, 69(1), 81-96.
- Zafar, N., Agusti, G., Fessi, H. e Elaissari, A. (2016). Elaboration of sponge-like biodegradable cationic particles via double-emulsion solvent evaporation. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38(4), 577-583.
- Zhu, Y., Zhang, G., Yang, H. e Hong, X. (2005). Influence of surfactants on the parameters of polylactide nanocapsules containing insulin. *Journal of Surfactants and Detergents*, 8(4), 353-358.
- Zidan, A. S., Sammour, O. A., Hammad, M. A., Megrab, N. A., Habib, M. J. e Khan, M. A. (2008). Process analytical technology: Non-destructive assessment of anastrozole entrapment within PLGA microparticles by near infrared spectroscopy and chemical imaging. *Journal of Microencapsulation*. 25(3), 145-153.

Zidan, A. S., Rahman, Z. e 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), 254-262.

## **Anexo I**

As curvas de calibração do índice de refração em função da concentração de Diclorometano construídas para uma concentração de 0,3, 0,5 e 1%(v/v) de Tween 80 encontram-se apresentadas nas Figuras I. 1, I. 2 e I. 3, respetivamente. Cada gráfico está acompanhado pela respetiva equação. Estão também representados os valores médios de índice de refração assim como o desvio padrão dos valores experimentais.

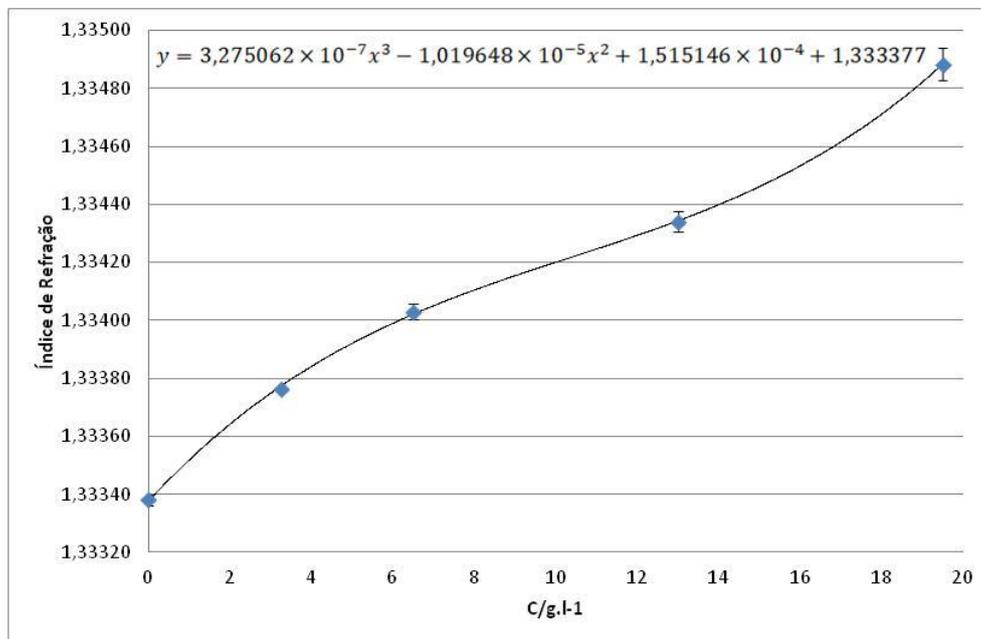


Figura I. 1. Curva de calibração do índice de refração em função da concentração de DCM para uma concentração de surfatante de 0,3% (v/v).

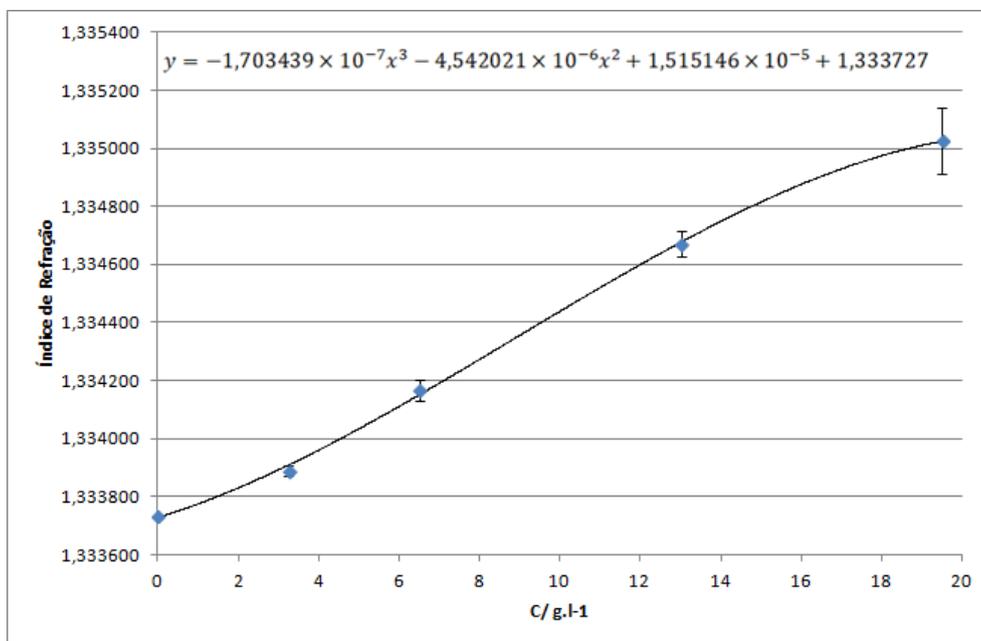


Figura I. 2. Curva de calibração do índice de refração em função da concentração de DCM para uma concentração de surfatante de 0,5% (v/v).

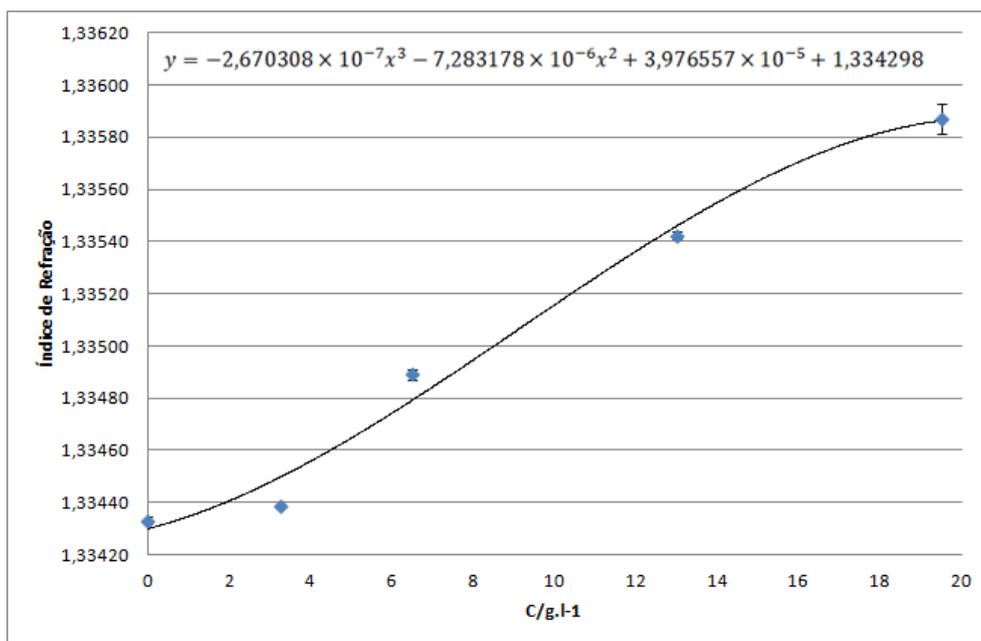
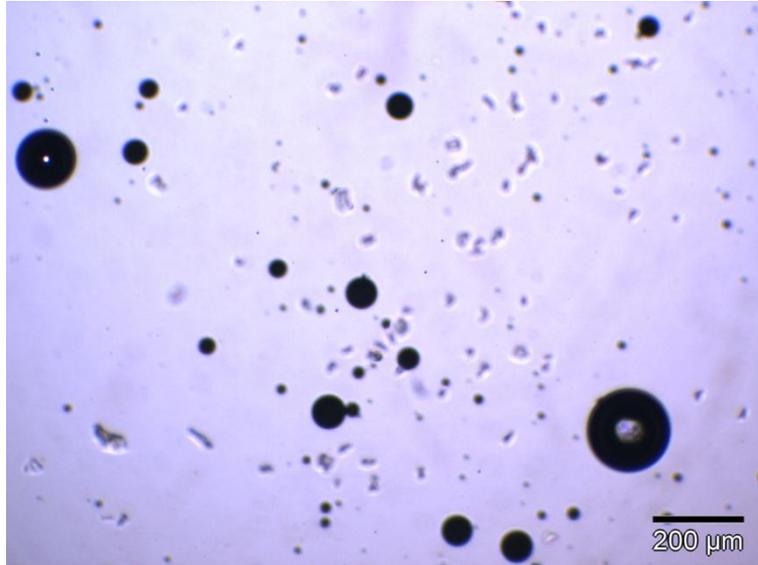


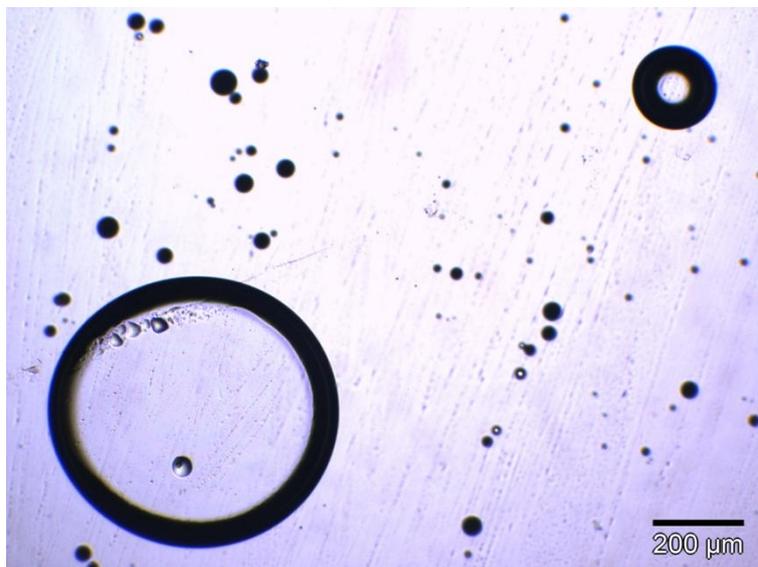
Figura I. 3. Curva de calibração do índice de refração em função da concentração de DCM para uma concentração de surfatante de 1% (v/v).

## Anexo II

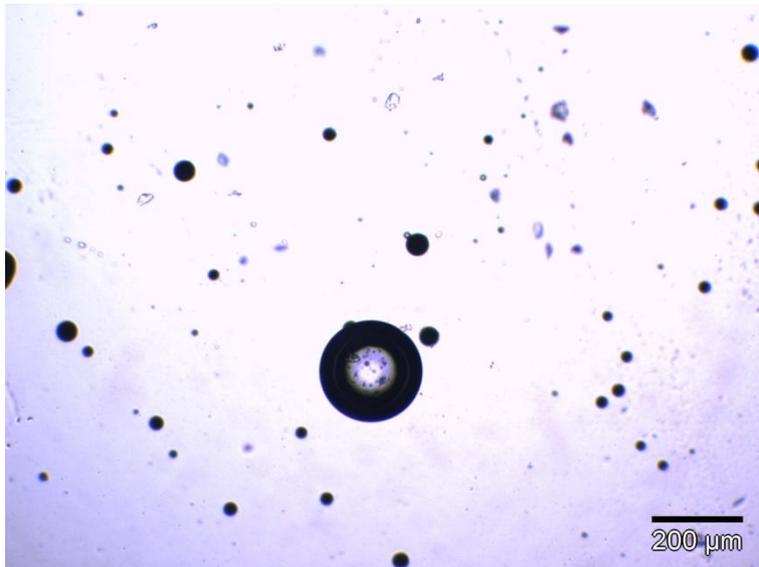
As imagens obtidas por microscopia ótica, para vários instantes da monitorização *online*, encontram-se apresentados desde a Figura II.1 até à Figura II.7.



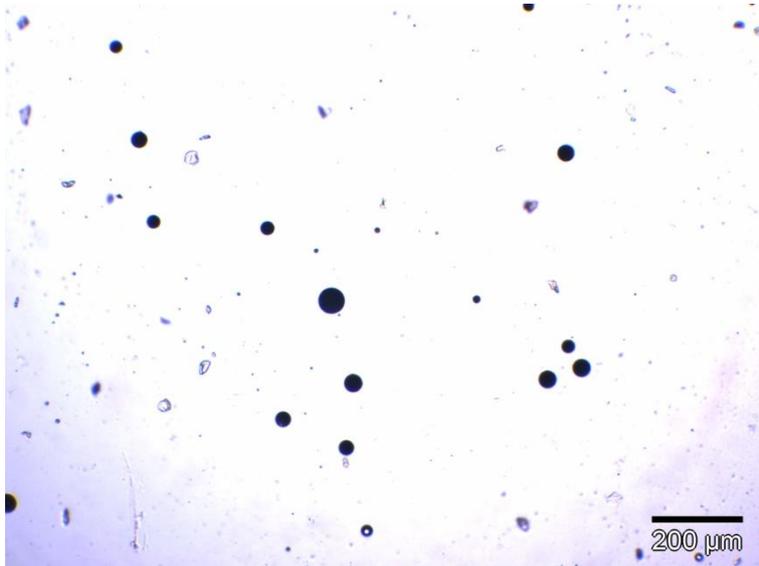
**Figura II. 1.** Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 6,5 do processo de microencapsulação.



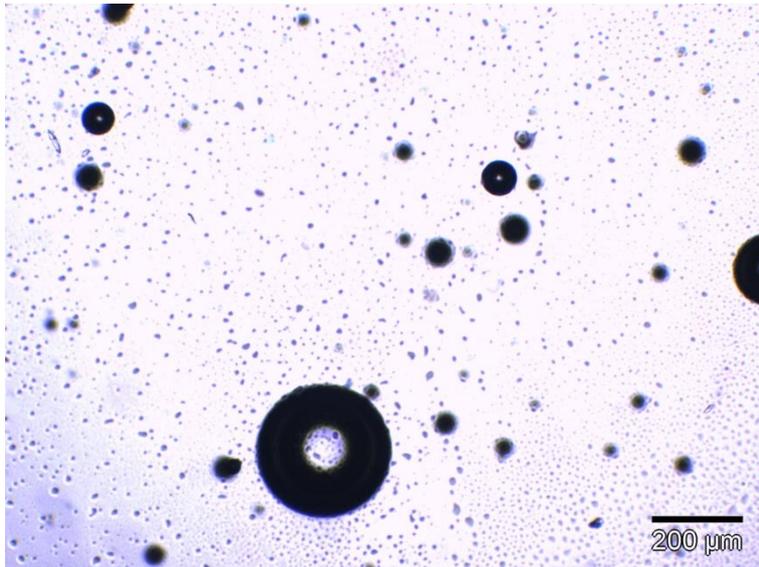
**Figura II. 2.** Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 24,5 do processo de microencapsulação.



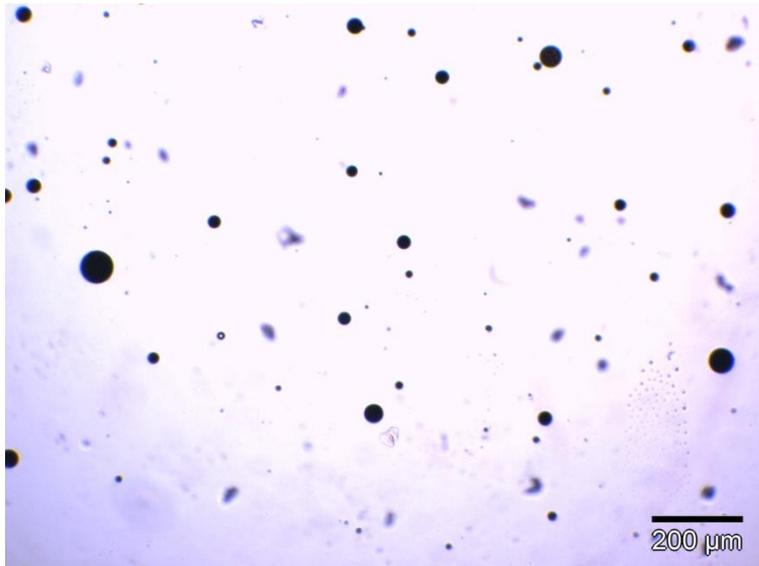
**Figura II. 4. Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 47 do processo de microencapsulação.**



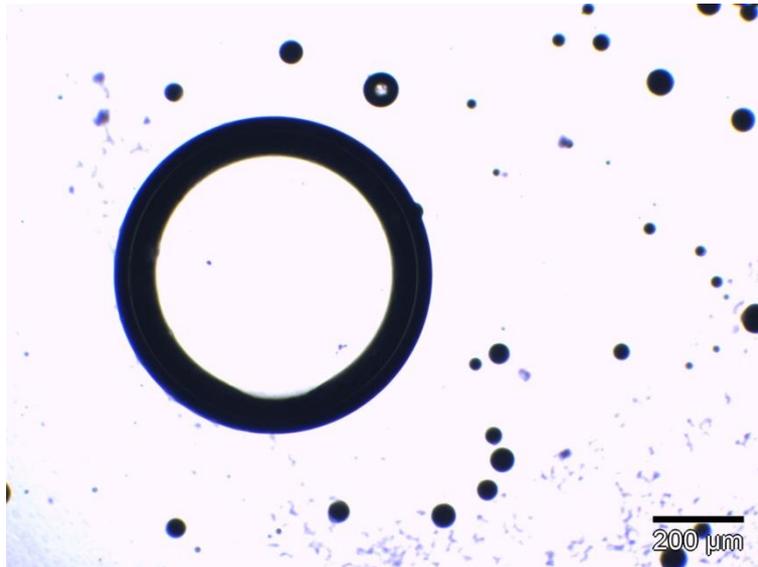
**Figura II. 3. Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 62 do processo de microencapsulação.**



**Figura II. 6.** Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 77 do processo de microencapsulação.



**Figura II. 5.** Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 107 do processo de microencapsulação.



**Figura II. 7. Imagens obtidas por microscopia ótica ao minuto 170 do processo de microencapsulação.**



Health	2
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	H

## Material Safety Data Sheet Methylene chloride MSDS

### Section 1: Chemical Product and Company Identification

<p><b>Product Name:</b> Methylene chloride</p> <p><b>Catalog Codes:</b> SLM2398, SLM3772, SLM1297, SLM2677, SLM4054</p> <p><b>CAS#:</b> 75-09-2</p> <p><b>RTECS:</b> PA8050000</p> <p><b>TSCA:</b> TSCA 8(b) inventory: Methylene chloride</p> <p><b>CI#:</b> Not available.</p> <p><b>Synonym:</b> Dichloromethane</p> <p><b>Chemical Name:</b> Methylene Chloride</p> <p><b>Chemical Formula:</b> C-H<sub>2</sub>-Cl<sub>2</sub></p>	<p><b>Contact Information:</b></p> <p><b>Sciencelab.com, Inc.</b> 14025 Smith Rd. Houston, Texas 77396</p> <p><b>US Sales: 1-800-901-7247</b> <b>International Sales: 1-281-441-4400</b></p> <p><b>Order Online:</b> <a href="http://ScienceLab.com">ScienceLab.com</a></p> <p><b>CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call:</b> 1-800-424-9300</p> <p><b>International CHEMTREC, call:</b> 1-703-527-3887</p> <p><b>For non-emergency assistance, call:</b> 1-281-441-4400</p>
--	---

### Section 2: Composition and Information on Ingredients

**Composition:**

Name	CAS #	% by Weight
Methylene chloride	75-09-2	100

**Toxicological Data on Ingredients:** Methylene chloride: ORAL (LD50): Acute: 1600 mg/kg [Rat].

### Section 3: Hazards Identification

**Potential Acute Health Effects:** Very hazardous in case of eye contact (irritant), of ingestion, of inhalation. Hazardous in case of skin contact (irritant, permeator). Inflammation of the eye is characterized by redness, watering, and itching.

**Potential Chronic Health Effects:** CARCINOGENIC EFFECTS: Classified + (Proven.) by OSHA. Classified 2B (Possible for human.) by IARC. MUTAGENIC EFFECTS: Not available. TERATOGENIC EFFECTS: Not available. DEVELOPMENTAL TOXICITY: Not available. The substance is toxic to lungs, the nervous system, liver, mucous membranes, central nervous system (CNS). Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage.

### Section 4: First Aid Measures

**Eye Contact:** Check for and remove any contact lenses. In case of contact, immediately flush eyes with plenty of water for at least 15 minutes. Cold water may be used. Get medical attention immediately.

**Skin Contact:** In case of contact, immediately flush skin with plenty of water. Cover the irritated skin with an emollient. Remove contaminated clothing and shoes. Cold water may be used. Wash clothing before reuse. Thoroughly clean shoes before reuse. Get medical attention.

**Serious Skin Contact:** Wash with a disinfectant soap and cover the contaminated skin with an anti-bacterial cream. Seek immediate medical attention.

**Inhalation:** If inhaled, remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. If breathing is difficult, give oxygen. Get medical attention if symptoms appear.

**Serious Inhalation:** Evacuate the victim to a safe area as soon as possible. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband. If breathing is difficult, administer oxygen. If the victim is not breathing, perform mouth-to-mouth resuscitation. Seek medical attention.

**Ingestion:** Do NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. Never give anything by mouth to an unconscious person. If large quantities of this material are swallowed, call a physician immediately. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.

**Serious Ingestion:** Not available.

### Section 5: Fire and Explosion Data

**Flammability of the Product:** May be combustible at high temperature.

**Auto-ignition Temperature:** 556°C (1032.8°F)

**Flash Points:** Not available.

**Flammable Limits:** LOWER: 12% UPPER: 19%

**Products of Combustion:** These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>), halogenated compounds.

**Fire Hazards in Presence of Various Substances:** Not available.

**Explosion Hazards in Presence of Various Substances:** Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

**Fire Fighting Media and Instructions:** SMALL FIRE: Use DRY chemical powder. LARGE FIRE: Use water spray, fog or foam. Do not use water jet.

**Special Remarks on Fire Hazards:** Not available.

**Special Remarks on Explosion Hazards:** Not available.

### Section 6: Accidental Release Measures

**Small Spill:** Dilute with water and mop up, or absorb with an inert dry material and place in an appropriate waste disposal container.

**Large Spill:** Absorb with an inert material and put the spilled material in an appropriate waste disposal. Be careful that the product is not present at a concentration level above TLV. Check TLV on the MSDS and with local authorities.

### Section 7: Handling and Storage

**Precautions:** Keep locked up. Keep away from heat. Keep away from sources of ignition. Empty containers pose a fire risk, evaporate the residue under a fume hood. Ground all equipment containing material. Do not ingest. Do not breathe gas/fumes/ vapor/spray. In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment. If ingested, seek medical advice immediately and show the container or the label. Avoid contact with skin and eyes.

**Storage:** Keep container tightly closed. Keep container in a cool, well-ventilated area.

### Section 8: Exposure Controls/Personal Protection

**Engineering Controls:** Provide exhaust ventilation or other engineering controls to keep the airborne concentrations of vapors below their respective threshold limit value. Ensure that eyewash stations and safety showers are proximal to the workstation location.

**Personal Protection:** Splash goggles. Lab coat. Vapor respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Gloves.

**Personal Protection in Case of a Large Spill:** Splash goggles. Full suit. Vapor respirator. Boots. Gloves. A self contained breathing apparatus should be used to avoid inhalation of the product. Suggested protective clothing might not be sufficient; consult a specialist BEFORE handling this product.

**Exposure Limits:** TWA: 50 from ACGIH (TLV) [United States] TWA: 174 from ACGIH (TLV) [United States] Consult local authorities for acceptable exposure limits.

### Section 9: Physical and Chemical Properties

**Physical state and appearance:** Liquid.

**Odor:** Not available.

**Taste:** Not available.

**Molecular Weight:** 84.93g/mole

**Color:** Not available.

**pH (1% soln/water):** Not available.

**Boiling Point:** 39.75°C (103.5°F)

**Melting Point:** -96.7°C (-142.1°F)

**Critical Temperature:** Not available.

**Specific Gravity:** 1.3266 (Water = 1)

**Vapor Pressure:** 46.5 kPa (@ 20°C)

**Vapor Density:** 2.93 (Air = 1)

**Volatility:** Not available.

**Odor Threshold:** 214 ppm

**Water/Oil Dist. Coeff.:** The product is equally soluble in oil and water;  $\log(\text{oil/water}) = 0.1$

**Ionicity (in Water):** Not available.

**Dispersion Properties:** See solubility in water, methanol, diethyl ether, n-octanol, acetone.

**Solubility:** Easily soluble in methanol, diethyl ether, n-octanol, acetone. Partially soluble in cold water.

### Section 10: Stability and Reactivity Data

**Stability:** The product is stable.

**Instability Temperature:** Not available.

**Conditions of Instability:** Not available.

**Incompatibility with various substances:** Not available.

**Corrosivity:** Non-corrosive in presence of glass.

**Special Remarks on Reactivity:** Not available.

**Special Remarks on Corrosivity:** Not available.

**Polymerization:** Will not occur.

### Section 11: Toxicological Information

**Routes of Entry:** Absorbed through skin. Dermal contact. Eye contact. Inhalation. Ingestion.

**Toxicity to Animals:** WARNING: THE LC50 VALUES HEREUNDER ARE ESTIMATED ON THE BASIS OF A 4-HOUR EXPOSURE. Acute oral toxicity (LD50): 1600 mg/kg [Rat]. Acute toxicity of the vapor (LC50): 52000 1 hours [Rat].

**Chronic Effects on Humans:** CARCINOGENIC EFFECTS: Classified + (Proven.) by OSHA. Classified 2B (Possible for human.) by IARC. Causes damage to the following organs: lungs, the nervous system, liver, mucous membranes, central nervous system (CNS).

**Other Toxic Effects on Humans:** Very hazardous in case of ingestion, of inhalation. Hazardous in case of skin contact (irritant, permeator).

**Special Remarks on Toxicity to Animals:** Not available.

**Special Remarks on Chronic Effects on Humans:** Human: passes through the placenta, excreted in maternal milk.

**Special Remarks on other Toxic Effects on Humans:** Not available.

### Section 12: Ecological Information

**Ecotoxicity:** Not available.

**BOD5 and COD:** Not available.

**Products of Biodegradation:** Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.

**Toxicity of the Products of Biodegradation:** The products of degradation are more toxic.

**Special Remarks on the Products of Biodegradation:** Not available.

### Section 13: Disposal Considerations

**Waste Disposal:**

### Section 14: Transport Information

**DOT Classification:** CLASS 6.1: Poisonous material.

**Identification:** : Dichloromethane UNNA: 1593 PG: III

**Special Provisions for Transport:** Not available.

### Section 15: Other Regulatory Information

**Federal and State Regulations:** California prop. 65: This product contains the following ingredients for which the State of California has found to cause cancer, birth defects or other reproductive harm, which would require a warning under the statute: Methylene chloride California prop. 65: This product contains the following ingredients for which the State of California has found to cause cancer which would require a warning under the statute: Methylene chloride Pennsylvania

RTK: Methylene chloride Massachusetts RTK: Methylene chloride TSCA 8(b) inventory: Methylene chloride SARA 313 toxic chemical notification and release reporting: Methylene chloride CERCLA: Hazardous substances.: Methylene chloride

**Other Regulations:** OSHA: Hazardous by definition of Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

**Other Classifications:**

**WHMIS (Canada):** CLASS D-1B: Material causing immediate and serious toxic effects (TOXIC). CLASS D-2A: Material causing other toxic effects (VERY TOXIC).

**DSCL (EEC):** R22- Harmful if swallowed. R38- Irritating to skin. R41- Risk of serious damage to eyes. R45- May cause cancer.

**HMIS (U.S.A.):**

Health Hazard: 2

Fire Hazard: 1

Reactivity: 0

Personal Protection: h

**National Fire Protection Association (U.S.A.):**

Health: 2

Flammability: 1

Reactivity: 0

Specific hazard:

**Protective Equipment:** Gloves. Lab coat. Vapor respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Wear appropriate respirator when ventilation is inadequate. Splash goggles.

## Section 16: Other Information

**References:** Not available.

**Other Special Considerations:** Not available.

**Created:** 10/10/2005 10:43 AM

**Last Updated:** 05/21/2013 12:00 PM

*The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.*



Health	2
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	E

## Material Safety Data Sheet Ibuprofen MSDS

### Section 1: Chemical Product and Company Identification

**Product Name:** Ibuprofen

**Catalog Codes:** SLI1942

**CAS#:** 15687-27-1

**RTECS:** MU6840000

**TSCA:** TSCA 8(b) inventory: Ibuprofen

**CIF:** Not available.

**Synonym:** 2-(4-isobutylphenyl)propionic acid

**Chemical Name:** Not available.

**Chemical Formula:** C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

**Contact Information:**

ScienceLab.com, Inc.

14025 Smith Rd.

Houston, Texas 77396

US Sales: 1-800-901-7247

International Sales: 1-281-441-4400

Order Online: [ScienceLab.com](http://ScienceLab.com)

**CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call:**

1-800-424-9300

**International CHEMTREC, call:** 1-703-527-3887

**For non-emergency assistance, call:** 1-281-441-4400

### Section 2: Composition and Information on Ingredients

**Composition:**

Name	CAS #	% by Weight
Ibuprofen	15687-27-1	100

**Toxicological Data on Ingredients:** Ibuprofen: ORAL (LD50): Acute: 636 mg/kg [Rat], 740 mg/kg [Mouse], 495 mg/kg [Guinea pig].

### Section 3: Hazards Identification

**Potential Acute Health Effects:**

Very hazardous in case of ingestion, of inhalation. Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant). Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).

**Potential Chronic Health Effects:**

**CARCINOGENIC EFFECTS:** Not available. **MUTAGENIC EFFECTS:** Not available. **TERATOGENIC EFFECTS:** Not available. **DEVELOPMENTAL TOXICITY:** Not available. The substance is toxic to blood, lungs, the nervous system, mucous membranes. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage.

### Section 4: First Aid Measures

**Eye Contact:** Check for and remove any contact lenses. Do not use an eye ointment. Seek medical attention.

**Skin Contact:**

After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Gently and thoroughly wash the contaminated skin with running water and non-abrasive soap. Be particularly careful to clean folds, crevices, creases and groin. Cover the irritated skin with an emollient. If irritation persists, seek medical attention. Wash contaminated clothing before reusing.

**Serious Skin Contact:**

Wash with a disinfectant soap and cover the contaminated skin with an anti-bacterial cream. Seek immediate medical attention.

**Inhalation:** Allow the victim to rest in a well ventilated area. Seek immediate medical attention.

**Serious Inhalation:** Not available.

**Ingestion:**

Do not induce vomiting. Examine the lips and mouth to ascertain whether the tissues are damaged, a possible indication that the toxic material was ingested; the absence of such signs, however, is not conclusive. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband. If the victim is not breathing, perform mouth-to-mouth resuscitation. Seek immediate medical attention.

**Serious Ingestion:** Not available.

### Section 5: Fire and Explosion Data

**Flammability of the Product:** May be combustible at high temperature.

**Auto-ignition Temperature:** Not available.

**Flash Points:** Not available.

**Flammable Limits:** Not available.

**Products of Combustion:** These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>).

**Fire Hazards in Presence of Various Substances:** Not available.

**Explosion Hazards in Presence of Various Substances:**

Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

**Fire Fighting Media and Instructions:**

**SMALL FIRE:** Use DRY chemical powder. **LARGE FIRE:** Use water spray, fog or foam. Do not use water jet.

**Special Remarks on Fire Hazards:** Not available.

**Special Remarks on Explosion Hazards:** Not available.

### Section 6: Accidental Release Measures

**Small Spill:**

Use appropriate tools to put the spilled solid in a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and dispose of according to local and regional authority requirements.

**Large Spill:**

Use a shovel to put the material into a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and allow to evacuate through the sanitary system.

### Section 7: Handling and Storage

**Precautions:**

Keep away from heat. Keep away from sources of ignition. Empty containers pose a fire risk, evaporate the residue under a fume hood. Ground all equipment containing material. Do not ingest. Do not breathe dust. Wear suitable protective clothing in

case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment if ingested, seek medical advice immediately and show the container or the label. Avoid contact with skin and eyes

**Storage:**

Keep container dry. Keep in a cool place. Ground all equipment containing material. Keep container tightly closed. Keep in a cool, well-ventilated place. Combustible materials should be stored away from extreme heat and away from strong oxidizing agents.

### Section 8: Exposure Controls/Personal Protection

**Engineering Controls:**

Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to keep airborne levels below recommended exposure limits. If user operations generate dust, fume or mist, use ventilation to keep exposure to airborne contaminants below the exposure limit.

**Personal Protection:**

Splash goggles. Lab coat. Dust respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Gloves.

**Personal Protection in Case of a Large Spill:**

Splash goggles. Full suit. Dust respirator. Boots. Gloves. A self contained breathing apparatus should be used to avoid inhalation of the product. Suggested protective clothing might not be sufficient, consult a specialist BEFORE handling this product.

**Exposure Limits:** Not available.

### Section 9: Physical and Chemical Properties

**Physical state and appearance:** Solid. (Crystalline solid.)

**Odor:** Slight.

**Taste:** Not available.

**Molecular Weight:** 206.29 g/mole

**Color:** White.

**pH (1% soln/water):** Not applicable.

**Boiling Point:** Not available.

**Melting Point:** 75°C (167°F)

**Critical Temperature:** Not available.

**Specific Gravity:** Not available.

**Vapor Pressure:** Not applicable.

**Vapor Density:** 7.1 (Air = 1)

**Volatility:** Not available.

**Odor Threshold:** Not available.

**Water/Oil Dist. Coeff.:** Not available.

**Ionicity (in Water):** Not available.

**Dispersion Properties:** Not available.

**Solubility:** Insoluble in cold water.

### Section 10: Stability and Reactivity Data

**Stability:** The product is stable.

**Instability Temperature:** Not available.

**Conditions of Instability:** Not available.

**Incompatibility with various substances:** Not available.

**Corrosivity:** Non-corrosive in presence of glass.

**Special Remarks on Reactivity:** Not available.

**Special Remarks on Corrosivity:** Not available.

**Polymerization:** No.

### Section 11: Toxicological Information

**Routes of Entry:** Eye contact. Inhalation. Ingestion.

**Toxicity to Animals:** Acute oral toxicity (LD50): 495 mg/kg [Guinea pig].

**Chronic Effects on Humans:** The substance is toxic to blood, lungs, the nervous system, mucous membranes.

**Other Toxic Effects on Humans:**

Very hazardous in case of ingestion, of inhalation. Hazardous in case of skin contact (irritant). Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).

**Special Remarks on Toxicity to Animals:** Not available.

**Special Remarks on Chronic Effects on Humans:** Not available.

**Special Remarks on other Toxic Effects on Humans:** Nuisance dust.

### Section 12: Ecological Information

**Ecotoxicity:** Not available.

**BOD5 and COD:** Not available.

**Products of Biodegradation:**

Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.

**Toxicity of the Products of Biodegradation:** The products of degradation are more toxic.

**Special Remarks on the Products of Biodegradation:** Not available.

### Section 13: Disposal Considerations

**Waste Disposal:**

### Section 14: Transport Information

**DOT Classification:** Not a DOT controlled material (United States).

**Identification:** Not applicable.

**Special Provisions for Transport:** Not applicable.

### Section 15: Other Regulatory Information

**Federal and State Regulations:** TSCA 8(b) inventory: Ibuprofen

**Other Regulations:** OSHA: Hazardous by definition of Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

**Other Classifications:**

**WHMIS (Canada):**

CLASS D-1B: Material causing immediate and serious toxic effects (TOXIC). CLASS D-2A: Material causing other toxic effects (VERY TOXIC).

**DSCL (EEC):**

R36/38- Irritating to eyes and skin. R48/22- Harmful: danger of serious damage to health by prolonged exposure if swallowed.

**HMIS (U.S.A.):**

Health Hazard: 2

Fire Hazard: 1

Reactivity: 0

Personal Protection: E

**National Fire Protection Association (U.S.A.):**

Health: 2

Flammability: 1

Reactivity: 0

Specific hazard:

**Protective Equipment:**

Gloves. Lab coat. Dust respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Wear appropriate respirator when ventilation is inadequate. Splash goggles.

### Section 16: Other Information

**References:** Not available.

**Other Special Considerations:** Not available.

**Created:** 10/09/2005 05:48 PM

**Last Updated:** 05/21/2013 12:00 PM

*The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.*



Health	2
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	E

## Material Safety Data Sheet

### Ethyl cellulose ether MSDS

#### Section 1: Chemical Product and Company Identification

**Product Name:** Ethyl cellulose ether

**Catalog Codes:** SLE2278

**CAS#:** 9004-57-3

**RTECS:** FJ5950500

**TSCA:** TSCA 8(b) inventory: Ethyl cellulose ether

**CIR:** Not available.

**Synonym:** Methyl cellulose

**Chemical Name:** Not available.

**Chemical Formula:** POLYMER

**Contact Information:**

Sciencelab.com, Inc.

14025 Smith Rd.

Houston, Texas 77396

US Sales: 1-800-991-7247

International Sales: 1-281-441-4400

Order Online: [ScienceLab.com](http://ScienceLab.com)

**CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call:**  
1-800-424-9300

**International CHEMTREC, call:** 1-703-527-3887

**For non-emergency assistance, call:** 1-281-441-4400

#### Section 2: Composition and Information on Ingredients

**Composition:**

Name	CAS #	% by Weight
Ethyl cellulose ether	9004-57-3	100

**Toxicological Data on Ingredients:** Ethyl cellulose ether LD50: Not available. LC50: Not available.

#### Section 3: Hazards Identification

**Potential Acute Health Effects:**

Very hazardous in case of ingestion. Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of inhalation. Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).

**Potential Chronic Health Effects:**

CARCINOGENIC EFFECTS: Not available. MUTAGENIC EFFECTS: Not available. TERATOGENIC EFFECTS: Not available. DEVELOPMENTAL TOXICITY: Not available. The substance is toxic to lungs, mucous membranes. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage.

#### Section 4: First Aid Measures

**Eye Contact:**

Check for and remove any contact lenses. Immediately flush eyes with running water for at least 15 minutes, keeping eyelids open. Cold water may be used. Do not use an eye ointment. Seek medical attention.

**Skin Contact:**

After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Gently and thoroughly wash the contaminated skin with running water and non-abrasive soap. Be particularly careful to clean folds, crevices, creases and groin. Cold water may be used. Cover the irritated skin with an emollient. If irritation persists, seek medical attention. Wash contaminated clothing before reusing.

**Serious Skin Contact:**

Wash with a disinfectant soap and cover the contaminated skin with an anti-bacterial cream. Seek medical attention.

**Inhalation:** Allow the victim to rest in a well ventilated area. Seek immediate medical attention.

**Serious Inhalation:** Not available.

**Ingestion:**

Do not induce vomiting. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband. If the victim is not breathing, perform mouth-to-mouth resuscitation. Seek immediate medical attention.

**Serious Ingestion:** Not available.

**Section 5: Fire and Explosion Data**

**Flammability of the Product:** May be combustible at high temperature.

**Auto-Ignition Temperature:** 370°C (698°F)

**Flash Points:** Not available.

**Flammable Limits:** Not available.

**Products of Combustion:** Not available.

**Fire Hazards in Presence of Various Substances:** Not available.

**Explosion Hazards in Presence of Various Substances:**

Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

**Fire Fighting Media and Instructions:**

**SMALL FIRE:** Use DRY chemical powder. **LARGE FIRE:** Use water spray, fog or foam. Do not use water jet.

**Special Remarks on Fire Hazards:** Not available.

**Special Remarks on Explosion Hazards:** Not available.

**Section 6: Accidental Release Measures****Small Spill:**

Use appropriate tools to put the spilled solid in a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and dispose of according to local and regional authority requirements.

**Large Spill:**

Use a shovel to put the material into a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and allow to evacuate through the sanitary system.

**Section 7: Handling and Storage****Precautions:**

Keep away from heat. Keep away from sources of ignition. Empty containers pose a fire risk, evaporate the residue under a fume hood. Ground all equipment containing material. Do not breathe dust. Wear suitable protective clothing. In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment if you feel unwell, seek medical attention and show the label when possible. Avoid contact with skin and eyes.

**Storage:**

Keep container dry. Keep in a cool place. Ground all equipment containing material. Keep container tightly closed. Keep in a cool, well-ventilated place. Combustible materials should be stored away from extreme heat and away from strong oxidizing agents.

**Section 8: Exposure Controls/Personal Protection****Engineering Controls:**

Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to keep airborne levels below recommended exposure limits. If user operations generate dust, fume or mist, use ventilation to keep exposure to airborne contaminants below the exposure limit.

**Personal Protection:**

Splash goggles. Lab coat. Dust respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Gloves.

**Personal Protection in Case of a Large Spill:**

Splash goggles. Full suit. Dust respirator. Boots. Gloves. A self contained breathing apparatus should be used to avoid inhalation of the product. Suggested protective clothing might not be sufficient, consult a specialist BEFORE handling this product.

**Exposure Limits:** Not available.

**Section 9: Physical and Chemical Properties**

**Physical state and appearance:** Solid.

**Odor:** Not available.

**Taste:** Not available.

**Molecular Weight:** Not available.

**Color:** Not available.

**pH (1% soln/water):** 7 (Neutral)

**Boiling Point:** Decomposes.

**Melting Point:** 240°C (464°F)

**Critical Temperature:** Not available.

**Specific Gravity:** 1.1 (Water = 1)

**Vapor Pressure:** Not applicable.

**Vapor Density:** Not available.

**Volatility:** Not available.

**Odor Threshold:** Not available.

**Water/Oil Dist. Coeff.:** Not available.

**Ionicity (in Water):** Not available.

**Dispersion Properties:** See solubility in water.

**Solubility:** Easily soluble in cold water.

**Section 10: Stability and Reactivity Data**

**Stability:** The product is stable.

**Instability Temperature:** Not available.  
**Conditions of Instability:** Not available.  
**Incompatibility with various substances:** Not available.  
**Corrosivity:** Non-corrosive in presence of glass.  
**Special Remarks on Reactivity:** Not available.  
**Special Remarks on Corrosivity:** Not available.  
**Polymerization:** No.

### Section 11: Toxicological Information

**Routes of Entry:** Eye contact. Inhalation. Ingestion.  
**Toxicity to Animals:**  
LD50: Not available. LC50: Not available.  
**Chronic Effects on Humans:** The substance is toxic to lungs, mucous membranes.  
**Other Toxic Effects on Humans:**  
Very hazardous in case of ingestion. Hazardous in case of skin contact (irritant), of inhalation. Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).  
**Special Remarks on Toxicity to Animals:** Not available.  
**Special Remarks on Chronic Effects on Humans:** Not available.  
**Special Remarks on other Toxic Effects on Humans:** Not available.

### Section 12: Ecological Information

**Ecotoxicity:** Not available.  
**BOD5 and COD:** Not available.  
**Products of Biodegradation:**  
Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.  
**Toxicity of the Products of Biodegradation:** The products of degradation are more toxic.  
**Special Remarks on the Products of Biodegradation:** Not available.

### Section 13: Disposal Considerations

**Waste Disposal:**

### Section 14: Transport Information

**DOT Classification:** Not a DOT controlled material (United States).  
**Identification:** Not applicable.  
**Special Provisions for Transport:** Not applicable.

### Section 15: Other Regulatory Information

**Federal and State Regulations:** TSCA 8(b) inventory: Ethyl cellulose ether

**Other Regulations:** OSHA: Hazardous by definition of Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

**Other Classifications:**

**WHMIS (Canada):** CLASS D-2A: Material causing other toxic effects (VERY TOXIC).

**DSCL (EEC):** R36/38- Irritating to eyes and skin.

**HMIS (U.S.A.):**

Health Hazard: 2

Fire Hazard: 1

Reactivity: 0

Personal Protection: E

**National Fire Protection Association (U.S.A.):**

Health: 2

Flammability: 1

Reactivity: 0

Specific hazard:

**Protective Equipment:**

Gloves. Lab coat. Dust respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Wear appropriate respirator when ventilation is inadequate. Splash goggles.

## Section 16: Other Information

**References:** Not available.

**Other Special Considerations:** When wet, this material will cause slippery conditions on most surfaces.

**Created:** 10/09/2005 05:29 PM

**Last Updated:** 05/21/2013 12:00 PM

*The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.*



Health	1
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	A

## Material Safety Data Sheet POLYSORBATE 80 MSDS

### Section 1: Chemical Product and Company Identification

**Product Name:** POLYSORBATE 80

**Catalog Codes:** SLP4093

**CAS#:** 9005-65-6

**RTECS:** WG2935000

**TSCA:** TSCA 8(b) inventory: POLYSORBATE 80

**CIR:** Not available.

**Synonym:** TWEEN 80; Polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate; Polyethylene oxide sorbitan mono-oleate; Polyoxyethylene sorbitan monooleate; Polyoxyethylene sorbitan oleate; Sorbitan mono-9-octadecenoate poly(oxy-1,2-ethanedyl) derivatives; Sorbitan (20) monooleate

**Chemical Name:** Sorbitan, monooleate polyoxyethylene deriv.

**Chemical Formula:** Not available.

**Contact Information:**

Sciencelab.com, Inc.

14025 Smith Rd.

Houston, Texas 77396

US Sales: 1-800-991-7247

International Sales: 1-281-441-4400

Order Online: [ScienceLab.com](http://ScienceLab.com)

**CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call:**  
1-800-424-9300

**International CHEMTREC, call:** 1-703-527-3887

**For non-emergency assistance, call:** 1-281-441-4400

### Section 2: Composition and Information on Ingredients

**Composition:**

Name	CAS #	% by Weight
POLYSORBATE 80	9005-65-6	100

**Toxicological Data on Ingredients:** Not applicable.

### Section 3: Hazards Identification

**Potential Acute Health Effects:** Slightly hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of ingestion, of inhalation.

**Potential Chronic Health Effects:**

**CARCINOGENIC EFFECTS:** Not available. **MUTAGENIC EFFECTS:** Not available. **TERATOGENIC EFFECTS:** Not available. **DEVELOPMENTAL TOXICITY:** Not available. Repeated or prolonged exposure is not known to aggravate medical condition.

### Section 4: First Aid Measures

**Eye Contact:**

Check for and remove any contact lenses. In case of contact, immediately flush eyes with plenty of water for at least 15 minutes. Cold water may be used. Get medical attention if irritation occurs.

**Skin Contact:**

Wash with soap and water. Cover the irritated skin with an emollient. Get medical attention if irritation develops. Cold water may be used.

**Serious Skin Contact:** Not available.

**Inhalation:**

If inhaled, remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. If breathing is difficult, give oxygen. Get medical attention.

**Serious Inhalation:** Not available.

**Ingestion:**

Do NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. Never give anything by mouth to an unconscious person. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband. Get medical attention if symptoms appear.

**Serious Ingestion:** Not available.

**Section 5: Fire and Explosion Data**

**Flammability of the Product:** May be combustible at high temperature.

**Auto-Ignition Temperature:** Not available.

**Flash Points:** CLOSED CUP: >148.89°C (300°F).

**Flammable Limits:** Not available.

**Products of Combustion:** Not available.

**Fire Hazards in Presence of Various Substances:** Slightly flammable to flammable in presence of heat.

**Explosion Hazards in Presence of Various Substances:**

Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

**Fire Fighting Media and Instructions:**

SMALL FIRE: Use DRY chemical powder. LARGE FIRE: Use water spray, fog or foam. Do not use water jet.

**Special Remarks on Fire Hazards:** Not available.

**Special Remarks on Explosion Hazards:** Not available.

**Section 6: Accidental Release Measures****Small Spill:**

Dilute with water and mop up, or absorb with an inert dry material and place in an appropriate waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and dispose of according to local and regional authority requirements.

**Large Spill:**

Absorb with an inert material and put the spilled material in an appropriate waste disposal. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and allow to evacuate through the sanitary system.

**Section 7: Handling and Storage**

**Precautions:**

Keep away from heat. Keep away from sources of ignition. Empty containers pose a fire risk, evaporate the residue under a fume hood. Ground all equipment containing material. Do not ingest. Do not breathe gas/fumes/ vapor/spray. If ingested, seek medical advice immediately and show the container or the label. Keep away from incompatibles such as oxidizing agents.

**Storage:**

Keep container tightly closed. Keep container in a cool, well-ventilated area. Do not store above 32.2°C (90°F). Preferably store at temperatures between 50 deg F to 90 deg. F.

### Section 8: Exposure Controls/Personal Protection

**Engineering Controls:**

Provide exhaust ventilation or other engineering controls to keep the airborne concentrations of vapors below their respective threshold limit value. Ensure that eyewash stations and safety showers are proximal to the work-station location.

**Personal Protection:** Safety glasses. Lab coat.

**Personal Protection in Case of a Large Spill:**

Splash goggles. Full suit. Boots. Gloves. Suggested protective clothing might not be sufficient; consult a specialist BEFORE handling this product.

**Exposure Limits:** Not available.

### Section 9: Physical and Chemical Properties

**Physical state and appearance:** Liquid. (Oily liquid.)

**Odor:** fatty (Slight.)

**Taste:** Not available.

**Molecular Weight:** Not available.

**Color:** Clear Amber. Yellow.

**pH (1% soln/water):** 7 (Neutral.)

**Boiling Point:** >100°C (212°F)

**Melting Point:** -20.556°C (-5°F)

**Critical Temperature:** Not available.

**Specific Gravity:** 1.06 - 1.10 (Water = 1)

**Vapor Pressure:** <0.1 kPa (@ 20°C)

**Vapor Density:** Not available.

**Volatility:** Not available.

**Odor Threshold:** Not available.

**Water/Oil Dist. Coeff.:** Not available.

**Ionicity (in Water):** Not available.

**Dispersion Properties:** See solubility in water, methanol.

**Solubility:**

Easily soluble in cold water, hot water. Soluble in methanol. Soluble in Toluene, alcohol, cottonseed oil, corn oil, Ethyl Acetate. Insoluble in mineral oil.

### Section 10: Stability and Reactivity Data

**Stability:** The product is stable.

**Instability Temperature:** Not available.

**Conditions of Instability:** Excess heat, incompatible materials

**Incompatibility with various substances:** Reactive with oxidizing agents.

**Corrosivity:** Non-corrosive in presence of glass, of stainless steel(304), of stainless steel(316).

**Special Remarks on Reactivity:** Not available.

**Special Remarks on Corrosivity:** Not available.

**Polymerization:** Will not occur.

### Section 11: Toxicological Information

**Routes of Entry:** Inhalation, Ingestion.

**Toxicity to Animals:** Acute oral toxicity (LD50): 25000 mg/kg [Mouse].

**Chronic Effects on Humans:** Not available.

**Other Toxic Effects on Humans:** Slightly hazardous in case of skin contact (irritant), of ingestion, of inhalation.

**Special Remarks on Toxicity to Animals:**

Lethal Dose/Conc 50% Kill: LD50 [Rat] - Route: Oral; Dose: 34500 u/kg

**Special Remarks on Chronic Effects on Humans:**

May cause adverse reproductive effects based on animal test data. No human data found. May cause cancer based on animal test data. No human data found. May affect genetic material (mutagenic)

**Special Remarks on other Toxic Effects on Humans:**

**Acute Potential Health Effects:** Skin: No irritation is expected, but it may cause mild/slight irritation in more sensitive individuals. It will probably not be absorbed through the skin. Eyes: It may cause eye irritation. Inhalation: No expected to be a health hazard. No irritation is expected to be associated with the inhalation of this material. No toxic effects are known to be associated with the inhalation of this material. Ingestion: This material is not likely to cause irritation upon ingestion. It is classified as "relatively harmless" by ingestion and considered to be a low ingestion hazard. Ingestion of very large doses may cause abdominal spasms and diarrhea. Animal studies have shown it to cause cardiac changes, changes in behavior (altered sleep time) and weight loss (upon repeated or prolonged ingestion). However, no similar human data has been reported.

### Section 12: Ecological Information

**Ecotoxicity:** Not available.

**BOD5 and COD:** Not available.

**Products of Biodegradation:**

Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.

**Toxicity of the Products of Biodegradation:** Not available.

**Special Remarks on the Products of Biodegradation:** Not available.

### Section 13: Disposal Considerations

**Waste Disposal:**

Waste must be disposed of in accordance with federal, state and local environmental control regulations.

### Section 14: Transport Information

**DOT Classification:** Not a DOT controlled material (United States).

**Identification:** Not applicable.

**Special Provisions for Transport:** Not applicable.

### Section 15: Other Regulatory Information

**Federal and State Regulations:** TSCA 8(b) inventory: POLYSORBATE 80

**Other Regulations:** EINECS: This product is on the European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances.

**Other Classifications:**

**WHMIS (Canada):** Not controlled under WHMIS (Canada).

**DSCL (EEC):**

This product is not classified according to the EU regulations. Not applicable.

**HMIS (U.S.A.):**

Health Hazard: 1

Fire Hazard: 1

Reactivity: 0

Personal Protection: a

**National Fire Protection Association (U.S.A.):**

Health: 1

Flammability: 1

Reactivity: 0

Specific hazard:

**Protective Equipment:**

Not applicable. Lab coat. Not applicable. Safety glasses.

### Section 16: Other Information

**References:** Not available.

**Other Special Considerations:** Not available.

**Created:** 10/10/2005 11:35 AM

**Last Updated:** 05/21/2013 12:00 PM

*The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.*