Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Tecnologia e Ciências
Instituto Politécnico

Felipe Saippa França

Planejamento e otimização de experimentos: planejamento fatorial 2^3 aplicado em caracterização de ferro em fármacos

Nova Friburgo
2018

Felipe Saippa França

Planejamento e otimização de experimentos: planejamento fatorial 2^3 aplicado em caracterização de ferro em fármacos

Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, do Instituto Politécnico, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Física e Mecânica dos Materiais

Orientador: Gil de Carvalho

Nova Friburgo

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CTC/E

F814 França, Felipe Saippa.
Planejamento e otimização de experimentos: planejamento fatorial 2³ aplicado em caracterização de ferro em fármacos / Felipe Saippa França. - 2018.
46 f. : il.

Orientador: Gil de Carvalho.
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto Politécnico.

1. Medicamentos – Análise - Teses. 2. Fluorescencia de raio X - Teses. 3. Sulfato ferroso - Teses. 4. Quimica analitica – Teses. 5. Quimiometria – Teses. I. Carvalho, Gil de. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto Politécnico. III. Título.

CDU 615.074: 543.427.4

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____
Assinatura Data

Felipe Saippa França

Planejamento e otimização de experimentos: planejamento fatorial 2^3 aplicado em caracterização de ferro em fármacos

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, do Instituto Politécnico, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Física e Mecânica dos Materiais

Aprovada em ____ de _____ de _____.

Banca examinadora:

_____

Prof. Dr. Gil de Carvalho (Orientador)

Instituto Politécnico - UERJ

_____

Prof. Dr. Joaquim Teixeira de Assis

Instituto Politécnico – UERJ

_____

Profª. Dra. Halyka Luzorio Franzotti Vasconcellos

Universidade Estácio de Sá

Nova Friburgo

2018

DEDICATÓRIA

À minha família, pela vivência do compromisso solidário,
pelo aprendizado da humildade e pelo exemplo de amor e fé,
e por todo apoio neste período.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Gil de Carvalho, meu orientador e amigo, a presença segura, competente e estimulante.

À Gisela del Fava de Carvalho, por todo apoio, prontidão, fornecimento de dados, materiais e conhecimento para conclusão do trabalho.

Ao professor Joaquim de Assis pelo apoio e estímulo para a continuação do trabalho.

À minha família por todo apoio e incentivo em toda minha vida.

Ao Laboratório de Ensaios Físicos e do Laboratório de Morfologia de Materiais do Instituto Politécnico do Rio de Janeiro (IPRJ).

A FAPERJ pelo apoio a pesquisa ao longo do curso.

Há quem busque o saber para vendê-lo por dinheiro ou honrarias:
é indigno tráfico.
Há quem busque o saber para edificar, é amor. E há quem busque o saber
para edificar-se, e isto é prudência.

Bernardo Charaval

RESUMO

FRANÇA, Felipe Saippa. Planejamento e otimização de experimentos: planejamento fatorial 2^3 aplicado em caracterização de ferro em fármacos. 2018. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) – Instituto Politécnico, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, 2018.

Este trabalho busca o planejamento e otimização de experimentos anteriores de caracterização de ferro em medicamentos para anemia com sulfato ferroso, através de planejamento fatorial 2^3. O planejamento fatorial reduz a quantidade de experimentos necessários para detectar a influência de 2 ou mais fatores em um experimento. Em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa o objetivo foi de estimar a presença de ferro em medicamentos para anemia, através da fluorescência de raios-x. Este trabalho mostrou as influências da granulometria, da concentração de sulfato ferroso e do excipiente utilizado nestes experimentos. A concentração do medicamento foi o principal influenciador dos experimentos, a granulometria da amostra apresentou mínima influência, sendo 4 vezes menor do que a concentração, esta pequena influência provavelmente se deve a melhor distribuição da mistura na pastilha feita com a menor granulometria, enquanto o excipiente foi inerte como era esperado.

Palavras-chave: Planejamento. Otimização. Caracterização. Medicamentos. Ssulfato ferroso. Planejamento fatorial 2^3. Fluorescência de raios x.

ABSTRACT

FRANÇA, Felipe Saippa. Planning and optimization of experiments: factorial planning 2^3 applied on characterization of iron on drugs. 2018. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Materiais) – Instituto Politécnico, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, 2018.

This work looks for planning and optimization of previous experiments of characterization of iron in anemia medicine with ferrous sulphate, through factorial planning 2^3. The factorial planning reduces the amount of tests needed to detect the influence of 2 or more factors in an experiment. In previous works from the research group, the objective was to estimate the presence of iron in anemia medicine, through x-ray fluorescence. This work showed the influence of the granulometry, the concentration of ferrous sulphate and the excipient used on these tests. The concentration of the drug was the main influencer of the tests, the granulometry of the sample showed minimun influence, being 4 times less than the concentration, this small influence was probably due to better distribution of the mix in the tablets made with the smaller granulometry, while the excipient was inert as expected.

Keywords: Planning, optimization. Characterization. Medicine. Ferrous sulphate. Factorial planning 2^3. X-ray fluorescence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Objetivos a serem alcançados, técnicas de planejamento e otimização de experimentos necessários e capítulo em que é discutido..... 13
Figura 2 - Ilustração de um sistema representado por uma função ligando fatores (variáveis de entrada) às respostas (variáveis de saída)..... 19
Figura 3 - Matrizes para cálculo do efeito da granulometria no planejamento fatorial 2^3..... 23
Figura 4 - Representação gráfica dos ensaios do planejamento fatorial 2^3..... 24
Figura 5 - Interpretação geométrica dos efeitos no planejamento 2^3. (a) Os efeitos principais são contrastes entre as faces opostas. (b) Os efeitos de interação são contrastes entre os planos diagonais..... 24
Figura 6 - Diagrama dos níveis energéticos e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro..... 27
Figura 7 - Pilão de ágata utilizado para preparação das amostras..... 28
Figura 8 - Tamis com abertura de 75µm..... 29
Figura 9 – Amostra produzida a partir de fármaco, triturada e armazenada em recipiente plástico 29
Figura 10 – Amostra produzida a partir de fármaco, em pastilha e armazenada em recipiente plástico 30
Figura 11 - Conjunto emissor e detector de raios x AMPTEK..... 30
Figura 12 - Experimento sendo realizado na amostra em pastilha..... 31
Figura 13 - Interface do software DppMCA para inserção de parâmetros de entrada..... 31
Figura 14 - Interface do software DppMCA, espectro obtido em um dos experimentos, com região de interesse destacada em azul 32
Figura 15 - Matrizes para cálculo do efeito da granulometria no planejamento fatorial 2^3..... 34
Figura 16 - Representação geométrica dos resultados do planejamento fatorial 2^3..... 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores e convenção de sinais para suas representações 20
Tabela 2 - Resultados do planejamento fatorial 2^3 para estudar os efeitos da granulometria, da concentração e do excipiente na caracterização de ferro em fármacos 21
Tabela 3 - Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3..... 22
Tabela 4 - Fatores e convenção de sinais para suas representações 32
Tabela 5 - Resultados do planejamento fatorial 2^3 para estudar os efeitos da granulometria, da concentração e do excipiente na caracterização de ferro em fármacos 33
Tabela 6 - Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3..... 34
Tabela 7 - Resultados dos efeitos para o planejamento fatorial 2^3..... 35

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 11

1 **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** 14

1.1 **Anemia ferropriva** 14

1.2 **Hemocromatose** 15

1.3 **Breve histórico da produção de medicamentos** 16

1.4 **Otimização de experimentos** 17

1.4.1 Planejamento fatorial 2^3 19

1.4.1.1 Cálculo dos efeitos 21

1.4.1.2 Representação Geométrica dos efeitos 23

1.5 **Técnicas de caracterização através de raios x** 25

1.5.1 Fluorescência de raios x 25

2 **MATERIAIS E MÉTODOS** 27

2.1 **Preparação das amostras e realização dos experimentos** 27

3 **RESULTADOS E DISCUSSÕES** 32

3.1 **Cálculo dos efeitos** 33

3.2 **Representação geométrica dos efeitos** 35

CONCLUSÃO 37

Sugestões para trabalhos futuros 38

REFERÊNCIAS 39

ANEXO A - Avaliação das medidas de XRF em amostras preparadas com celulose microcristalina e óxido de ferro 43

ANEXO B - Estudo da influência da granulometria na mistura de sulfato ferroso e lactose por EDXRF 45

INTRODUÇÃO

O transporte respiratório do oxigênio e do dióxido de carbono, no corpo humano, tem como um de seus principais elementos o ferro. Usualmente as enfermidades relacionadas ao ferro se desenvolvem devido à carência ou sobrecarga do mesmo. É comum encontrar medicamentos para suplementação de ferro para anemia ferropriva para todas as idades, assim como para recém-nascidos, gestantes e lactantes com tal deficiência no organismo. (SAKAMOTO, 2007)

Existem vários compostos empregados para a reposição do ferro e que garantem sua alta biodisponibilidade, tais como, sulfato ferroso, gluconato ferroso, lactato ferroso, fumarato ferroso, succinato ferroso, ferro elementar, EDTA ferro, ferro glicina, etc. (ASSIS et al, 2014, apud MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

São padronizadas a administração do sulfato ferroso sob a forma de comprimidos com composições que variam entre 40 a 300 mg, tomados entre uma a três doses ao dia. (ASSIS et al, 2014, apud MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Além do mais o sulfato ferroso é comercializado ou distribuído livremente, sem o controle de qualidade e certificação laboratorial da ANVISA, de tal forma que a população tenha garantia, cofiabilidade e, segurança das marcas em circulação no Brasil (ASSIS et al, 2014, apud MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

A concentração anormalmente baixa da hemoglobina circulante constitui-se no distúrbio nutricional, usualmente mais frequente na infância, conhecido como anemia ferropriva. Esta enfermidade é muito conhecida no Brasil e no mundo por ser de ocorrência muito comum. Sendo essa afirmação válida tanto para sociedades pobres quanto para sociedades ricas. No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde – PNDS, realizada em 2006, a prevalência de anemia observada entre crianças menores de cinco anos era de 20,9%, sendo de 24,1% em crianças menores de dois anos. Em mulheres em idade fértil a prevalência de anemia observada foi de 29,4%. Em termos globais, de acordo com estimativa realizada em 2008 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a carência de ferro afetava 1,62 bilhões de pessoas. (Ministério da Saúde, 2014) Admite-se que a ocorrência endêmica da enfermidade na infância decorra da combinação entre necessidades excepcionalmente elevadas de ferro, impostas pelo crescimento, e dietas pobres no mineral, sobretudo ferro de alta biodisponibilidade. (MONTEIRO et al 2000 apud DEMAYER et al,

1989 et INACG, 1979) Independentemente das causas que determinem o estado anêmico, associam-se ao mesmo graves prejuízos para o desenvolvimento cognitivo e motor da criança e para o seu futuro aproveitamento escolar, (MONTEIRO ET AL 2000 apud LOZOFF et al, 1991 et WALTER et al, 2005) do que resulta a grande importância que se deve dar ao controle da anemia na infância.

A anemia ferropriva pode ser tratada tanto com uma dieta rica em alimentos com disponibilidade de ferro, quanto com medicamentos. No entanto estes devem ser controlados para que contenham a quantidade adequada de ferro para o paciente, uma vez que a falta do componente fará com que o mesmo não cumpra com sua função, assim como o excesso de ferro no organismo humano pode ser danoso.

O sulfato ferroso é um dos sais de ferro mais utilizados nas formulações de medicamentos empregados no tratamento de anemias ferropriva e outras condições onde haja deficiência nutricional do elemento ferro. (SANTOS, 2017)

Podem ser encontrados diversos trabalhos na caracterização de fármacos, e neles são utilizadas diversas técnicas, como: titulação fotométrica utilizada por Pereira et al (2011), polarografia de pulso diferencial utilizada por Aleixo et al (2001), cromatografia planar e espectrofotometria utilizada por Mancini et al (1997), sendo a segunda também utilizada por Gotardo (2006) juntamente com as técnicas de reflectância difusa, cromatografia e titulometria, esta última também adotada por Alves et al (2016), Silva (2013) optou pela técnica de termogravimetria para também caracterizar o ferro em medicamentos.

Dito isto, diversas técnicas podem ser utilizadas para estimar a quantidade de ferro em um medicamento, uma dessas é a técnica de Fluorescência de Raios X (FRX), utilizada para caracterizar o ferro no sangue também por Redígolo (2011). Esta técnica, por ser não destrutiva e instrumental, e por permitir a análise de vários elementos simultaneamente, de modo rápido e a baixo custo, tem um elevado potencial de aplicação em várias áreas. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

Alguns trabalhos já foram realizados neste sentido e, portanto o objetivo deste é de otimizar os resultados já encontrados e determinar os fatores de influência real na obtenção dos mesmos. Os resultados utilizados neste trabalho foram obtidos a partir de trabalhos do grupo de pesquisa do Laboratório de Ensaios Físicos e do Laboratório de Morfologia de Materiais do Instituto Politécnico do Rio de Janeiro (IPRJ).

Seguindo a bibliografia utilizada na disciplina de Estimação de Parâmetros e Projeto de Experimentos, Barros Neto et al (2001) resumiram as técnicas de otimização de experimentos abordadas na Figura 1, a seguir:

Figura 1 - Objetivos a serem alcançados, técnicas de planejamento e otimização de experimentos necessários e capítulo em que é discutido

Objetivo	Técnica	Capítulo
Triagem de variáveis	Planejamentos fracionários	4
Avaliação da influência de variáveis	Planejamentos fatoriais completos	3
Construção de modelos empíricos	Modelagem por mínimos quadrados	5,7
Otimização	RSM, simplex	6,8
Construção de modelos mecanísticos	Dedução a partir de princípios gerais	_

Fonte: BARROS NETO et al., 2001.

Dessa maneira a técnica escolhida foi a de planejamento fatorial 2^3, compreendida nos planejamentos fatoriais completos, onde serão observadas a influência da granulometria, da concentração de sulfato ferroso nas amostras e o excipiente utilizado para a fabricação dos medicamentos e as interações entre os mesmos, como fatores de entrada controláveis e a área relativa ao pico Kα do elemento ferro encontrado nas amostras pela fluorescência de raios X, como resposta obtida.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 **Anemia ferropriva**

A anemia é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um estado em que a concentração de hemoglobina do sangue é anormalmente baixa em consequência da carência de um ou mais nutrientes essenciais, qualquer que seja a origem dessa carência. Já a anemia por deficiência de ferro resulta de longo período de balanço negativo entre a quantidade de ferro biologicamente disponível e a necessidade orgânica desse elemento.

A anemia por deficiência de ferro é a mais comum das carências nutricionais, com maior prevalência em mulheres e crianças, principalmente nos países em desenvolvimento. Crianças entre seis e 24 meses apresentam risco duas vezes maior para desenvolver a doença do que aquelas entre 25 e 60 meses (JORDÃO et al, 2009 apud OSÓRIO et al, 2001). Considerada um sério problema de Saúde Pública, a anemia pode prejudicar o desenvolvimento mental e psicomotor, causar aumento da morbimortalidade materna e infantil, além da queda no desempenho do indivíduo no trabalho e redução da resistência às infecções (JORDÃO et al, 2009 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

O aumento da prevalência da anemia ferropriva em crianças pode ser decorrente das mudanças nos hábitos alimentares, que acompanham a transição nutricional no país. No Brasil, a tendência do aumento da anemia em pré-escolares foi evidenciada por dois estudos nos quais a prevalência da doença passou de 35,6% na década de 1980, para 46,9% na década de 1990, no município de São Paulo (JORDÃO et al, 2009 apud MONTEIRO et al 2000), e de 19,3% para 36,4%, na Paraíba (JORDÃO et al, 2009 apud OLIVEIRA et al, 2006). Além disso, um estudo de 2010 publicado na Revista de Nutrição de Campinas juntou as informações de diversos estudos para chegar a um número médio de casos de anemia. Os resultados apontam que 60,2% das crianças menores de cinco anos atendidas nas Unidades Básicas de Saúde apresentavam anemia. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014)

O Ministério da Saúde tornou obrigatória a fortificação das farinhas de milho e trigo com ferro e ácido fólico, por serem alimentos de fácil acesso a população e não terem alterações de suas características organolépticas no processo de fortificação, além de ser economicamente viável ao país. (JORDÃO et al, 2009)

No Brasil, não há levantamento nacional da prevalência de anemia, somente estudos em diferentes regiões, que mostram alta prevalência da doença, estimando-se que cerca de 4,8 milhões de pré-escolares sejam atingidos pela doença (JORDÃO et al 2009, apud BRASIL 2004). Apesar da inexistência de estudos nacionais abrangentes, dados regionais têm demonstrado elevada prevalência de anemia no Brasil, em todas as idades e níveis socioeconômicos. (JORDÃO et al 2009). Vale ressaltar que a última Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde, realizada em 2006, associou os estudos de anemia em mulheres em crianças, a deficiências de vitamina A e retinol.

1.2 **Hemocromatose**

Hemocromatose é um distúrbio de sobrecarga de ferro que pode levar a danos nos órgãos devido ao acúmulo de ferritina e hemosiderina em hepatócitos. Pode ser causada por diversos fatores genéticos, incluindo hemocromatose hereditária e talassemia (LICHTMAN 1999), que é uma doença que causa má formação das hemoglobinas que transportam o oxigênio no sangue. A hemocromatose pode ser adquirida pela ingestão crônica de ferro medicamentoso, transfusão sanguínea com sobrecarga de ferro, anemia sideroblástica adquirida, e porfiria cutânea tarda. (LICHTMAN et al 1999 apud BLOOM et al 1995 et BRITTON et al 1994)

Segundo Bacon *et al (2011)*, as causas mais comuns de sobrecarga de ferro secundária são indivíduos com eritropoiese ineficaz, ou seja indivíduos com produção ineficaz de hemácias, sobrecarga de ferro parenteral, ou seja ingestão de uma grande quantidade de ferro por vias que não sejam do trato digestivo, que não seja oral, e indivíduos que já possuam doença no fígado. A sobrecarga de ferro parenteral é sempre iatrogênica, na medida em que o sangue ou ferro (administrado por via parenteral) deve ser indicado por um médico antes da administração. Muitos indivíduos com eritropoiese ineficaz que diminuíram a utilização de ferro pela medula óssea também têm sobrecarga de ferro transfusional devido à necessidade de transfusões.

1.3 **Breve histórico da produção de medicamentos**

Segundo Deus e Sá (2011) apud Cassiani (2005), cerca de 88% dos pacientes que procuram os serviços profissionais médicos recebem prescrições de medicamentos. No Brasil, estes ocupam, portanto um lugar de destaque no sistema de saúde. Contudo, para que o uso de medicamentos seja considerado uma alternativa efetiva, presume-se que além da utilização orientada, pressupõe-se que eles cumpram com critérios mínimos de qualidade.

Ao longo da história, novas descobertas impulsionaram o caminho do desenvolvimento em áreas diversas... E foi a partir da aliança entre industrialização e pesquisa que a área de saúde se desenvolveu principalmente no que tange à esfera de medicamentos. (DEUS E SÁ, 2011)

A produção industrial popularizou os medicamentos e massificou seu uso, contanto tal acontecimento foi seguido também por diversos problemas devido a erros de fabricação e/ou a problemas no controle de qualidade. Os riscos aumentaram tanto devido ao consumo inadequado de medicamentos quanto a maior probabilidade de falhas durante os processos de produção.

Deus e Sá (2011) apud Kawano et al (2006) destacaram alguns destes acontecimentos, como uma troca de excipientes no elixir da sulfanilamida em 1937, que ocasionou a morte de 100 crianças nos Estados Unidos. Em 1958, também nos Estados Unidos, ocorreu uma contaminação cruzada de tabletes vitamínicos de uso pediátrico contaminados com estrógeno, o qual ocasionou o aparecimento de caracteres sexuais secundários em crianças. Os autores mencionados citam também casos na Europa de surtos de salmonelose na Suécia e 40 casos de conjuntivite hemorrágica devido a uma solução de lentes de contato.

No Brasil, assim como em outros países, a história da indústria farmacêutica também apresenta alguns episódios envolvendo produção e qualidade no fabrico de produtos. Destacam-se os casos do contraceptivo oral Microvlar® e do medicamento Celobar®, um contraste usado em exames radiológicos, o qual levou a óbito 20 pacientes, em Goiânia. (DEUS E SÁ 2011, apud TUBINO E SIMONI 2007)

Incidentes como estes levam a um aumento na pesquisa e desenvolvimento de práticas e metodologias mais seguras de produção de medicamentos. O marco referencial para a implementação de padrões adequados de qualidade de medicamentos e produtos para a saúde foram os acordos estabelecidos pela Organização Mundial do Comércio (OMC). Ao determinar que os países membros devessem implementar sistemas de controle que

assegurassem a segurança e a qualidade de todos os produtos destinados à exportação, a OMC contribui para o surgimento e estabelecimento das boas práticas de fabricação(BPF). (DEUS E SÁ 2011 apud SANTICH et. al. 1994)

Segundo Deus e Sá (2011), os Estados Unidos iniciaram este processo de boas práticas através da publicação das Good Manufacturing Pratices (GMP), que constituíam de recomendações para a prática de processos de controle de qualidade e foram incorporadas com a publicação pelo FDA, a agência federal reguladora americana de alimentos e drogas, dando início a ao desenvolvimento e estruturação destas práticas em diversos países.

Deus e Sá (2011) também afirmam que o texto "Guia de Boas Práticas de Fabricação para a Indústria Farmacêutica" aprovado na 28ª Assembléia Mundial de Saúde promovida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1975, foi um marco histórico no desenvolvimento destas práticas em todo o mundo.

Baseado nesta publicação, em 1995 o Brasil passou a publicar diversas portarias que regulamentavam as indústrias farmacêuticas nacionais, seguindo os anos com novas publicações, até a criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA em 1999, que começou a regular e fiscalizar todos os setores diretamente relacionados a saúde no país.

Sendo assim, a publicação da RDC nº 134/2001 apresentou ao setor regulado o Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamento, o qual incorporava os princípios contidos no documento da OMS, revisto em 1992 e determinava o cumprimento das suas diretrizes a todos os fabricantes de medicamentos comercializados/distribuídos no Brasil. (Deus e Sá 2011 apud BRASIL, 2001).

Atualmente, a legislação vigente é a RDC nº 56/ 2014. Pela nova norma, o cumprimento das BPF é padronizado de uma maneira mais completa e se encontra no escopo instituído pelo MERCOSUL.

1.4 **Otimização de experimentos**

Um experimento ou ensaio é um procedimento planejado para obter novos fatos, negar ou confirmar hipóteses ou resultados obtidos anteriormente. Em geral, experimentos são conduzidos de forma que se possa ter um alto grau de controle sobre as variáveis experimentais. Experimentos são basicamente estudos das influências que variáveis de

entrada (controláveis) de um sistema podem ter sobre uma variável de saída (resposta). Dessa forma pode-se compreender melhor o que acontece no experimento e escolher as condições ótimas de operação. Muitos aspectos do desenvolvimento de projetos e otimização de processos requerem experimentos eficientes e precisos.

Todo experimento deve começar com uma hipótese, ou seja, é preciso ter os objetivos do experimento bem definidos. Normalmente quando isso não acontece, não raro, os experimentos não são conclusivos e não fornecem informações de utilidade.

"No planejamento de qualquer experimento, a primeira coisa que devemos fazer é decidir quais são os fatores e as respostas de interesse. Os fatores, em geral, são as variáveis que o experimentador tem condições de controlar. Podem ser qualitativos, como o tipo de catalisador, ou quantitativos, como a temperatura." (BARROS NETO, 2001) Fatores não controláveis também podem afetar o sistema e por isso não devem ter suas contribuições excluídas em uma análise criteriosa.

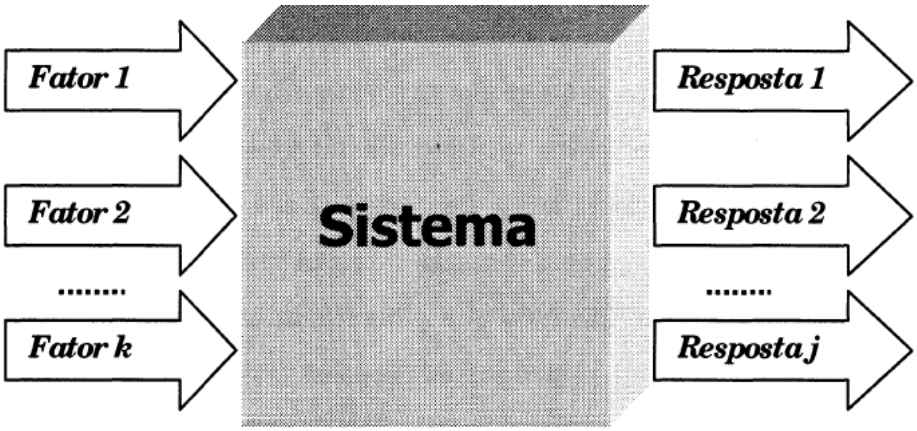
"As respostas são as variáveis de saída do sistema, nas quais estamos interessados, e que serão - ou não - afetadas por modificações provocadas nos fatores. Também podem ser qualitativas ou quantitativas. Dependendo do problema, podemos ter várias respostas de interesse, que talvez precisem ser consideradas simultaneamente." (BARROS NETO, 2001).

No entanto, podemos nos enganar ao pensar que para manter um experimento sob controle é necessário fixar uma das variáveis de entrada em certo nível e variar a outra até descobrir qual o nível dessa outra variável que produz o maior rendimento. Modificando apenas uma variável de entrada não estaremos nos assegurando de que qualquer mudança na resposta terá sido causada pela modificação do nível desse fator. "Ao contrário do que se poderia esperar, é muito melhor fazer variar todos os fatores ao mesmo tempo. A razão para isso é que as variáveis podem se influenciar mutuamente, e o valor ideal para uma delas pode depender do valor da outra. Esse comportamento, que chamamos de interação entre os fatores." (BARROS NETO, 2001).

No planejamento de qualquer experimento, o primeiro passo que devemos dar é decidir quais são os fatores e as respostas de interesse. Os fatores, em geral, são as variáveis que o experimentador tem condições de controlar. As respostas são as variáveis de saída do sistema, nas quais estamos interessados, e que serão - ou não - afetadas por modificações provocadas nos fatores. Dependendo do problema, podemos ter várias respostas de interesse,

que talvez precisem ser consideradas simultaneamente. A Figura 2 a seguir ilustra a relação dos fatores de entrada com as respostas obtidas em um sistema.

Figura 2 - Ilustração de um sistema representado por uma função ligando fatores (variáveis de entrada) às respostas (variáveis de saída)



Fonte: BARROS NETO et al 2001.

Portanto podemos seguir os seguintes passos como essenciais para o sucesso de um experimento:

- Conhecimento do problema
- Escolha de fatores e níveis
- Escolha da variável resposta
- Execução e condução do experimento
- Análise de dados
- Conclusões e recomendações

1.4.1 Planejamento fatorial 2^3

Planejamentos fatoriais de dois níveis são muito úteis em investigações preliminares, quando queremos saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta, e não estamos preocupados ainda em descrever muito rigorosamente essa possível influência. (BARROS NETO et al, 2001)

Para fazer um planejamento fatorial completo, é necessário realizar experimentos ao menos uma vez em cada possível combinação dos níveis dos fatores. Assim sendo, Barros

Neto et al (2001) afirma que o planejamento mais simples é aquele em que todos os fatores são observados em apenas 2 níveis.

Para k fatores, isto é, k variáveis controladas pelo experimentador, um planejamento completo de dois níveis exige a realização de 2 x 2 x ... x 2 = 2^k ensaios diferentes, sendo chamado por isso· de planejamento fatorial 2^k (Barros Neto et al, 2001), dito isto, o planejamento fatorial 2^3 exige a realização de pelo menos 2^3 = 2x2x2 = 8 experimentos.

Os fatores de entrada podem ser de caráter qualitativo ou quantitativo. A concentração de sulfato ferroso nos fármacos e a granulometria são pura e simplesmente quantitativas, enquanto o excipiente utilizado na produção dos medicamentos é uma variável qualitativa.

A concentração de sulfato ferroso nada mais é do que quantidade de sulfato ferroso adicionado ao medicamento em sua produção. No caso deste trabalho, foram escolhidas as concentrações de 160mg e 375mg.

A granulometria está relacionada com a distribuição das partículas dos materiais granulares entre várias dimensões de acordo com as aberturas de uma série de peneiras. No caso utilizamos apenas a comparação do medicamento após trituração, peneirado em uma malha com abertura de 0,5mm e outra de 75µm.

Excipiente, segundo o dicionário Priberam (2018), é uma substância que serve para ligar ou dissolver outras substâncias que se constituem um medicamento alterando-lhes o gosto e dando-lhe forma. Este estudo utilizou dois tipos de excipientes, lactose e celulose.

O planejamento fatorial se inicia pela construção da Tabela 1, de fatores e convenção de sinais, onde são expostos os fatores de entrada que vão ter sua variação controlada, seus níveis de variação e a convenção de sinais adotada para cada nível.

Tabela 1 - Fatores e convenção de sinais para suas representações

Fatores	(-)	(+)
1 Fator 1	Menor	Maior
2 Fator 2	Menor	Maior
3 Fator 3	Menor	Maior

Fonte: O Autor, 2018.

Após a realização dos ensaios em cada um dos níveis pode-se montar uma tabela que indique o nível de cada fator e o resultado do experimento para os níveis utilizados, conforme Tabela 2, apresentada a seguir:

Tabela 2 - Resultados do planejamento fatorial 2^3 e convenção de sinais para cada fator em cada experimento

Ensaio	Fatores			Resultados
	1	2	3	
1	-	-	-	
2	+	-	-	
3	-	+	-	
4	+	+	-	
5	-	-	+	
6	+	-	+	
7	-	+	+	
8	+	+	+	

Fonte: O Autor, 2018.

1.4.1.1 Cálculo dos efeitos

Cada efeito principal é calculado através da média deste efeito nos dois níveis de cada um dos outros dois efeitos. Usando a letra G para atribuir o efeito principal da granulometria, e sendo $\check{Y}_i$, a resposta média no i-ésimo ensaio, pode-se escrever o seguinte:

$$G = \frac{\check{Y}_2 - \check{Y}_1 + \check{Y}_4 - \check{Y}_3 + \check{Y}_6 - \check{Y}_5 + \check{Y}_8 - \check{Y}_7}{4} \quad (1)$$

O mesmo vale para os cálculos dos efeitos principais dos outros fatores de entrada, a concentração e o excipiente.

Já os efeitos de interação entre dois fatores se dão pela metade da diferença entre os efeitos dos fatores em questão, portanto temos que o efeito entre a granulometria e a concentração GC é:

$$GC = \frac{(\check{Y}_4 - \check{Y}_3) - (\check{Y}_2 - \check{Y}_1) + (\check{Y}_8 - \check{Y}_7) - (\check{Y}_6 - \check{Y}_5)}{4} \quad (2)$$

Além disso, os efeitos de interação são simétricos, portanto GC = CG, não havendo necessidade de calcular novamente o mesmo efeito.

O efeito da interação entre os três fatores, granulometria, concentração e excipiente, GCE, é calculado partir da metade da diferença entre as interações de GC nos dois níveis em que o excipiente varia. Como o argumento é simétrico, isto vale também para as interações

GE nos dois níveis da concentração e para as interações CE nos dois níveis da granulometria. Todos os 3 caminhos levam ao mesmo resultado de GCE, que é o seguinte:

$$GCE = \frac{(\check{y}_2 - \check{y}_1) - (\check{y}_4 - \check{y}_3) - (\check{y}_6 - \check{y}_5) + (\check{y}_8 - \check{y}_7)}{4} \quad (3)$$

No entanto, o cálculo de cada efeito, cada interação sendo realizado individualmente é muito trabalhoso e demanda muito tempo, portanto é necessário buscar uma maneira mais rápida e eficiente de se realizar estes cálculos.

"A partir da matriz de planejamento podemos formar a tabela de coeficientes de contraste,..., multiplicando os sinais das colunas apropriadas para obter as colunas correspondendo as interações" (Barros Neto et al, 2001) entre os fatores. Esta tabela possui uma primeira coluna toda positiva, e as restantes são preenchidas de acordo com a convenção de sinais adotada previamente e finalmente são preenchidos os resultados para cada ensaio na última coluna. Esta tabela permitirá calcular os efeitos principais de cada fator, 1(granulometria), 2(concentração) e 3(excipiente), três interações, 12, 13 e 23 e a interação entre os três fatores ao mesmo tempo, 123.

Tabela 3 - Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3

Média	1	2	3	12	13	23	123	$\check{y}$
+	-	-	-	+	+	+	-	
+	+	-	-	-	-	+	+	
+	-	+	-	-	+	-	+	
+	+	+	-	+	-	-	-	
+	-	-	+	+	-	-	+	
+	+	-	+	-	+	-	-	
+	-	+	+	-	-	+	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	

Fonte: O Autor, 2018.

De acordo com o método descrito por Barros Neto et al (2001), a Tabela 3 contém todos os sinais necessários para o cálculo dos efeitos, portanto para calcular os efeitos, é necessário escolher a coluna apropriada, aplicar seus sinais às respostas correspondentes, fazer a soma algébrica e então dividir o resultado por 4. Sendo que a primeira coluna, que contém apenas sinais positivos, serve para calcular a média de todos os ensaios, e nesse caso o divisor tem que ser 8.

Para calcular o efeito da granulometria, precisamos aplicar os sinais à coluna das respostas, conforme exemplificado na Figura 3 a seguir.

Figura 3 - Matrizes para cálculo do efeito da granulometria no planejamento fatorial 2^3

$$\begin{array}{c} G \\ \begin{bmatrix} - \\ + \\ - \\ + \\ - \\ + \\ - \\ + \end{bmatrix} \end{array} \qquad \begin{bmatrix} \quad \\ \quad \\ \quad \\ \quad \\ \quad \\ \quad \\ \quad \\ \quad \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \check{y}_1 \\ \check{y}_2 \\ \check{y}_3 \\ \check{y}_4 \\ \check{y}_5 \\ \check{y}_6 \\ \check{y}_7 \\ \check{y}_8 \end{bmatrix}$$

Fonte: O Autor, 2018.

Esta operação possui a seguinte resolução:

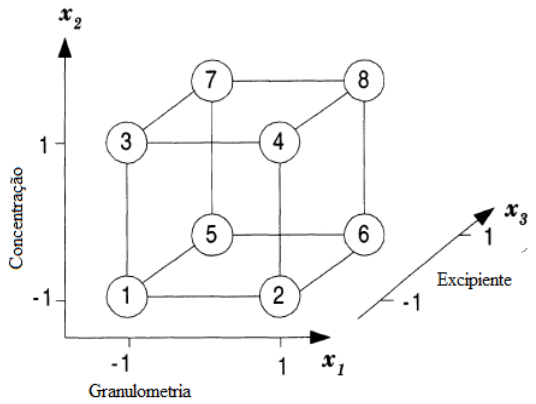
$$\mathbf{G} = \frac{-\check{y}_1 + \check{y}_2 - \check{y}_3 + \check{y}_4 - \check{y}_5 + \check{y}_6 - \check{y}_7 + \check{y}_8}{4} \tag{4}$$

Onde o valor calculado de G é o efeito médio para a variação do primeiro fator, no caso deste trabalho, a granulometria. Sucessivamente os efeitos podem ser calculados através dos sinais de cada coluna respectiva.

1.4.1.2 Representação Geométrica dos efeitos

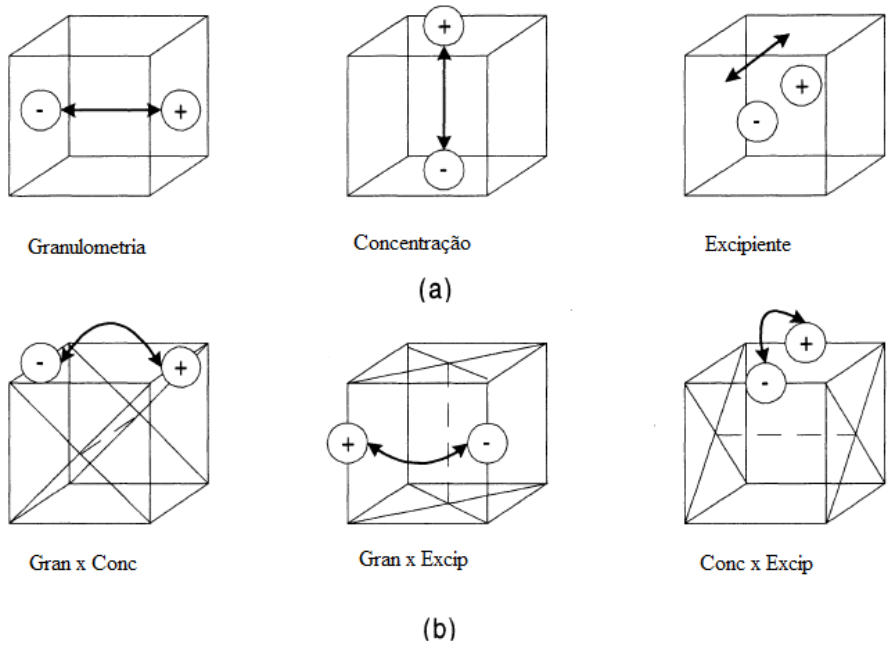
Segundo Barros Neto et al (2001), os efeitos calculados num planejamento fatorial 2^3 podem ser interpretados como contrastes geométricos. Com três fatores variando entre dois níveis, a figura formada será um cubo, em que os vértices correspondem aos 8 ensaios da matriz de planejamento, como mostra a Figura 4 abaixo. Os efeitos principais e as interações de dois fatores são contrastes entre dois planos, conforme a Figura 5 a seguir.

Figura 4 - Representação gráfica dos ensaios do planejamento fatorial 2^3



Fonte: Adaptado de BARROS NETO et al, 2001.

Figura 5 - Interpretação geométrica dos efeitos no planejamento 2^3



Legenda: (a) - Os efeitos principais são contrastes entre as faces opostas; (b) - Os efeitos de interação são contrastes entre os planos diagonais.
Fonte: Adaptado de BARROS NETO el al, 2001.

1.5 **Técnicas de caracterização através de raios x**

Diversas técnicas podem ser utilizadas para caracterizar materiais, dentre elas, em destaque, os fármacos podem, por exemplo, ser caracterizados através de titulação, análise térmica e raios x, sendo as duas primeiras análises destrutivas, enquanto que os raios x preservam as amostras em sua total integridade.

Os raios X são ondas eletromagnéticas que ocupam a região entre a radiação gama e os raios ultravioleta no espectro eletromagnético, caracterizando-se por possuir comprimento de onda da ordem de ângstrons (1 Å = 10-10 m) e frequência acima de 1016 hertz. Raios X são radiações eletromagnéticas que, como tais, podem ser polarizadas, difratadas, refratadas e refletidas. Os raios X foram descobertos pelo físico alemão Wilhelm Conrad Röntgen em 8 de novembro de 1895, no laboratório do Instituto de Física da Universidade Julius Maximilians, de Wüzburg, na Bavária. (Rezier, 2017)

A análise multielementar instrumental por fluorescência de raios X (XRF) é baseada na medida das intensidades dos raios x característicos emitidos pelos elementos químicos componentes da amostra, quando devidamente excitada. Até 1966 a XRF era realizada unicamente por espectrômetros por dispersão por comprimento de onda (WD-XRF, abreviação de wavelength dispersive x-ray fluorescence), baseados na lei de Bragg, os quais necessitam de um movimento sincronizado e preciso entre o cristal difrator e o detector (NASCIMENTO FILHO, 1999 apud JENKINS et al, 1991).

Com o desenvolvimento do detector semi-condutor de Si(Li), capaz de discriminar raios x de energias próximas, foi possível o surgimento da fluorescência de raios x por dispersão de energia (ED-XRF, energy dispersive X-ray fluorescence), também conhecida como fluorescência de raios x não dispersiva, com instrumentação menos dispendiosa e emprego mais prático (NASCIMENTO FILHO, 1999, apud BERTIN, 1975 et IAEA, 1970 et KATSANOS, 1980 et SIEGBAHN, 1965).

1.5.1 <u>Fluorescência de raios x</u>

A análise por fluorescência de raios x é um método quali-quantitativo baseado na medida das intensidades (número de raios x detectados por unidade de tempo) dos raios x

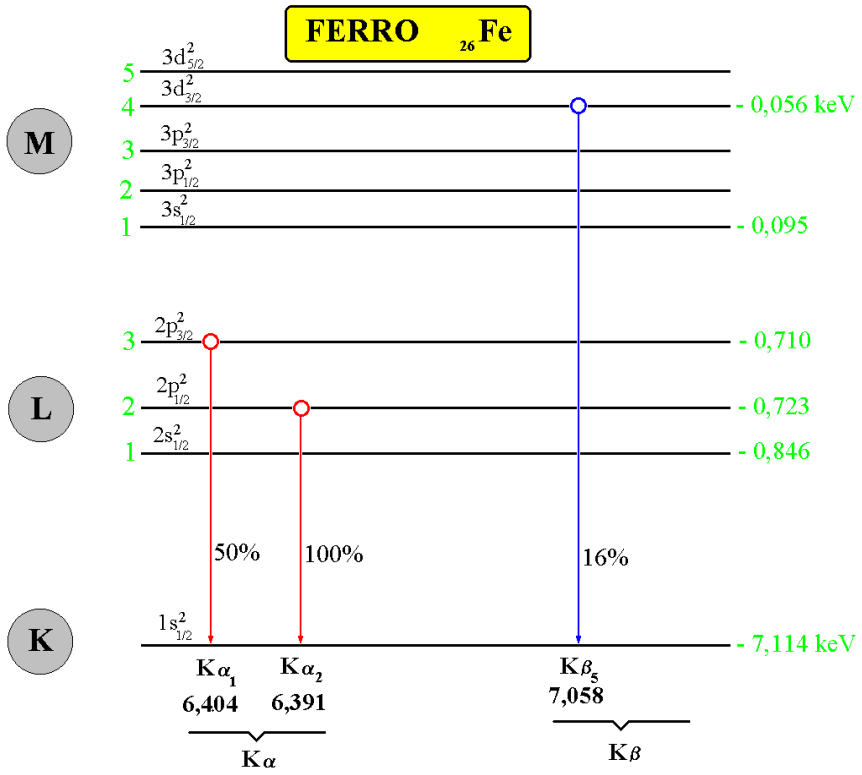
característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra (Nascimento Filho, 1999 apud Boumans et Klockenkämper, 1989 et IAEA 1970). Os raios x emitidos por tubos de raios x, ou raios x ou gama por uma fonte radioativa, excitam os elementos que constituintes, os quais, por sua vez, emitem linhas espectrais com energias características do elemento e cujas intensidades estão relacionadas com a concentração do elemento na amostra. (NASCIMENTO FILHO, 1999)

Quando um elemento de uma amostra é excitado, este tende a ejetar os elétrons do interior dos níveis dos átomos, e como consequência disto, elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui uma perda de energia para o elétron, e esta energia é emitida na forma de um fóton de raio x, de energia característica e bem definida para cada elemento. Assim, de modo resumido, a análise por fluorescência de raios x consiste de três fases: excitação dos elementos que constituem a amostra, dispersão dos raios x característicos emitidos pela amostra e detecção desses raios x. (NASICMENTO FILHO, 1999)

Assim, um elétron no átomo de ferro saltando do subnível L2 para o nível K, há emissão do raio x $K\alpha_2$ de 6,391 keV, enquanto que no salto L3 -> K a energia do raio X $K\alpha_1$ seria de 6,404 keV, devendo ainda ser considerado que a transição L1 -> K não ocorre, sendo chamada "transição proibida". (NASCIMENTO FILHO, 1999)

A transição L3 -> K e a L2 -> K tem energias muito próximas, não sendo possível separar esses raios x, mesmo utilizando um detector de alta resolução, como Si(Li). Assim, normalmente essas duas transições são englobadas em uma chamada $K\alpha$, com energia média de 6,40 keV. O mesmo acontece para as energias dos raios x oriundos dos saltos quânticos dos subníveis da camada M para a camada K, sendo englobados com a denominação genérica de raios X $K\beta$ (NASCIMENTO FILHO, 1999), conforme pode ser visualizado na Figura 3 a seguir.

Figura 6 - Diagrama dos níveis energéticos e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro



Fonte: NASCIMENTO FILHO, 1999.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 **Preparação das amostras e realização dos ensaios**

Conforme mencionado na introdução, os resultados utilizados neste trabalho foram obtidos em experimentos anteriores do grupo de pesquisa do Laboratório de Ensaios Físicos e do Laboratório de Morfologia de Materiais do Instituto Politécnico do Rio de Janeiro (IPRJ). Os trabalhos possuíam as mesmas variações para granulometria e concentração de sulfato ferroso, sendo que cada um trabalhou com um excipiente diferente em que o medicamento havia sido produzido. Desta forma, utilizando os resultados destes dois trabalhos, foi possível inserir um novo fator para estudo que possibilitou o planejamento fatorial 2^3. Como resposta analisada foi observada a área do pico energético referente ao elemento ferro, na região do salto quântico Kα.

Portanto este trabalho não se responsabilizou pela realização dos experimentos de raios x, nem pela preparação das amostras para os ensaios, todos foram de responsabilidades dos autores anteriormente citados, avaliados e publicados previamente, corroborando a veracidade de seus dados.

A preparação das amostras se deu da seguinte forma: primeiro as amostras de sulfato ferroso foram pesadas e então maceradas com pilão de ágata (Figura 7), à seguir os excipientes a serem utilizados foram também pesados e macerados no pilão, até chegar a concentração desejada.

Figura 7 - Pilão de ágata utilizado para preparação das amostras

Fonte: SANTOS, 2016.

Na segunda etapa, as amostras foram peneiradas em duas granulometrias diferentes, as amostras com granulometria maior passaram pela peneira comercial com abertura de 0,5mm, enquanto que as de granulometria menor passaram pelo tamis (Figura 8) com abertura de 75µm.

Este material passante pelas peneiras foi então pesado e 1 grama foi retirada pra prensagem das pastilhas. Foi utilizado um molde circular de aço, coberto com filme PVC, para evitar contaminação das amostras. O molde preenchido com o filme e a massa da amostra foi então submetido a compressão hidráulica de 7 toneladas por 3 minutos, para a formação total das pastilhas. Foram preparadas amostras cilíndricas com 1cm de diâmetro e 1mm de espessura que seriam então caracterizadas através da fluorescência de raios x.

Figura 8 - Tamis com abertura de 75µm

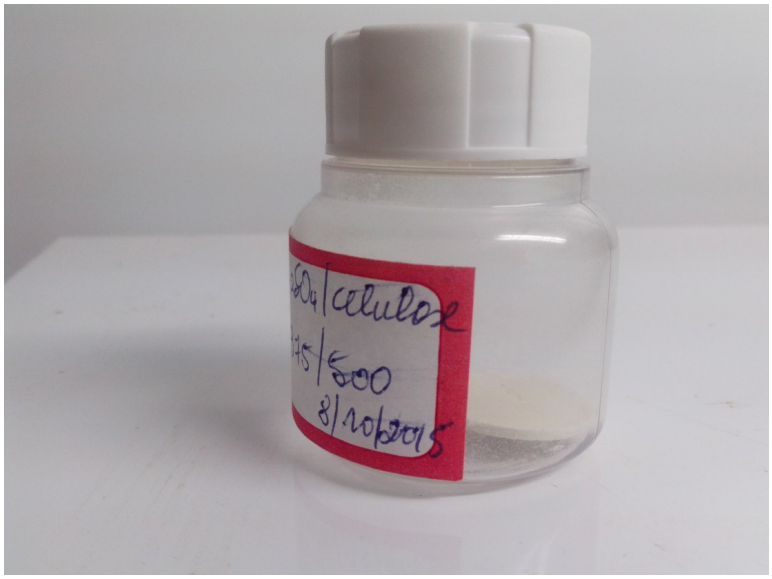
Fonte: SANTOS, 2016.

A seguir a Figura 9 apresenta uma amostra triturada e a Figura 10 uma amostra já em pastilha, ambas armazenadas em recipiente plástico inerte.

Figura 9 - Amostra produzida a partir de fármaco, triturada e armazenada em recipiente plástico

Fonte: O Autor, 2017.

Figura 10 - Amostra produzido a partir de fármaco, em pastilha e armazenada em recipiente plástico



Fonte: O Autor, 2017.

Para a realização dos experimentos de fluorescência de raios x, O equipamento utilizado é um espectrômetro da AMPTEK®, composto por um tubo de raios X de 50 kV e 50

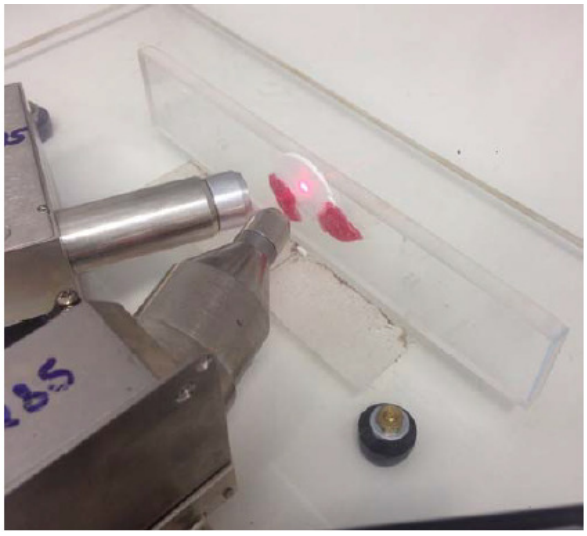
µA (contínuo) com anodo de Au, um detector de silício (Si) do tipo 123, microcomputador e software de aquisição e análise dos dados (DppMCA®). Os raios X característicos captados pelo detector e processados são representados em forma de gráficos adquiridos através do software DppMCA®. Como parâmetros foram utilizados 15kV, 15µA e 600 segundos em cada experimento.

A Figura 11 mostra o equipamento MINI-X utilizado, a Figura 12 mostra um dos experimentos em andamento.

Figura 11 - Conjunto emissor e detector de raios x AMPTEK

Fonte: AMPTEK, 2017.

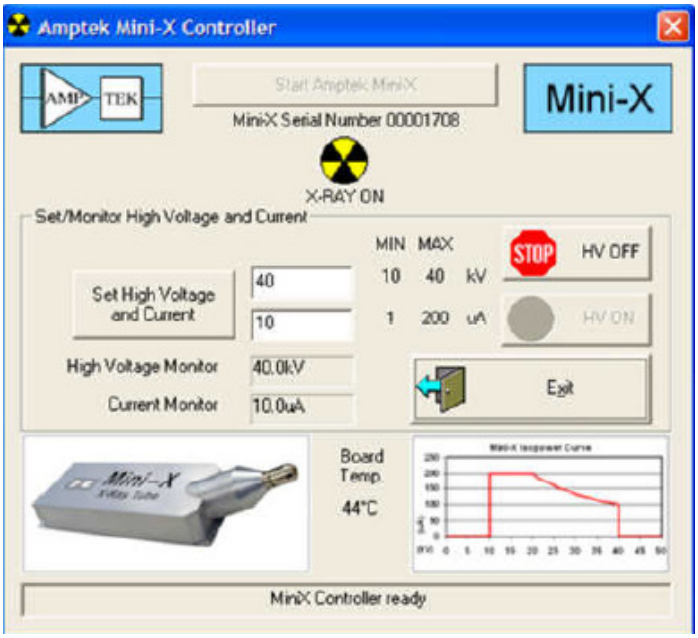
Figura 12 - Experimento sendo realizado na amostra em pastilha



Fonte: SANTOS, 2016.

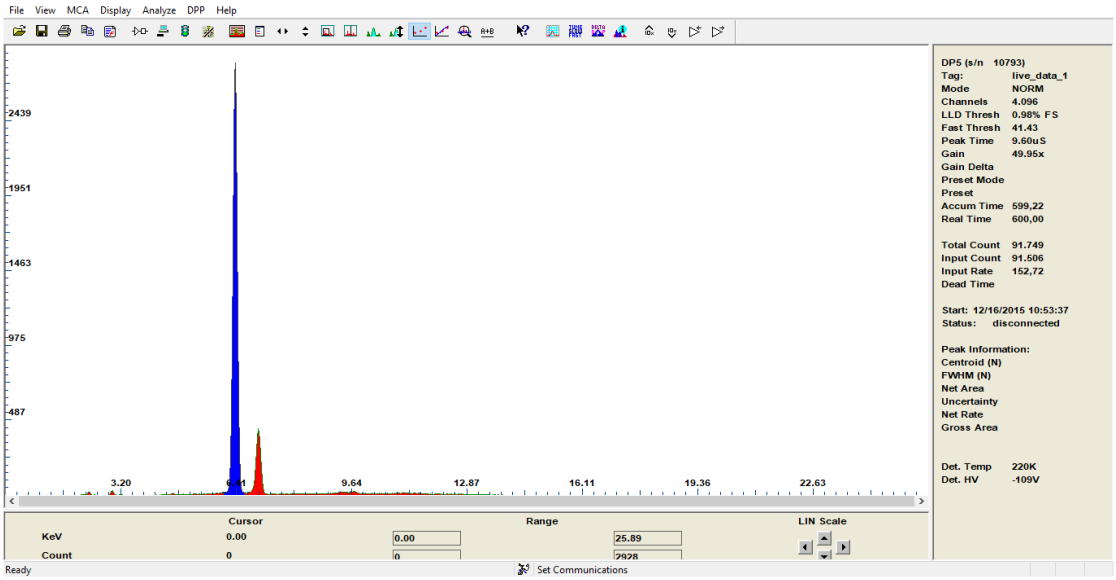
As Figuras 13 e 14 mostram a interface do software DppMCA.

Figura 13 - Interface do software DppMCA para inserção de parâmetros de entrada



Fonte: AMPTEK, 2017.

Figura 14 - Interface do software DppMCA, espectro obtido em um dos experimentos, com região de interesse destacada em azul



Fonte: O Autor, 2018.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Definidos os fatores de entrada e seus respectivos níveis de variação, é possível construir a Tabela 4, com fatores e convenção de sinais para suas representações.

Tabela 4 - Fatores e convenção de sinais para suas representações

Fatores	(-)	(+)
1 Granulometria	0,5mm	75µm
2 Concentração	160mg	375mg
3 Excipiente	Lactose	Celulose

Fonte: O Autor, 2018.

Pode-se notar que a granulometria e a concentração são fatores quantitativos enquanto que o excipiente é o único fator qualitativo.

Definidas as variáveis de entrada e seus níveis é possível confeccionar a matriz de planejamento. A Tabela 5, a seguir, contém listados os ensaios de 1 a 8, suas respectivas respostas obtidas a partir da área do pico Kα do ferro obtida em cada experimento e as representações dos fatores e seus níveis observados em cada experimento, conforme convenção adotada na Tabela 4 anteriormente.

Tabela 5 - Resultados do planejamento fatorial 2^3 para estudar os efeitos da granulometria, da concentração e do excipiente na caracterização de ferro em fármacos

Ensaio	Fatores			Resultados
	1	2	3	Área Pico Kα
1	-	-	-	65371
2	+	-	-	68635
3	-	+	-	77047
4	+	+	-	80841
5	-	-	+	62765
6	+	-	+	65322
7	-	+	+	78456
8	+	+	+	82886

Fonte: O Autor, 2018.

3.1 Cálculo dos efeitos

Os efeitos principais podem ser calculados individualmente, seguindo suas definições previamente apresentadas, conforme mostrado abaixo:

$$G = \frac{\breve{y}_2 - \breve{y}_1 + \breve{y}_4 - \breve{y}_3 + \breve{y}_6 - \breve{y}_5 + \breve{y}_8 - \breve{y}_7}{4} \quad (5)$$

$$G = \frac{68635 - 65371 - 80841 - 77047 + 65322 - 62765 + 32886 - 78456}{4}$$

$$G = 3511{,}3$$

O mesmo vale para os cálculos dos efeitos principais dos outros fatores de entrada, a concentração e o excipiente. No entanto seus resultados serão apresentados mais adiante.

Da mesma maneira, ocorre com os efeitos de interação, conforme abaixo:

$$GC = \frac{(\breve{y}_4 - \breve{y}_3) - (\breve{y}_2 - \breve{y}_1) + (\breve{y}_8 - \breve{y}_7) - (\breve{y}_6 - \breve{y}_5)}{4} \quad (6)$$

$$GC = 600{,}8$$

No entanto, a Tabela 6, permitirá calcular os efeitos principais de cada fator, 1(granulometria), 2(concentração) e 3(excipiente), três interações, 12, 13 e 23 e a interação entre os três fatores ao mesmo tempo, 123.

Tabela 6 - Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3

Média	1	2	3	12	13	23	123	Ў
+	-	-	-	+	+	+	-	65371
+	+	-	-	-	-	+	+	68635
+	-	+	-	-	+	-	+	77047
+	+	+	-	+	-	-	-	80841
+	-	-	+	+	-	-	+	62765
+	+	-	+	-	+	-	-	65322
+	-	+	+	-	-	+	-	78456
+	+	+	+	+	+	+	+	82886

Fonte: O Autor, 2018.

Para calcular o efeito da granulometria, precisamos aplicar os sinais à coluna das respostas, conforme exemplificado na Figura 15 a seguir.

Figura 15 - Matrizes para cálculo do efeito da granulometria no planejamento fatorial

$$2^3. \begin{array}{c} G \\ \begin{bmatrix} - \\ + \\ - \\ + \\ - \\ + \\ - \\ + \end{bmatrix} \end{array} \qquad \begin{bmatrix} 65371 \\ 68635 \\ 77047 \\ 80841 \\ 62765 \\ 65322 \\ 78456 \\ 82886 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \check{y}_1 \\ \check{y}_2 \\ \check{y}_3 \\ \check{y}_4 \\ \check{y}_5 \\ \check{y}_6 \\ \check{y}_7 \\ \check{y}_8 \end{bmatrix}$$

Fonte: O Autor, 2018.

Esta operação possui a seguinte resolução:

$$\mathbf{G} = \frac{-\check{y}_1 + \check{y}_1 2 - \check{y}_3 + \check{y}_4 - \check{y}_5 + \check{y}_6 - \check{y}_7 + \check{y}_8}{4} \tag{8}$$

$$\mathbf{G} - \frac{-65371 + 68635 - 77047 + 80841 - 62765 + 65322 - 78456 + 82886}{4}$$

$$\mathbf{G = 3511,3}$$

Nota-se que o valor é idêntico ao calculado anteriormente em (5).

Portanto o efeito da variação da granulometria na área dos picos Kα dos experimentos foi de 3511,3. Este procedimento pode ser repetido para cada coluna e consequentemente para o cálculo de cada efeito principal, para as interações entre dois fatores, para a interação entre os três fatores e para o efeito médio. Os resultados estão apresentados na Tabela 4 a seguir.

Tabela 7 - Resultados dos efeitos para o planejamento fatorial 2^3

Efeitos calculados para planejamento fatorial 2^3	
Média	72665,4
Efeitos principais	
Granulometria	3511,3
Concentração	14284,3
Excipiente	-616,3
Interação de dois fatores	
12	600,8
13	-17,8
23	2343,3
Interação de três fatores	
123	335,8

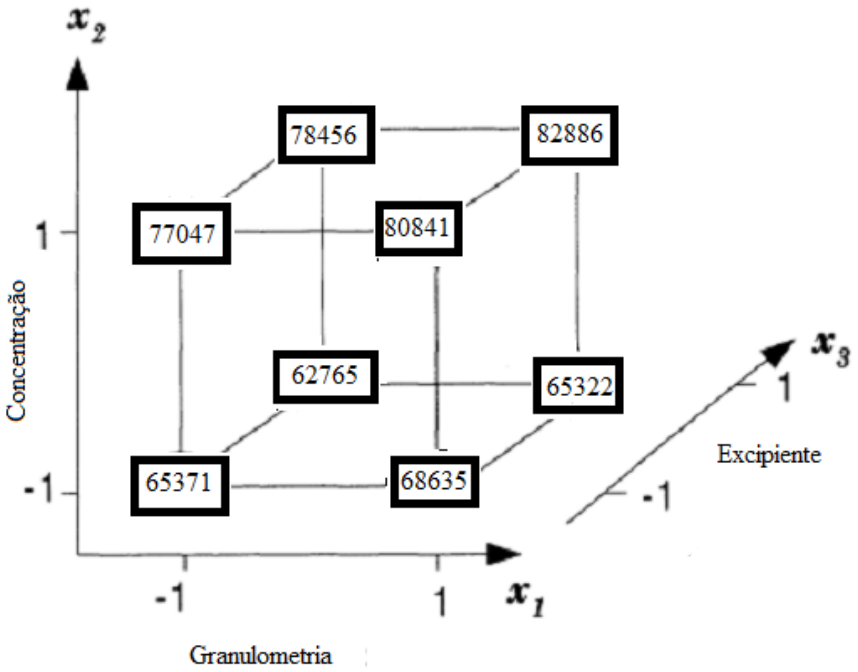
Fonte: O Autor, 2018.

Nota-se o efeito predominante da concentração, sendo este 4 vezes maior do que a granulometria. O excipiente mostra pouquíssima variação, por isto este resultado tão baixo. Os efeitos de interação se mostraram baixos, mostrando que não há interação entre os fatores. O valor um pouco mais elevado para a interação 23 pode levar a uma falsa conclusão de interação entre os dois fatores, mas se dá pela grande diferença entre a influência da concentração e pela não influência do excipiente.

3.2 Representação geométrica dos efeitos

Os efeitos de um planejamento fatorial 2^3 podem ser representados geometricamente através de um cubo, conforme Figura 16 abaixo.

Figura 16 - Representação geométrica dos resultados do planejamento fatorial 2^3



Fonte: O Autor, 2018.

É possível notar facilmente o efeito da concentração, uma vez que todos os resultados nos vértices da base do cubo representam os ensaios realizados com o nível mais baixo de concentração, enquanto que os resultados nos vértices da parte superior do cubo representam os ensaios realizados com o nível mais alto da mesma.

Outro efeito facilmente visualizado é o do excipiente, onde podemos comparar os resultados presentes nos vértices da face frontal do cubo, com os resultados da face posterior do mesmo. Nota-se que a variação entre estes é muito pequena.

CONCLUSÃO

A fluorescência de raios x foi comprovada como uma alternativa eficiente e rápida para a caracterização das amostras, tendo como diferencial em relação às outras técnicas já utilizadas, a preservação das amostras em sua totalidade para ensaios posteriores.

O planejamento fatorial 2^3 se mostrou muito efetivo na redução de ensaios e na verificação da importância dos fatores que influenciam no experimento em questão. No trabalho em que foi utilizada a amostra produzida com o fármaco de excipiente de lactose, foram realizados 18 experimentos, assim como no trabalho em que o excipiente era de base de celulose, totalizando 36 experimentos. Como foi visto, foram necessários apenas 8 experimentos no planejamento fatorial, sendo utilizados 4 de cada um dos trabalhos, uma redução de 24 experimentos no total.

Como era esperado, o fator mais influente na resposta analisada foi a concentração de sulfato ferroso, uma vez que a presença de mais átomos ferro na amostra tornou as áreas dos picos Kα deste elemento consideravelmente maiores.

Outra comprovação foi a de que a mudança do excipiente de lactose para celulose não afetou os resultados, mostrando resultados muito próximos. O que é muito importante, ao considerar que uma pessoa com intolerância a lactose teria diversos problemas ao ingerir um medicamento com tal excipiente.

Outrossim, a granulometria se apresentou como um fator pouco importante no experimento, influenciando levemente na área dos picos Kα do elemento ferro, mostrando que para as amostras que tiveram seus grãos mais distribuídos, o experimento de fluorescência de raios x foi ligeiramente mais eficaz.

Além disso, ficou evidente que não houve interação entre os fatores dois a dois e nem mesmo entre os 3 fatores ao mesmo tempo. O valor ligeiramente mais elevado para a interação 23 se deve mais a grande influência da concentração individualmente e sua disparidade em relação ao excipiente inerte.

Finalmente, a técnica do planejamento fatorial ajudou a apresentar os resultados de forma mais clara e precisa, facilitando o entendimento e a análise dos resultados, o cubo mostra que o plano superior onde todos os 4 experimentos possuem a concentração de sulfato ferroso em seu nível elevado, possui os maiores resultados para a área do pico Kα.

Sugestões para trabalhos futuros

Realização de uma nova série de experimentos, com 2 ou 3 repetições de cada ensaio para estimar o erro experimental e variância dos resultados.

Utilização de técnica de análise quantitativa para a fluorescência de raios x, para comparação com valores assumidos dos fármacos.

Buscar a viabilização de outras técnicas de caracterização para comparação dos resultados com os resultados obtidos a partir da técnica de fluorescência de raios x.

REFERÊNCIAS

ALEIXO, Luiz Manoel; SITTON, Melissa; RIBEIRO, Fabiana Alves de Lima. Estudo polarográfico sobre a determinação de Fe(III) utilizando-se a técnica da polarografia de pulso diferencial. Quím. Nova, São Paulo , v. 24, n. 6, p. 790-794, Dez. 2001 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422001000600016&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 22 Jan. 2018.

AMPTEK. DPPMCA Display and Acquisition Software. Disponível em: < http://amptek.com/products.html>. Acesso em: 20 de dez. 2017.

ASSIS, J. T. et al. Fluorescência de raios x: metodologia para avaliação de metais presentes em medicamento. In: ENCONTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, 5., 2014, Petropolis. V Encontro de Ciência e Tecnologia de Materiais. UCP, Petrópolis, 2014.

BACON, Bruce R. et al. Diagnosis and Management of Hemochromatosis: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. AASLD practice guideline, Hepatology, Vol. 54, No. 1, 2011.

BARROS NETO, Benício de; SCARMINIO, Ieda Spacino; BRUNS, Roy Edward. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2.ed. Campinas, Editora UNICAMP, 2001.

BERTIN, E. P. Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis. London: Plenum Press, 1975.

BLOOM, P.D.; GORDEUK, V.R.; MACPHAIL, A.P. HLA-linked hemochromatosis and other forms of iron overload. Dermatol Clin, v. 13, p.57–63,1995.

BOUMANS, P.; R. KLOCKENKÄMPER, (Eds) Total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Proc. of the Second Workshop on TXRF, Dortmund, 26-27 May, 1988. Spectrochim. Acta, v. 44B, p. 433, 1989.

BRASIL. Ministério da saúde. Coordenação geral da política de alimentação e nutrição. Oficina de trabalho. Carências Nutricionais: Desafio para Saúde Pública. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRASIL. RDC 134 de 13 de Julho de 2001. Dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. (revogada)

BRASIL. RDC 17 de 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.

BRITTON, R.S. et al. Pathophysiology of iron toxicity. Adv Exp Med Biol, v. 356, p.239–253, 1994.

CARVALHO, Gisela Del Fava et al. Avaliação das medidas de XRF em amostras preparadas com celulose microcristalina e óxido de ferro. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA DA ESTÁCIO, 7., 2015, Rio de Janeiro. VII Seminário de Pesquisa da Estácio e III Jornada de Iniciação Científica da UNESA. Rio de Janeiro, 2015. p.73.

CASSIANI, S. H. B. A segurança do paciente e o paradoxo no uso de medicamentos. Rev. bras. enferm. vol.58, no.1, Jan./Fev. 2005.

DEMAYER, E.; ADIELS-TEGMAN, M. The prevalence of anaemia in the world. World Health Statist Quart, v. 38, p. 302-16, 1985.

DEMAYER, E. et al. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care: a guide for health administrators and programme managers. Geneva: World Health Organization, 1989.

DEUS, F. J. T. de; SÁ, P. F. G. de. Evolução da normatização de boas práticas de fabricação (bpf) e o seu impacto na qualidade de medicamentos comercializados no brasil. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU DA PUC, 6., 2011, Goiania. 6ª Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Lato Sensu da PUC. Goiás, 21 out. 2011. Goiânia, 2011.

DICIONÁRIO priberam da língua portuguesa. Disponível em: <https://www.priberam.pt/dlpo/excipiente> Acesso em: 2 jan. 2018.

IAEA. Radioisotope X-ray fluorescence Spectrometry. Internacional Atomic Energy Agency, Technical Reports series, no.115, 1970. 102 p.

INACG. Iron deficiency in infancy and childhood. Geneva: International Nutritional Anemia Consultative Group/World Health Organization, 1979.

JENKINS, R. et al. Quantitative X-ray Spectrometry. New York: Marcel Dekker, 1981. 588 p.

JORDÃO, Regina Esteves; BERNARDI, Júlia Laura D.; BARROS FIILHO, Antônio de Azevedo. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. Rev. Paul. Pediatr. São Paulo, v. 27, p.90-98, 2009.

KATSANOS, A. A. X-Ray Methods. In: IAEA, ed. - Elemental Analysis of Biological Materials. Viena, IAEA, Technical Reports series no. 197, 1980. p. 231.

KAWANO, D. F. et. al. Acidentes com os medicamentos: como minimizá-los? Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas (Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences) vol. 42, n. 4, out./dez., 2006.

LICHTMAN, Stuart M. et al. Secondary Hemochromatosis as a Long-Term Complication of the Treatment of Hematologic Malignancie. American Journal of Hematology, v. 61, p.262–264, 1999.

LOZOFF, B.; JIMENEZ, E.; WOLD, A. Long-term development outcome of infants with iron deficiency. N Engl J Med, n. 325, p. 687-94, 1991.

MANCINI, Maria Aparecida Donnini; ZUANON NETTO, José; VALLADAO, Dênia Mendes de Sousa. Determinação do íon ferro em preparações farmacêuticas através da cromatografia planar e espectrofotometria. Eclet. Quím., São Paulo , v. 22, p. 133-145, 1997 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46701997000100012&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 22 jan. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de Informações da Atenção Básica -e-SUS <http://dab.saude.gov.br/ portaldab/esus.php>. Acesso em: 15 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria No 1920 de05/19/2013, de 05/09/2013, Estratégia Nacional para Promoção do Aleitamento Materno e Alimentação Complementar Saudável no Sistema Único de Saúde (SUS) -Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil; em < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt1920_05_09_2013.html > acesso em 15 dez. 2017

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema Nacional de Gestão da Assistência Farmacêutica – HORUS. <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/área.cfm?id_area=1675>, acesso em 15 dez. 2017.

MONTEIRO, Carlos Augusto; SZARFARC, Sophia Cornbiuth; MONDINE, Lenise. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo. (1984-1996). Revista de Saúde Pública, São Paulo, v. 34, p.62-72, 2000. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102000000700009 Acesso em: 5 set. 2017.

NASCIMENTO FILHO, V.F. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios x por dispersão de energia (ed-xrf) e por reflexão total (txrf). Departamento de Ciências Exatas/ESALQ Lab. de Instrumentação Nuclear/CENA,1999.

OLIVEIRA, R.S. et al. Magnitude, geographic distribution and trends of anemia in preschoolers, Brazil. Rev Saude Publica, n. 36, p. 26-32, 2002.

OSÓRIO, M.M. et al. Prevalence of anemia in children 6-59 months old in the state of Pernambuco, Brazil. Rev Panam Salud Publica, n. 10, p. 101-7, 2001.

REZIER, A. N. de S. Uso da técnica de edxrf na análise de gemas semi preciosas brasileira. 2017. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Materiais) - Instituto Politécnico do Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, 2017.

SAKAMOTO, L.M. Estudo comparado entre os aumentos de ferremias, determinados sem a administração prévia de ferro, após administrações de sulfato ferroso, e complexo ferro-peptídeo. 2007. 114 p. Tese (Doutorado) – Universidade de Saõ Paulo, Ribeirão Preto, 2007. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/ disponiveis/17/17138/tde-15072003-122244/pt-br.>. Acesso em: 21 dez. 2017.

SANTICH, I. R. et. al. Buenas practices de manufactura vigentes: inspección y auditoria: curso teórico-práctico. Módulo 1, 2ª Ed. Departamente de Farmácia, Universidad Nacional de Colômbia, Bogotá, Colômbia. 1994.

SANTOS, F. B. L. dos. Estudo da influência da granulometria na mistura de sulfato ferroso e lactose por EDXRF. 2017. 29f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Mecânica) - Instituto Politécnico do Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, 2017.

SIEGBAHN, (Ed.) Alpha, Beta and Gamma-Ray Spectroscopy. Amsterdam: North-Holland, 1965. 959 p.

SILVA, M. L. da, Aplicação da termogravimetria na determinação do teor de ferro em comprimidos: um estudo comparativo coma espectrofotometria. 2013. 117f. Dissertação de Mestrado (Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

REDÍGOLO, M. M. Determinação de elementos químicos inorgânicos em amostras de sangue total humano e de animais de experimentação (hamster dourado e cavalo da raça crioula) pela técnica de fluorescência de raios X (EDXRF). 70f. Dissertação de Mestrado (Ciências na área de tecnologia nuclear – materiais) Instituto De Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.

TUBINO, M.; SIMONI, J. A. Refletindo sobre o caso Celobar®. Quím. Nova, v. 30, n. 2, Mar./Apr. 2007.

UNICEF. The state of the world's children. New York: Oxford University Press, 1998.

WALTER, T. et al. Iron deficiency anemia: adverse effects on infants psychomotor development. Pediatrics, v. 84, p. 7-17, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. WHO/NDH/01.3. Geneve: WHO/NHD, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Nutritional anaemias. Geneva: WHO, 1968. (Technical Report Series, 405)

ANEXO A - Avaliação das medidas de XRF em amostras preparadas com celulose microcristalina e óxido de ferro

Avaliação das medidas de XRF em amostras preparadas com celulose microcristalina e óxido de ferro

Autor(es): Gisela Del Fava de Carvalho; Gil de Carvalho; Bruno di Lello; Joaquim Teixeira de Assis

Palavra(s) Chave(s): Fluorescência de Raios X; medicamentos; sulfato ferroso; caracterização de amostras

RESUMO

No presente trabalho foram analisados os resultados de diversas medidas em amostras homogeneizadas manualmente de celulose microcristalina e sulfato ferroso (FeSO4) utilizando a técnica de Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia (EDXRF). A EDXRF é uma técnica de baixo custo e eficiente de controle e garantia da presença de Fe em amostras de diversos tipos. A técnica de EDXRF permite resultado quali-quantitativo a partir da intensidade dos raios X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra, a partir das transições de níveis atômicos, que são únicos para cada elemento químico. O equipamento utilizado é um espectrômetro da AMPTEK®, composto por um tubo de raios X de 50 kV e 50 µA (contínuo) com anodo de Au, um detector de silício (Si) do tipo 123, microcomputador e programas de aquisição e análise dos dados (DPPMCA®). Foram preparadas quatro amostras cilíndricas com 1cm de diâmetro e 1mm de espessura para as proporções de 83,3mg, 166,6mg, 250mg e 300mg de FeSO4 para 500mg de celulose. As amostras foram misturadas manualmente com a utilização de um cadinho de ágata, de modo a evitar contaminação externa. Foram realizadas 3 medidas em diferentes pontos em cada amostra e com o tempo de medida de 10 minutos. Foram utilizados para os resultados apenas as intensidades do pico k-alfa do ferro. Devido à característica desse tipo de medida, os resultados apresentam uma dispersão segundo a distribuição de Poison com erro calculado pela raiz quadrada do resultado. Todos os resultados ficaram dentro do limite de um sigma. Os resultados mostraram que nesse tipo de experimento é importante realizar medições em

pontos distintos por conta da não total homogeneidade das amostras e pela própria característica da técnica de EDXRF utilizada. Foi observada também uma linearidade nas intensidades da linha k-alfa medidas, o que pode servir para avaliação de amostras desse tipo com concentração de ferro desconhecida. Novas amostras devem ser preparas com outras concentrações para verificar melhor a linearidade obtida e também melhorar o processo de homogeneização na preparação das amostras.

ANEXO B - Estudo da influência da granulometria na mistura de sulfato ferroso e lactose por EDXRF

SANTOS, Felipe Bonafé Ladeira dos. *Estudo da influência da granulometria na mistura de sulfato ferroso e lactose por EDXRF* , 2017. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecânica) - Instituto Politécnico, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, 2017.

O presente estudo visou observar a influência da granulometria na análise da mistura de sulfato ferroso e lactose, mediante a utilização da técnica de Fluorescência de Raios X por dispersão de Energia (EDXRF). A XRF é uma técnica não-destrutiva de baixo custo e eficiente, de controle e garantia da presença de ferro na composição de diversos materiais. A técnica de EDXRF permite obter resultado qualitativo e quantitativo a partir dos raios X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra. O equipamento utilizado foi uma montagem experimental da AMPTEK, com um tubo de raios-X operado a 15 kV e 15 mA (contínuo), um espectrômetro 123(SDD), microcomputador e programa de aquisição e análise dos dados da AMPTEK. Por comparação dos resultados obtidos, observou-se certa diferença entre os resultados das amostras com mesma concentração, mas granulometrias diferentes. A área do pico de energia foi maior para as amostras de granulometria menor.

Palavras-chave: Fluorescência de Raios X. Lactose. Sulfato ferroso. Caracterização de amostras.