

# PRODUÇÃO DE MICRO-ESFERAS DE PARAFINA POR SUSPENSÃO USANDO PVP COMO AGENTE ESTABILIZANTE

K. L. RESENDE<sup>1</sup>, T. J. LOPES<sup>2</sup> e G. A. FERNANDES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI, Instituto de Engenharia Mecânica

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Escola de Química e Alimentos/ Campus Santo Antônio da Patrulha

E-mail para contato: gersonfernandes@unifei.edu.br

**RESUMO** – O presente trabalho objetivou a produção de micro-esferas de parafina, que tem função de atuar como agente porogênico na fabricação de arcabouços porosos. Os ensaios experimentais foram feitos em sistemas em suspensão. Sendo, posteriormente, avaliada a influência de 3 fatores de processo utilizando técnicas de planejamento experimental: A) Concentração de sulfato de sódio como coagulante (3 e 9 g/L), B) Concentração de poli(pirrolidona vinílica) (PVP) como estabilizante (4 e 12 g/L) e C) Agitação (500 e 600 rpm). Estatisticamente, os melhores resultados para o diâmetro das partículas de parafina foram obtidos utilizando agitação de 580 a 640 rpm ( $d_{10} = 340$  a 380  $\mu\text{m}$ ). Sendo que para obtenção de partículas com diâmetros menores, o aumento da concentração de PVP, se mostra importante juntamente com o aumento da agitação.

## 1. INTRODUÇÃO

Para uma melhor ancoragem de biomateriais ao tecido vivo faz-se necessário o uso de um suporte que permita o crescimento celular, sendo este suporte chamado de arcabouço (Ma e Langer, 1995; Liu e Ma, 2004; Machado e Santos, 2009). O uso de arcabouços porosos permite que a células cresçam através dos poros, fixando-os melhor ao organismo e reduzindo o tempo de recuperação do paciente. Alguns estudos na produção de arcabouços porosos de matrizes de PLGA (Shum *et al.*, 2005), poli (ácido DL-láctico-co-glicólico), e de alfa-TCP (alfa-fosfato tricálcico) utilizaram partículas de parafina obtidas por suspensão (Machado e Santos, 2009).

O tamanho da partícula de parafina é um fator importante, pois é que determina o tamanho dos poros nos arcabouços. E o tamanho dos poros é considerado o critério mais importante para um crescimento continuado do tecido ósseo no interior dos poros, devido ao tamanho das células, necessidades de vascularização e difusão de nutrientes. Foi estabelecido um tamanho ideal de poro entre 100 e 150  $\mu\text{m}$ , mas há trabalhos que mostram um bom crescimento ósseo dentro de poros com tamanhos variando de 50 a 125  $\mu\text{m}$  (Itala *et al.*, 2001).

Vários fatores influenciam no tamanho de partículas obtidas por suspensão como: velocidade de agitação; uso de agentes estabilizadores e surfactantes; etc. A agitação do sistema tem como objetivo formar as gotas que se transformarão em partículas sólidas, pelo resfriamento. O uso de agentes

estabilizadores, numa suspensão, tem como função evitar a coalescência das gotas orgânicas suspensas nessa fase e também dar forma esférica estabilizando as gotas formadas (Machado *et al.*, 2007). O agente estabilizante forma um filme ao redor da gotícula da parafina, tendo a sua parte hidrofóbica voltada para a gota e a parte hidrofílica voltada para o meio contínuo.

Existem vários métodos de análise para determinar o tamanho e a distribuição de tamanho de um sólido particulado. Neste trabalho foram utilizados para a análise de resultados os métodos do Diâmetro Linear Médio ( $d_{10}$ ), Média Superficial dos Diâmetros ( $d_{32}$ ) e da Média Volumétrica dos Diâmetros ( $d_{43}$ ), (Rawle, 2013).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção das micro-esferas de parafina

Na obtenção de parafina na forma de micro-esferas utilizou-se um béquer de vidro ( $V=1$  L) contendo 500 mL de água deionizada, onde foi adicionado diferentes concentrações do estabilizante poli(pirrolidona vinílica), PVP, (Vetec) e adições do coagulante sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) (Vetec). Esta solução foi aquecida a  $60^\circ\text{C}$  e foi adicionada a parafina comercial (Vetec) e aguardada sua total fusão ( $65^\circ\text{C}$ ). Colocou-se o sistema sob agitação mecânica durante 3 min., e então foi realizado um resfriamento rápido. As esferas foram então lavadas com água destilada e filtradas a vácuo.

Depois de secas a temperatura ambiente as micro-esferas foram separadas por meio de peneiramento em diferentes faixas granulométricas. Foram calculados o diâmetro médio e a dispersão para cada ensaio.

### 2.2. Planejamento experimental para o PVP

O planejamento experimental é uma ferramenta utilizada em muitos processos de análise, formulações de novos sistemas de operações e aprimoramento de sistemas de operações usuais. Na obtenção da parafina foi avaliada a influência das seguintes variáveis: A) Concentração do sulfato, B) Concentração do estabilizante (PVP) e C) Agitação do sistema; com seus respectivos níveis de variação mostrados na Tabela 1. Foi adotado um planejamento experimental fatorial completo  $2^3$ .

Tabela 1 - Fatores e níveis estudados no planejamento experimental.

	Níveis codificados	
	-1	+1
Conc. de sulfato de sódio (g/L)	3	9
Conc. de estabilizante (g/L)	4	12
Agitação (rpm)	400	600

Inicialmente, foi determinada a matriz experimental a ser utilizada para a triagem dos fatores e seus níveis. Posteriormente, foram realizados os experimentos para verificar a influência destes na granulometria da parafina ( $d_{10}$ ,  $d_{32}$  e  $d_{43}$ ). Os resultados obtidos foram analisados através do *software*

Statistica<sup>®</sup> utilizando a Metodologia das Superfícies de Resposta (MSR) com o objetivo de obter as condições ótimas de operação.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um planejamento fatorial completo  $2^3$  foi utilizado para avaliar a influência das variáveis: A) Concentração de Sulfato, B) Concentração de estabilizante (PVP) e C) Agitação do sistema, com níveis codificados predefinidos, sobre o diâmetro de corte das partículas de parafina. A Tabela 2 mostra a matriz de planejamento completo  $2^3$  e as respostas obtidas para cada ensaio.

Tabela 2 - Matriz do planejamento experimental  $2^3$ , com suas respectivas respostas.

Ensaio	Fatores			Respostas		
	Conc. Sulfato de Sódio (g/L)	Conc. de PVP (g/L)	Agitação (rpm)	d <sub>10</sub> (µm)	d <sub>32</sub> (µm)	d <sub>43</sub> (µm)
1	3(-1)	4(-1)	400(-1)	512,518	908,907	1059,714
2	9(+1)	4(-1)	400(-1)	535,804	829,909	975,566
3	3(-1)	12(+1)	400(-1)	425,830	723,010	893,304
4	9(+1)	12(+1)	400(-1)	432,394	755,376	927,354
5	3(-1)	4(-1)	600(+1)	339,172	547,911	735,389
6	9(+1)	4(-1)	600(+1)	370,469	558,561	725,134
7	3(-1)	12(+1)	600(+1)	337,934	555,702	735,237
8	9(+1)	12(+1)	600(+1)	345,280	575,221	787,760

\*(-1) e (+1) são os Níveis de variação dos fatores.

#### 3.1. Diâmetro linear médio – d<sub>10</sub>

Através dos resultados obtidos na Tabela 2, realizou-se uma análise dos efeitos das três variáveis independentes estudadas sobre as respostas d<sub>10</sub> obtidas nos experimentos e seus respectivos índices estatísticos, que é apresentada na Tabela 3.

Nota-se pela Tabela 3 que os efeitos principais de Concentração de PVP (B) e agitação (C) e a interação de segunda ordem (BC) são estatisticamente significativos para o nível de confiança adotado de 95%, pois o fato do intervalo de confiança não conter o número zero indica que o fator em análise não apresenta efeito nulo, ou seja, ser considerado significativo no nível de confiança testado. Também, foi obtido um valor para o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) de 0,9998.

Em relação à análise do sinal algébrico dos efeitos encontrados, estes estão de acordo com o conhecimento que se tem dos fenômenos envolvidos. No que diz respeito à agitação (C) um aumento desta contribui para um menor diâmetro linear médio das partículas presentes no final do processo de

obtenção das micro-esferas de parafina. O PVP atua como estabilizante das partículas evitando o seu agrupamento, que com o aumento da concentração no sistema induz a obtenção de partículas de diâmetro menor. No caso da concentração de sulfato um aumento da quantidade desta variável influencia a obtenção de um maior diâmetro da parafina, tendo uma interação diretamente proporcional com a resposta.

Tabela 3- Cálculos dos efeitos e respectivos índices estatísticos em relação à resposta  $d_{10}$ .

	Efeito	Desvio padrão	Teste t de Student	Nível p	-95% Limite de confiança	+95% Limite de confiança
Média/Interações	412,43	0,90	456,42	0,00	400,94	423,91
(A) Conc. de sulfato (g/L)	17,12	1,81	9,47	0,07	-5,84	40,09
(B) Conc. de PVP (g/L)	-54,13	1,81	-29,95	0,02	-77,09	-31,17
(C) Agitação (rpm)	-128,42	1,81	-71,06	0,01	-151,39	-105,46
(1) AB	-10,17	1,81	-5,63	0,11	-33,13	12,79
(2) AC	2,20	1,81	1,22	0,44	-20,76	25,16
(3) BC	40,92	1,81	22,64	0,03	17,95	63,88

### 3.2. Diâmetro médio de Sauter – $d_{32}$

A Tabela 4 mostra a análise dos efeitos das variáveis de estudo sobre a resposta  $d_{32}$  obtida nos experimentos e seus respectivos índices estatísticos, realizados a partir da matriz do planejamento experimental  $2^3$  (Tabela 2).

Tabela 4 - Cálculos dos efeitos e respectivos índices estatísticos em relação à resposta  $d_{32}$ .

	Efeito	Desvio padrão	Teste t de Student	Nível p	-95% Limite de confiança	+95% Limite de confiança
Média/Interações	681,82	12,81	53,22	0,01	519,04	844,61
(A) Conc. de sulfato (g/L)	-4,12	25,62	-0,16	0,90	-329,69	321,46
(B) Conc. de PVP (g/L)	-58,99	25,62	-2,30	0,26	-384,57	266,58
(C) Agitação (rpm)	-244,95	25,62	-9,56	0,07	-570,53	80,63
(1) AB	30,06	25,62	1,17	0,45	-295,52	355,64
(2) AC	19,20	25,62	0,75	0,59	-306,38	344,78
(3) BC	71,22	25,62	2,78	0,22	-254,36	396,80

Pode-se notar pela Tabela 4 que através da análise dos efeitos deste planejamento foi verificado que somente a média é estatisticamente significativa para o nível de confiança adotado de 95%, e os outros efeitos, assim como para resposta do diâmetro de corte  $d_{32}$  não são significativos. No entanto o

valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0,9906.

Em relação aos efeitos principais, o valor mais significativo encontrado foi o do fator agitação, por apresentar em termo absoluto valor maior do que os dos efeitos dos outros fatores como a concentração de sulfato e a concentração de PVP. Para os efeitos secundários provenientes das interações que ocorrem entre os fatores em estudo, observa-se que as interações (B) e (C) apresentaram valores absolutos maiores, resultados similares aos observados para o diâmetro  $d_{10}$ .

### 3.3. Média volumétrica dos diâmetros - $d_{43}$

A Tabela 5 mostra a análise dos efeitos das variáveis de estudo sobre a resposta  $d_{43}$  obtida nos experimentos e seus respectivos índices estatísticos.

Pelos resultados da Tabela 5 é possível verificar que o efeito principal da agitação (C) é estatisticamente significativo para o nível de confiança adotado de 95%, pois o fato do intervalo de confiança não conter o número zero indica que o fator em análise não apresenta efeito nulo, ou seja, ser considerado significativo no nível de confiança testado. Também, foi obtido um valor para o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9966.

Em relação à análise do sinal algébrico dos efeitos encontrados, estes estão de acordo com o conhecimento que se tem dos fenômenos envolvidos, conforme foi observado no  $d_{10}$  e  $d_{32}$ .

Tabela 5- Cálculos dos efeitos e respectivos índices estatísticos em relação à resposta  $d_{43}$ .

	Efeito	Desvio Padrão	Teste t de Student	Nível p	-95% Limite de Confiança	+95% Limite de Confiança
Média/Interações	854,93	6,93	123,41	0,01	766,91	942,95
(A) Conc. de Sulfato (g/L)	-1,96	13,85	-0,14	0,91	-178,00	174,08
(B) Conc. de PVP (g/L)	-38,04	13,85	-2,75	0,22	-214,08	138,00
(C) Agitação (rpm)	-218,10	13,85	-15,74	0,04	-394,14	-42,06
(1) AB	45,24	13,85	3,27	0,19	-130,80	221,28
(2) AC	23,09	13,85	1,67	0,34	-152,95	199,13
(3) BC	69,27	13,85	5,00	0,13	-106,77	245,31

### Análise das curvas de nível para os 3 diâmetros de corte.

Através da Figura 1, 2 e 3 podem-se observar as curvas de nível correspondentes à superfície de resposta gerada pelo modelo empírico para os diâmetros  $d_{10}$ ,  $d_{32}$  e  $d_{43}$ .

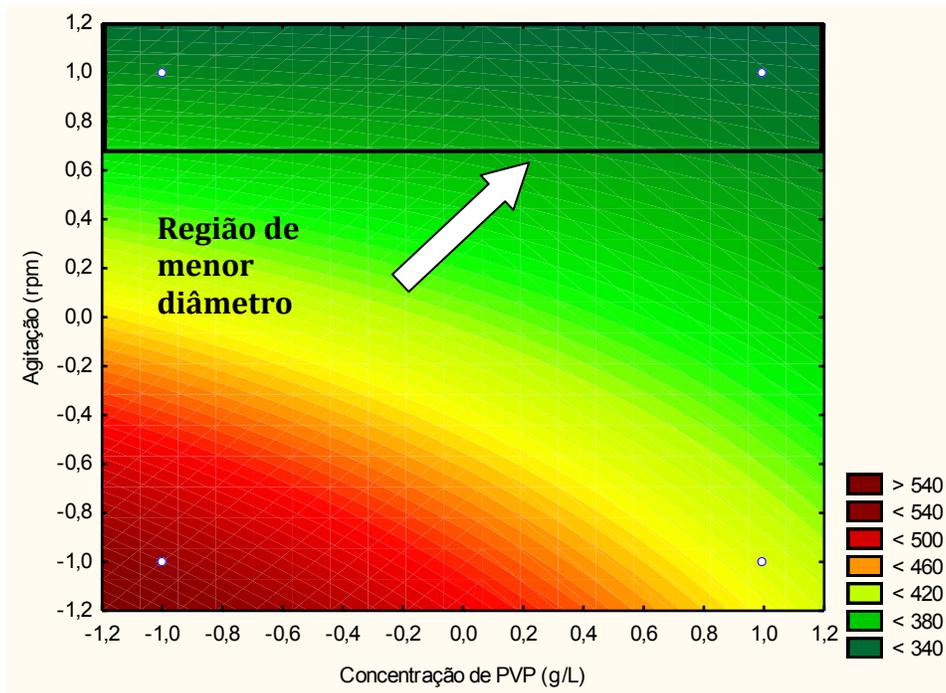


Figura 1: Curvas de nível para os fatores agitação e Concentração de PVP para o diâmetro  $d_{10}$  (Concentração de Sulfato nível 0 = 6 g/L).

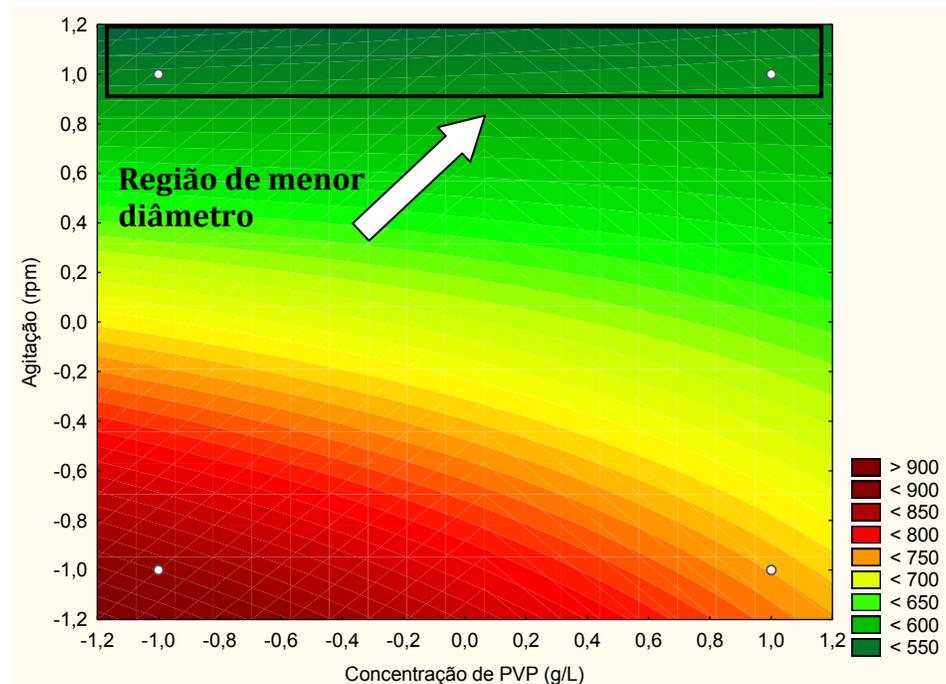


Figura 2: Curvas de nível para os fatores agitação e Concentração de PVP para o diâmetro  $d_{32}$  (Concentração de Sulfato nível 0 = 6 g/L).

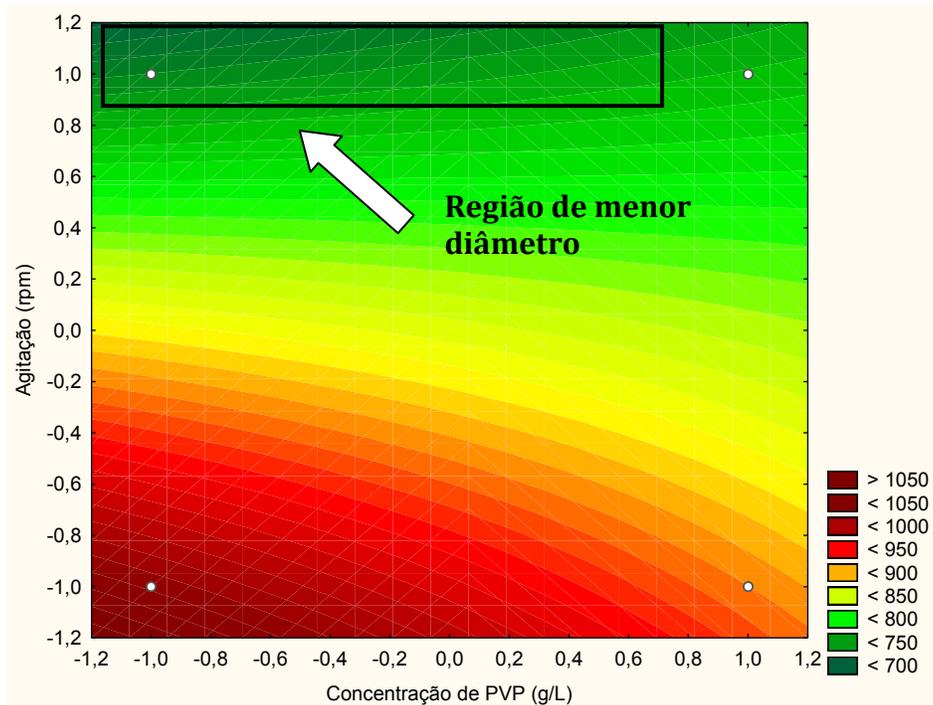


Figura 3: Curvas de nível para os fatores agitação e Concentração de PVP para o diâmetro  $d_{43}$  (Concentração de Sulfato nível 0 = 6 g/L).

Conforme mostra as Figuras 1, 2 e 3 verifica-se, principalmente, que com o aumento da agitação do sistema, o diâmetro das partículas de parafina, após o processo para os 3 diâmetros  $d_{10}$ ,  $d_{32}$  e  $d_{43}$ , encontra-se num nível mínimo na região ótima de processo em agitação 580 a 640 rpm (níveis 0,9 a 1,2). Sendo que para obtenção de partículas maiores, o fator concentração de PVP, se mostra importante juntamente com o fator agitação, o que não é observado nas áreas de menor diâmetro de partícula. O modelo para o processo de obtenção da parafina para  $d_{10}$ ,  $d_{32}$  e  $d_{43}$  é representado pelas Equações 1, 2 e 3, respectivamente.

$$d_{10} = 412,425 + 8,561 A - 27,066 B - 64,211 C - 5,084 AB + 1,099 AC + 20,459 BC \quad (1)$$

$$d_{32} = 681,825 - 2,058 A - 29,497 B - 122,476 C + 15,029 AB + 9,600 AC + 35,610 BC \quad (2)$$

$$d_{43} = 854,932 - 0,979 A - 19,019 B - 109,052 C + 22,622 AB + 11,546 AC + 34,637 BC \quad (3)$$

onde: "A" é a concentração de sulfato de sódio (g/L); B é a concentração de PVP (g/L); C é a agitação (rpm); e AB, AC e BC são as interações de segunda ordem dos fatores A, B e C.

#### 4. CONCLUSÕES

Os ensaios mostraram que o sulfato de sódio não interfere de forma significativa no filme formado de PVP ao redor das partículas. O aumento da concentração de PVP e do parâmetro de

agitação tende a diminuir o diâmetro médio das partículas e o aumento da concentração do sulfato de sódio pouco afetou o valor.

Os melhores resultados para o diâmetro das partículas de parafina foram obtidos utilizando agitação de 580 a 640 rpm ( $d_{10} = 340$  a 380  $\mu\text{m}$ ). Sendo que, os valores obtidos indicam partículas não ideais para serem usadas na fabricação de arcabouços. Verificou-se a necessidade de um acréscimo significativo na concentração de PVP e na agitação utilizadas neste estudo para alcançar a granulometria desejada. Porém, tal acréscimo pode deixar o sistema inviável economicamente.

## 5. REFERÊNCIAS

- ITALA, A. I.; YLANEN H. O.; EKHOLM C.; KARLSSON K. H.; ARO H. T. Pore diameter of more than 100 micron is not requisite for bone ingrowth in rabbits. *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 58, p. 679-683, 2001.
- LIU, X.; MA, P.X. Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Annals Biomed. Eng.*, v. 32, p. 477-486, 2004.
- MACHADO, F.; LIMA, E. L.; PINTO, J. C. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polím. Ciên. Tec.*, v. 17, p. 166-179, 2007.
- MACHADO, J.L.M.; SANTOS, L.A. Obtenção e utilização de microesferas de parafina para confecção de arcabouços teciduais em cimento de  $\alpha$ -fosfato tricálcico. *Cerâmica*, v. 55, p. 216-222, 2009.
- MA, P.X.; LANGER, R. Degradation, structure and properties of fibrous nonwoven poly(glycolic acid) scaffolds for tissue engineering. *Mater. Res. Soc. Proc.*, v. 394, p. 99-104, 1995.
- RAWLE, A. Basic principles of particle size analysis. Disponível em: <<http://www.rci.rutgers.edu/~moghe/PSD%20Basics.pdf>>. Acesso em: 03 abril 2013.
- SHUM, A. W. T.; LI, J.; MAK, A. F. T. Fabrication and structural characterization of porous characterization of porous biodegradable poly(DL-lactic-co-glycolic acid) scaffolds with controlled range of pore sizes. *Polym. Degrad. Stab.*, v. 87, p. 487-493, 2005.