

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

João Paulo Toledo Voss

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MATRIZES
HOMEOPÁTICAS DE UMA FARMÁCIA DE MANIPULAÇÃO DE MACEIÓ-AL**

Maceió

2015

João Paulo Toledo Voss

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MATRIZES
HOMEOPÁTICAS DE UMA FARMÁCIA DE MANIPULAÇÃO DE MACEIÓ-AL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José Rui Machado Reys

Maceió

2015

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico Bibliotecária
Bibliotecário: Valter dos Santos Andrade

V969a Voss, João Paulo Toledo.
Análise da influência do tempo de armazenamento na estabilidade físico-química e microbiológica de matrizes homeopáticas de uma farmácia de manipulação de Maceió- AL / João Paulo Toledo Voss. – 2015.
109 f. : il., graf., tab.

Orientador: José Rui Machado Reys.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 78-80.
Anexos: f. 81-109.

1. Homeopatia. 2. Matrizes homeopáticas. 3. Estabilidade - Medicamentos.
I. Título.

CDU: 615.077:615.015.32

Folha de Aprovação

AUTOR: JOÃO PAULO TOLEDO VOSS

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MATRIZES
HOMEOPÁTICAS DE UMA FARMÁCIA DE MANIPULAÇÃO DE MACEIÓ-AL**

Dissertação submetida ao corpo docente do
programa de Pós Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal de
Alagoas e aprovada em 30 de Março de
2015.




Prof. Dr. José Rui Machado Reys
Universidade Federal de Alagoas

Banca Examinadora:

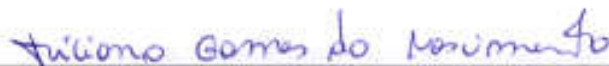


Profa. Dra. Francine Santos de Paula (Examinador Externo)

Profª Dra Francine Santos de Paula
-Diretora IQB/UFAL
SIAPB 257/170



Profa. Dra. Maria Aline Barros Fidelis de Moura (Examinador Interno)



Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento (Examinador Interno)

Dedico este trabalho a memória de três pessoas insubstituíveis em minha vida, a minha amada mãe Iris Delma e ao meu avô Rosalvo Toledo, que em seus exemplos de vida me legaram o estímulo para persistir nessa caminhada, assim como, a aquela que em vida sempre me trouxe paz e serenidade, minha iluminada avó Maria Anita. Dedico igualmente a aqueles que me sustentam e que são meu alicerce nos momentos em que existe necessidade de luta, mesmo já havendo se esvaído as forças: meus queridos irmãos, minha tia Tânea, meu pai, meus sobrinhos maravilhosos e meus inestimáveis amigos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Rui Machado Reys, pelo apoio, paciência e motivação

Aos professores da ESENFAR e do IQB da UFAL, pelos preciosos ensinamentos proferidos.

As queridas Ana Paula e Kátia Barboza, pelo apoio sempre disponível, incentivo e confiança em mim depositados incessantemente nesta caminhada.

A estimada Aphra Fernanda, pelos inúmeros plantões em que me substituiu no Hospital Geral do Estado de Alagoas, sem os quais não teria conseguido prosseguir.

Ao amigo e colega de trabalho, Lindon Johonson, pelo apoio pessoal e profissional nos momentos de necessidade.

Aos farmacêuticos Eli Carlos e Venício, que em seus exercícios na Coordenação de Farmácia e Bioquímica da Secretaria Municipal de Saúde de Maceió, me concederam a disponibilidade necessária para a realização deste mestrado.

As farmacêuticas Tânea e Liliane por todo apoio prestado e todo material cedido para que fosse possível a realização desta pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

“A perseverança é mais eficaz do que a violência, e muitas coisas que, quando reunidas, são invencíveis, cedem a quem as enfrenta um pouco de cada vez.”

Plutarco

RESUMO

O presente trabalho avalia a influência do tempo de armazenamento sobre a estabilidade físico-química e microbiológica em matrizes homeopáticas. Visa então ponderar acerca da real validade dessas matrizes, considerando que as mesmas só podem ser avaliadas quanto a esses aspectos, devido às características das diluições infinitesimais, em que a composição química é relativa ao veículo e não ao soluto. Na avaliação da estabilidade físico-química, foram aplicados três métodos de análise, referentes à determinação do teor alcoólico, sendo estes, o método farmacopéico da densidade relativa, como método de referência e dois métodos complementares não farmacopéicos: cromatografia gasosa (CG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Para a avaliação da estabilidade microbiológica, foi realizada a cultura de microorganismos em placa, sendo dois métodos distintos empregados, o descrito na Farmacopéia dos Estados Unidos e aceito pela Farmacopéia Brasileira, atualmente em vigor, e um método complementar de origem não farmacopéica. Por meio deste trabalho observa-se que as análises físico-químicas, cujos títulos etanólicos devem manter níveis iguais ou superiores a 77% v/v ou 70% m/m, não obtiveram valores consistentes, em decorrência de um erro no processo de produção das matrizes, o que inviabilizou inferências quanto à estabilidade físico-química. Já no tocante às análises microbiológicas das matrizes homeopáticas, observa-se que sendo estas armazenadas de maneira adequada, a integridade microbiológica é conservada por um período de 25 anos, fato denotado pela ausência de crescimento de microorganismos mesofílicos ou crescimento dentro dos limites aceitos pela Farmacopéia Brasileira e através da constatação de ausência de patógenos.

Palavras-chave: Homeopatia. Matrizes homeopáticas. Estabilidade.

ABSTRACT

This study evaluates the influence of storage time on the physicochemical and microbiological stability in homeopathic matrices. Has the purpose then ponder the real validity of these matrices, whereas the same can only be evaluated on these matters due to the characteristics of infinitesimal dilutions where the chemical composition is related to the vehicle and not the solution. In evaluating the physical and chemical stability, were applied three methods of analysis relating to the determination of the alcohol content, the latter being the pharmacopeial method of relative density as the reference method and two non pharmacopoeia complementary methods: gas chromatography (GC) and differential scanning calorimetry (DSC). For the evaluation of microbiological stability, culture of microorganisms was held on board, two different methods employed, as described in the United States Pharmacopeia and accepted by the Brazilian Pharmacopoeia, currently in force, and a complementary method of not pharmacopoeia origin. Through this study it was observed that the physico-chemical, ethanol whose securities must maintain the same or higher levels to 77% v/v or 70% m/m, did not obtain consistent values, due to an error in the production process of matrices, it was not possible inferences as to the physical and chemical stability. About the microbiological testing of homeopathic matrices, it is observed that these being stored properly, the microbiological integrity is retained for a period of 25 years, a fact denoted by the absence of growth of mesophilic microorganisms or growth within the limits accepted by Brazilian Pharmacopoeia and through the observation of absence of pathogens.

Keywords: Homeopathy. Homeopathic matrices. Stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da Escala Decimal	21
Figura 2 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da escala centesimal	22
Figura 3 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da escala cinquenta milesimal	23
Figura 4 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através do método Korsakoviano	24
Figura 5 – Modelo de aparelho dinamizador através de fluxo contínuo	25
Figura 6 – Alcoômetro Gay-Lussac com termômetro	28
Figura 7 – Divisão centesimal do alcoômetro	28
Figura 8 – Picnômetro de 50 mL com termômetro	29
Figura 9 – Partição em cromatografia gás-líquido	32
Figura 10 – Adsorção em cromatografia gás-sólido	33
Figura 11 – Vista da seção transversal de um injetor com opção de divisão de fluxo	35
Figura 12 – Coluna recheada	36
Figura 13 – Coluna capilar em sílica fundida	36
Figura 14 – Diagrama de chaveamento da ponte de um DCT com duas células	38
Figura 15 – Vista da seção transversal de um esquema de detector de ionização em chama	39
Figura 16 – Formação e movimentação dos íons e da corrente elétrica utilizando um DIC	40

Figura 17 – Curvas de aquecimento: a) quando não ocorre nenhum evento; b) quando ocorre processo exotérmico; c) idem b, porém para sistema térmico diferencial; d) quando ocorre processo endotérmico; e) idem d, porém para sistema térmico diferencial	45
Figura 18 – Curva genérica para um experimento DSC com fluxo de calor. I) mudança de linha de base sem pico; II e III) picos endotérmicos; IV) pico exotérmico	46
Figura 19 – Papel indicador universal de pH MERCK	52
Figura 20 – Picnômetro com termômetro, capacidade de 5mL	53
Figura 21 – Cromatógrafo SHIMADZU CG Plus 2010	55
Figura 22 – Equipamento de DSC SHIMADZU DSC-60 com fluxo de calor	57
Figura 23 – Avaliação do pH utilizando papel indicador de pH MERCK	62

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva de calibração obtida no método de cromatografia a gás	56
Gráfico 2 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) das amostras analisadas	62
Gráfico 3 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) das amostras analisadas	63
Gráfico 4 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) das amostras analisadas	63
Gráfico 5 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) das amostras analisadas	64
Gráfico 6 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) pools x especificação farmacopéica (77% v/v)	65
Gráfico 7 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) pools x especificação farmacopéica (70% m/m)	65
Gráfico 8 – Dispersão dos títulos alcoométricos volumétricos	69
Gráfico 9 – Análise DSC dos padrões de soluções hidroalcoólicas	71
Gráfico 10 – Análise DSC dos pools de matrizes homeopáticas	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Descrição de aspecto das amostras analisadas	61
Quadro 2 – Dados estatísticos de média e desvio padrão	67
Quadro 3 – Títulos alcoométricos dos pools complementares	68
Quadro 4 – Dados obtidos através das análises por cromatografia gasosa	70
Quadro 5 – Títulos alcoométricos ponderais – Picnometria x Cromatografia Gasosa (CG)	70
Quadro 6 – Análise DSC, obtenção da correlação teor/área para água nos padrões	71
Quadro 7 – Determinação do teor (%v/v) das amostras utilizando dados da DSC	72
Quadro 8 – Títulos alcoométricos volumétricos – Picnometria x DSC	72
Quadro 9 – Controle positivo - Método 1	73
Quadro 10 – Resultado das análises microbiológicas pelo método 1	74
Quadro 11 – Contagem total de bactérias aeróbias mesofílicas e avaliação de patógenos – FB5	75
Quadro 12 – Contagem total de fungos (Bolores e Leveduras) – FB5	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% m/m = Percentual massa/massa

% p/p = Percentual peso/peso

% v/v = Percentual volume/volume

°C = Graus Celsius

°GL = Grau Gay-Lussac

ANFARMAG = Associação Nacional de Farmácias Magistrais do Brasil

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CG = Cromatografia Gasosa

CG-MS = Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas

CH = Centesimal de Hahnemann

CTAP = Correlação Teor de Água/Área dos Padrões

DCE = Detector de Captura de Elétrons

DCT = Detector por Condutividade Térmica

DH = Decimal de Hering

DIC = Detector de Ionização em Chama

DP = Desvio Padrão

DSC = Calorimetria Exploratória Diferencial (Do inglês "Differential Scanning Calorimetry")

FB 5 = Farmacopéia Brasileira 5a Edição

FC = Fluxo Contínuo

FDA = Food and Drug Administration (Agência Americana de Alimentos e Medicamentos)

FHB 3 = Farmacopéia Homeopática Brasileira 3a Edição

g = Grama

g/mL = Gramas por mililitro

HCl = Ácido Clorídrico

Kg/L = Kilogramas por litro

LH = Cinquenta Miliesinal de Hahnemann

MCTA = Média das Correlações entre Teor e Área

mL = Mililitro

NaOH = Hidróxido de Sódio

pH = Potencial Hidrogeniônico (Medida físico-química que indica acidez, neutralidade ou basicidade de soluções)

PNPIC = Programa Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

Pool = Mistura elaborada à partir de número variado de amostras de mesmo ano de produção

psi = Unidade de Pressão equivalente a libra por polegada quadrada

RDC = Resolução da Diretoria Colegiada

SINAMM = Sistema Nacional de Aperfeiçoamento e Monitoramento Magistral

SUS = Sistema Único de Saúde

UFC = Unidade Formadora de Colônia

USP 35 = Farmacopéia dos Estados Unidos da América 35a Edição

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Matrizes Homeopáticas	20
2.2 Legislação	26
2.3 Controle Físico-Químico de Qualidade	27
2.3.1 Métodos Clássicos	27
2.3.1.1 Alcoometria	27
2.3.1.1.1 Determinação do título alcoométrico volumétrico	28
2.3.1.1.2 Determinação do título alcoométrico ponderal	29
2.3.2 Cromatografia	31
2.3.2.1 Cromatografia gasosa	32
2.3.2.1.1 Sistema de gás de arraste	33
2.3.2.1.2 Sistema de injeção da amostra	34
2.3.2.1.3 Colunas	35
2.3.2.1.4 Sistemas de detecção	37
2.3.2.1.5 Análise quantitativa em cromatografia gasosa	41
2.3.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	44
2.4 Controle Microbiológico de Qualidade	47
3 OBJETIVOS	51
3.1 Objetivo Geral	51
3.2 Objetivos Específicos	51
4 MATERIAIS E METODOLOGIA	52
4.1 Seleção das Amostras	52
4.2 Determinação da Estabilidade Físico-Química	52

4.3 Determinação da estabilidade microbiológica	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1 Análises Físico-Químicas	61
5.2 Análises Microbiológicas	73
6 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXO A – TABELA ALCOOMÉTRICA	81
ANEXO B – LAUDOS PROQUIMO: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	103

1 INTRODUÇÃO

Os preceitos da medicina introduzidos por Hipócrates (460-360 a.C.), através da avaliação metódica dos sinais e sintomas, utilizados como base fundamental para o diagnóstico, defendiam em sua visão terapêutica, dois métodos que poderiam ser utilizados com sucesso no tratamento: a “cura pelos contrários” (*Contraria Contrariis Curentur*), sendo a base da medicina alopática, em que os sintomas são tratados diretamente com medidas contrárias a ele; e a “cura pelos semelhantes” (*Similia Similibus Curentur*), utilizada como base na medicina homeopática, em que a doença é tratada através da aplicação de medidas semelhantes a mesma (CORRÊA, 1997).

Segundo Fontes (2005) *apud* Cabé (2012), a homeopatia então se fundamenta no aforismo enunciado por Hipócrates: “a doença é produzida pelos semelhantes e pelos semelhantes o paciente retorna a saúde”. Aforismo este corroborado por Corrêa (1997) ao citar os princípios básicos de Hipócrates *Natura medicatrix*, em que a natureza se incumba de reestabelecer a saúde do doente, cabendo ao médico tratar o paciente imitando a natureza, a fim de reconduzir o mesmo a um perfeito estado de equilíbrio e *Similia similibus*, anteriormente citado.

A Homeopatia (*omóios=semelhante, páthos=doente*) é um modelo terapêutico desenvolvido pelo médico alemão Christian Frederich Samuel Hahnemann (1755-1843), que nasceu e cresceu em Meissen, no eleitorado da saxônia (Alemanha), recebeu seu diploma de médico em Erlangem em 1779 e morreu milionário em Paris em 1843 (CABÉ, 2012; CORRÊA, 1997; LOUDON, 2006).

A homeopatia chegou ao Brasil em 1840 pelo médico francês Bernoit Jules Mure, em época em que o Brasil não possuía autonomia para a produção dos medicamentos, sendo os insumos homeopáticos (tinturas, minerais, vegetais) importados, sobretudo da Europa (FHB 3, 2011).

Durante o governo Castello Branco, no ano de 1966, foi decretada a obrigatoriedade da inclusão da Farmacotécnica Homeopática em todas as faculdades de Farmácia do Brasil. Em 1977, a Farmacopéia Homeopática Brasileira teve sua primeira edição publicada, respaldando assim o preparo dos medicamentos homeopáticos e em 1980 a homeopatia foi reconhecida pelo Conselho Federal de

Medicina como especialidade médica, deixando assim de ser considerada uma terapia alternativa (CORRÊA, 1997; FHB 3, 2011).

Atualmente inserida na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS), a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), homologada em 2006, incorporou e implementou, dentre outras terapias complementares, a homeopatia, ampliando o acesso a produtos e serviços antes restritos à área privada. Em 2009, tais práticas já faziam parte do discurso e da gestão de secretarias estaduais e municipais do país, estando presente em mais de 450 municípios brasileiros, existindo legislação ou pelo menos ato normativo para as práticas em mais de 1.300 municípios. (AZEVEDO, 2012)

Parafraseando Cabé (2012), para que uma apresentação farmacêutica seja caracterizada como homeopática, estritamente no sentido do termo, são necessárias duas condições: deve ser uma preparação dinamizada e ser administrada segundo princípio da similitude. A Farmacopéia Homeopática Brasileira 3ª edição define então medicamento homeopático como:

É toda forma farmacêutica de dispensação ministrada segundo o princípio da semelhança e/ou da identidade, com finalidade curativa e/ou preventiva. É obtido pela técnica de dinamização e utilizado para uso interno ou externo.

Os medicamentos homeopáticos prescritos por médicos, dentistas e veterinários homeopatas no Brasil, são produzidos através da manipulação realizada em farmácias com manipulação homeopática, sendo o atendimento realizado através de produtos industrializados ainda de pequena proporção (CESAR, 2014).

Para cumprir as exigências da legislação vigente, os laboratórios necessitam fornecer as matérias primas com laudos que, tradicionalmente, especificam parâmetros físico-químicos passíveis de confirmação através de análises laboratoriais realizadas pelo comprador. Não é um problema, a elaboração de laudos com esta estrutura para as tinturas mãe, porém, considerando as matrizes já dinamizadas, soluções extremamente diluídas, possuem esse fator como altamente limitante para uma boa parte dos ensaios de controle de qualidade, uma vez que a medida que se aumenta a potência se reduz a presença de substâncias ativas. Sendo assim, os ensaios quantitativos só possuem aplicabilidade às matérias

primas, insumos e dinamizações em baixa potência, não ultrapassando a sexta decimal ou terceira centesimal. (CESAR, 2014; CABÉ, 2012)

Uma vez que matrizes são diluições infinitesimais, a composição química das mesmas é relativa ao veículo, e não ao soluto. Sendo assim, não há diferenciação física e/ou química entre as matrizes, impossibilitando então a realização de análises químicas para testá-las. (CESAR, 2014)

Segundo a RDC nº 67 de 08 de outubro de 2007, considerando os produtos homeopáticos, em seu item 9.4, no que cinge a garantia de qualidade imputável as matrizes, expõe: “Os insumos ativos para os quais não existem métodos de controle de qualidade, devem ser adquiridos acompanhados da respectiva descrição de preparo”, focando-se então no processo de obtenção da matriz, tendo em vista que não podemos contar com a aplicabilidade de análises físico-químicas na conceituação da matriz frente ao princípio ativo. Fala ainda em seu item 9.5: “Devem ser realizadas análises microbiológicas das matrizes do estoque existente, por amostragem representativa, mantendo-se os registros”.

Nos Estados Unidos da América, o FDA (*Food and Drug Administration*) regula os medicamentos homeopáticos de forma distinta de outros medicamentos, sendo estes, isentos das exigências de análise relacionadas à data de expiração do produto e dos testes de identificação e teor do produto final. No Reino Unido e no restante da União Europeia, os fabricantes só necessitam demonstrar qualidade e segurança, mas não a eficácia dos produtos homeopáticos de uso oral ou externo, suficientemente diluídos e que não apresentem restrição médica. (CABÉ, 2012)

Ao avaliar os aspectos de estabilidade físico-química e microbiológica, Cesar (2014) diz:

O prazo de validade de matrizes dinamizadas depende de diversos fatores. Considerando soluções dinamizadas acima da 12CH (ou seja, acima do número de Avogadro), sua composição química é relativa ao solvente. Como são soluções alcoólicas a 70%, a estabilidade química é boa e a conservação microbiológica é excelente, impedindo o desenvolvimento de microrganismos, quando mantidas em frascos bem fechados, sem exposição a temperaturas excessivas, prevenindo a evaporação do álcool.

De maneira geral, os laboratórios produtores instituem um prazo de validade de 5 anos para as matrizes (CESAR, 2014). Considerando as características anteriormente citadas das matrizes homeopáticas e um controle adequado sobre as condições de estocagem, existe considerável probabilidade de que o prazo de validade seja consideravelmente superior ao estabelecido.

Este trabalho possui então o intento de avaliar a influência do tempo de armazenamento de matrizes homeopáticas sobre as suas características físico-químicas e microbiológicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Matrizes Homeopáticas

A FHB 3 (2011) define matriz como “Insumo ativo de estoque para a preparação de medicamentos homeopáticos ou formas farmacêuticas derivadas”.

Uma vez que matrizes são diluições infinitesimais, a composição química das mesmas é relativa ao veículo, e não ao soluto, sobretudo em soluções dinamizadas acima da 12CH (ou seja, acima do número de Avogadro). (CESAR, 2014)

As matrizes podem ser preparadas por diversos métodos, seja ele o Hahnemanniano, o Korsakoviano ou o de fluxo contínuo, aplicando-se a estes, como veículo nas matrizes de estoque, o etanol a 77% (v/v) ou superior. (FHB3, 2011).

O método mais antigo foi desenvolvido pelo médico alemão Christian Frederich Samuel Hahnemann, que fundamentou a homeopatia em 1796, sendo as principais escalas desenvolvidas por este, a centesimal e a cinquenta milesimal, sendo esta última publicada após sua morte na sexta e última edição do *Organon da arte de curar*. (SANTOS, 2014; FHB3, 2011)

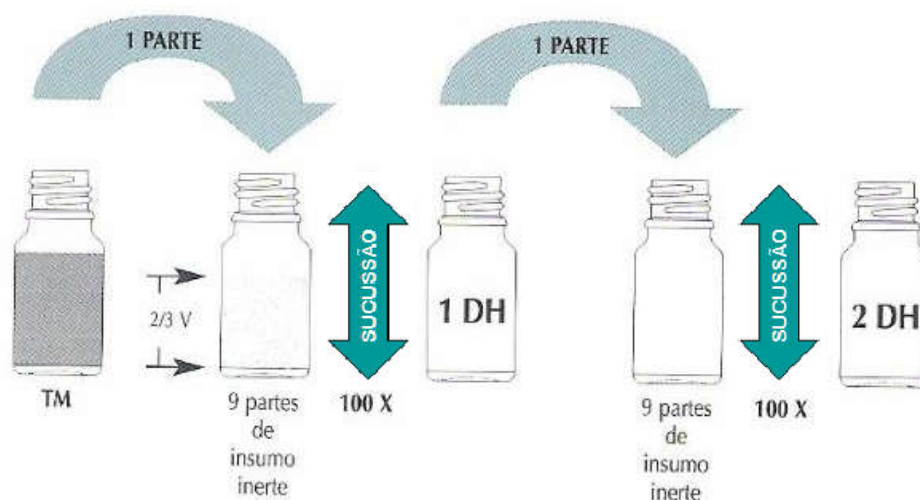
A escala decimal (X, D ou DH), descrita dentro dos métodos Hahnemannianos na FHB3 (2011), foi efetivamente desenvolvida pelo médico homeopata Constantine Hering, nos Estados Unidos e disseminada por Vehsemeyer na Alemanha, diminui a distância na relação quantitativa entre insumo ativo e insumo inerte de 1:100 (escala centesimal) para 1:10, facilitando assim a preparação e tornando-a mais uniforme. (SANTOS, 2014; FHB3, 2011)

Segundo a FHB3 (2011), na escala decimal, a droga deve possuir solubilidade igual ou superior a 10%, sendo utilizado água purificada ou etanol em diferentes graduações nas seis primeiras dinamizações, utilizando etanol com o mesmo teor da tintura-mãe ou, no caso de mineral solúvel, utilizando água purificada ou solução alcoólica que o solubilize. Para estocagem e preparo das demais formas derivadas deve ser utilizado etanol a 77% (v/v) ou superior. Para a dispensação na escala decimal, deve-se utilizar etanol a 30% (v/v). No caso dos medicamentos nas potências até 6 DH inclusive, dispensar no mesmo teor alcoólico do ponto de

partida, colocando a observação “deverá ser administrado diluído em água na hora do uso”.

O preparo das diluições decimais devem seguir o processo diluição e succussão (Figura 1), utilizando quantos frascos forem necessários para atingir a dinamização adequada. Acrescentar ao 1º frasco 1 parte do ponto de partida em 9 partes do insumo inerte, succussionar 100 vezes, obtendo-se assim a 1 DH, para obtenção das potencias seguintes deve-se proceder de forma idêntica até atingir a dinamização desejada. O líquido dinamizado deverá ocupar 1/2 a 2/3 da capacidade do frasco utilizado na preparação. (FHB3, 2011)

Figura 1 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da escala decimal



Fonte: Adaptado de: < <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABR9sAJ/apresenta-uo1?part=2> Acesso em: 28 de fev. 2015

A escala centesimal (C ou CH) foi criada pelo próprio Hahnemann, sendo a mais utilizada no Brasil. Utiliza para cada parte do insumo ativo, noventa e nove partes de insumo inerte. (SANTOS, 2014)

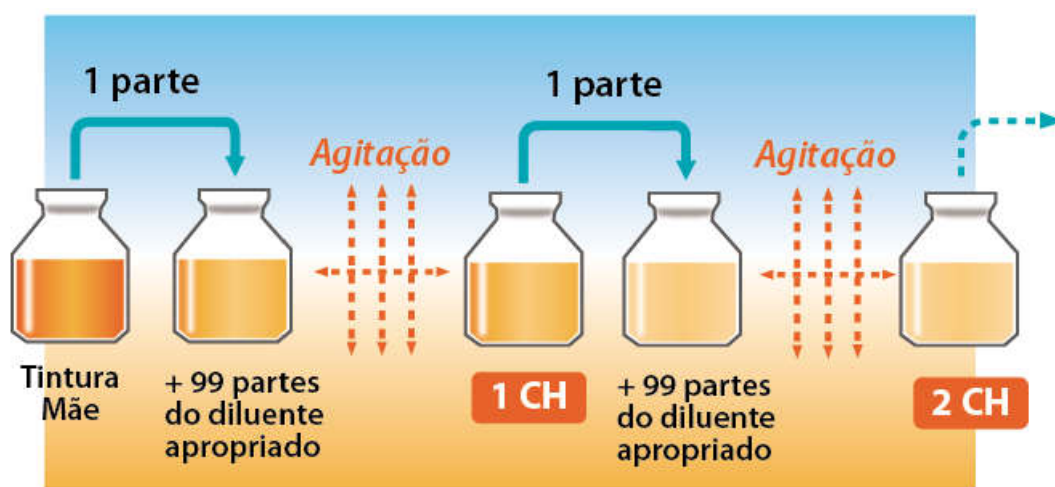
Segundo a FHB3 (2011), na escala centesimal, a droga deve possuir solubilidade igual ou superior a 1%, sendo utilizado água purificada ou etanol em diferentes graduações nas três primeiras dinamizações, utilizando etanol com o mesmo teor da tintura-mãe ou, no caso de mineral solúvel, utilizando água purificada ou solução alcoólica que o solubilize. Para estocagem e preparo das demais formas derivadas deve ser utilizado etanol a 77% (v/v) ou superior. Para a dispensação na

escala decimal, deve-se utilizar etanol a 30% (v/v). No caso dos medicamentos nas potências até 3 CH inclusive, dispensar no mesmo teor alcoólico do ponto de partida, colocando a observação “deverá ser administrado diluído em água na hora do uso”.

O preparo das diluições centesimais devem seguir o processo diluição e sucussão, utilizando quantos frascos forem necessários para atingir a dinamização adequada. Acrescentar ao 1° frasco 1 parte do ponto de partida em 99 partes do insumo inerte, sucussionar 100 vezes, obtendo-se assim a 1 CH, para obtenção das potencias seguintes deve-se proceder de forma idêntica até atingir a dinamização desejada. O líquido dinamizado deverá ocupar 1/2 a 2/3 da capacidade do frasco utilizado na preparação. (FHB3, 2011)

O processo de preparo de substâncias solúveis através da escala centesimal se encontra ilustrado na figura 2, abaixo:

Figura 2 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da escala centesimal

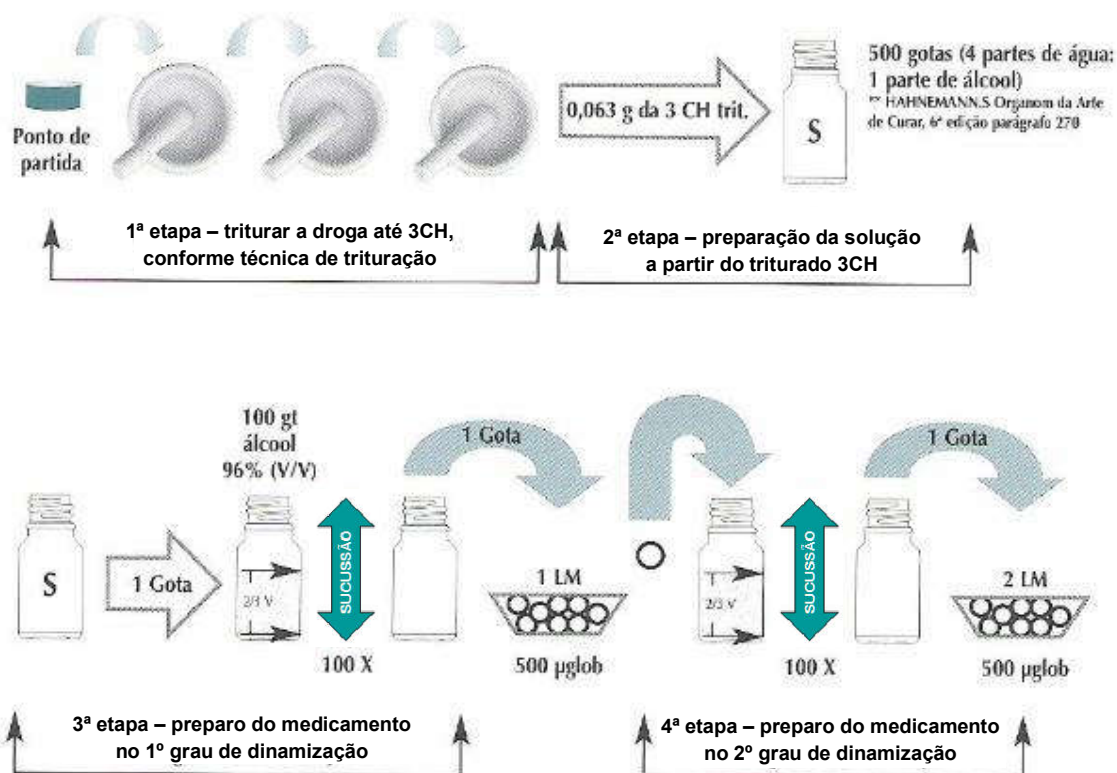


Fonte: <<http://www.farmaciproderma.com.br/capa.asp?idpagina=176>> Acesso em: 19 de fev. 2015

A escala cinqüenta milesimal (Q ou LH), também foi criada por Hahnemann, mas só alguns anos após sua morte foi revelada ao público, sendo empregada no preparo de potências elevadas (1/50.000). (SANTOS, 2014)

O processo de preparo da escala cinquenta milesimal é um pouco mais complexo e se encontra ilustrado de forma detalhada na figura 3, abaixo:

Figura 3 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através da escala cinquenta milesimal



Fonte: Adaptado de: < <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABq5AAF/formas-farmaceuticas-homeopaticas?part=4> > Acesso em: 28 de fev. 2015

Segundo Santos (2014), o método korsakoviano, conhecido também por método do frasco único ou fluxo descontínuo, foi criado por Korsakov, oficial do exército russo, no ano de 1832, o qual achava muito difícil carregar diversos frascos para efetuar as dinamizações. Korsakov propôs então a manutenção de pequena quantidade de solução no mesmo frasco de preparo, desprezando-se o restante e, para um novo processo de diluição, completando-se com insumo inerte, na quantidade adequada. Este método é pouco utilizado no Brasil.

A FHB3 (2011) especifica para o método korsakoviano, que o ponto de partida deverá ser uma matriz na potência 30 CH em etanol 77% (v/v), utilizando-se

como insumo inerte nas preparações intermediárias a concentração etanólica de 77% (v/v) e de 30 % (v/v) nas preparações de dispensação.

O método só requer um frasco para o preparo, que deve partir e uma matriz de potência 30 CH adicionada a um frasco, de modo que ocupe 1/2 a 2/3 de sua respectiva capacidade, posteriormente deve-se emborcar o frasco, deixando o líquido escorrer livremente por 5 segundos, adicionando em seguida o insumo inerte em quantidade previamente estabelecida e sucussionando por 100 vezes. A resultante dessa sequência de operações corresponde a 31 K. Repetindo-se esse procedimento, se obtém as dinamizações subseqüentes. (FHB3, 2011)

Ainda segundo a FHB3 (2011), a dispensação do medicamento segundo o método Korsakoviano deve se dar a partir de 31 K até 100.000 K como limite máximo, sendo proibida a estocagem de medicamentos preparados por esse método.

O processo de preparo do método Korsakoviano se encontra ilustrado de na figura 4, abaixo:

Figura 4 – Processo de preparo de soluções homeopáticas através do método Korsakoviano

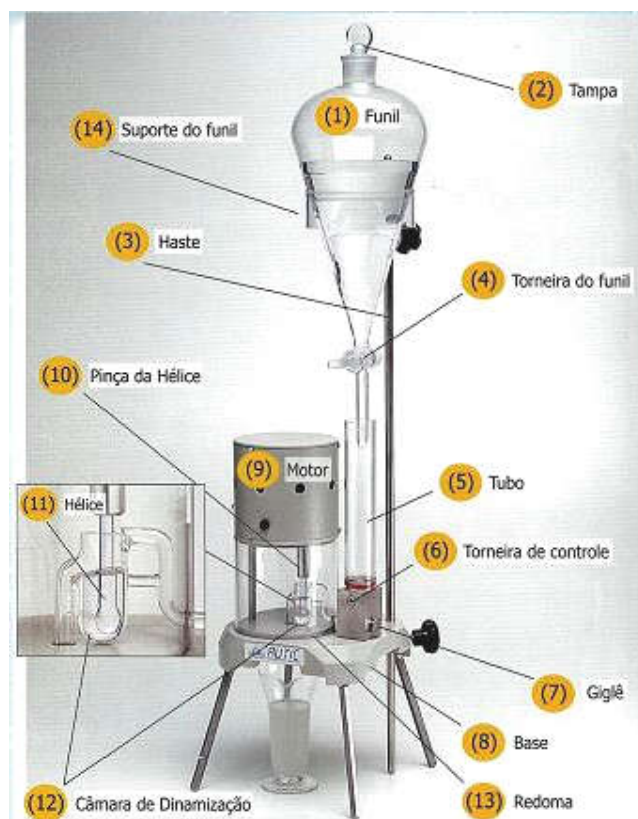


Fonte: Adaptado de: < <http://medicinaturale.pro/wp-content/uploads/2011/12/diluizione-korsakoviana.jpg> > Acesso em: 28 de fev. 2015

No método do fluxo contínuo, criado pelo médico norte americano James Tyler Kent, emprega-se aparelho dinamizador (Figura 5) para promover diluição e agitação simultâneas. O aparelho deve garantir que um fluxo contínuo e constante de insumo inerte passe através da câmara de dinamização de forma controlada,

para que no final de 100 rotações o conteúdo da câmara seja completamente renovado. (SANTOS, 2014; FHB3, 2011)

Figura 5 – Modelo de aparelho dinamizador através de fluxo contínuo



Fonte: < http://www.cescage.com.br/ead/modulos.php?id_m=634 > Acesso em: 28 de fev. 2015

Neste método considera-se que 100 rotações equivalem a 100 succussões, pois a cada 100 rotações obtêm-se uma nova potência, difere dos demais métodos pois seu processo se dá através de diluição e turbilhonamento contínuos por meio mecânico. (FHB3, 2011)

Segundo a FHB3 (2011), a técnica de preparo exige como ponto de partida uma matriz a 30 CH em etanol 77% (v/v) ou superior, a qual é adicionada a câmara de dinamização do aparelho em volume equivalente a sua capacidade volumétrica. A dinamização inicia-se sempre com a câmara cheia, sendo à entrada de água e a rotação do motor acionados simultaneamente. O processo deve ser interrompido sempre duas potências antes da desejada, sendo o preparo das duas últimas

potências segundo o método hahnemanniano em escala centesimal, utilizando o etanol a 77% (v/v) ou superior como insumo inerte.

A dispensação do medicamento preparado segundo o método do fluxo contínuo deve se dar à partir da 200 FC até a 100.000 FC, como limite máximo, sendo permitida a estocagem apenas das potências em etanol a 77% (v/v). (FHB3, 2011)

2.2 Legislação

Considerando os fundamentos da homeopatia, a substância, mesmo diluída ao ponto de se tornar imensurável, deixa sua “impressão” na formulação, o que estimula o corpo a curar a si mesmo. Isto porque a potência de um medicamento homeopático depende não somente da diluição, mas também do processo de dinamização. (BENCKE, 2007)

Devido à razão supracitada, o FDA (Food and Drug Administration) regula os medicamentos homeopáticos de maneira distinta a outros medicamentos. Os produtos homeopáticos nos Estados Unidos da América são desobrigados das exigências de análise relacionadas à data de expiração do produto e dos testes de identificação e teor do produto final, tendo em vista a inexistência de consenso no que cinge a segurança e toxicidade dos produtos homeopáticos por conterem pouco ou nenhum ingrediente ativo. (BENCKE, 2007; CABÉ, 2012)

No Reino Unido e no restante da União Européia, os fabricantes necessitam demonstrar qualidade e segurança, mas não eficácia, quando se trata de produtos homeopáticos de uso oral ou externo, suficientemente diluídos (usualmente uma diluição mínima de 1/10.000) e que não apresentam restrição médica. (BARNES, 2003a)

Segundo Barnes (2003b), esse tratamento distinto, entretanto, não denota necessariamente que os medicamentos homeopáticos sejam menos eficazes ou inseguros para o paciente.

No Brasil, a RDC nº 67 de 08 de outubro de 2007, considerando os produtos homeopáticos, em seu item 9.4, no que cinge a garantia de qualidade imputável as

matrizes, expõe: “Os insumos ativos para os quais não existem métodos de controle de qualidade, devem ser adquiridos acompanhados da respectiva descrição de preparo”, focando-se então no processo de obtenção da matriz, tendo em vista que não podemos contar com a aplicabilidade de análises físico-químicas na conceituação da matriz frente ao princípio ativo. Fala ainda em seu item 9.5: “Devem ser realizadas análises microbiológicas das matrizes do estoque existente, por amostragem representativa, mantendo-se os registros”.

A Instrução Normativa nº 4 da ANVISA, de 11 de abril de 2007, dispõe sobre a realização dos testes de estabilidade de produtos farmacêuticos dinamizados, no qual se enquadram as matrizes homeopáticas, sendo desta forma o guia regulamentado com a finalidade de prever, determinar ou acompanhar o prazo de validade desses produtos.

2.3 Controle físico-químico de qualidade

Uma vez que matrizes são diluições infinitesimais, a composição química das mesmas é relativa ao veículo, e não ao soluto. Sendo assim, não há diferenciação física e/ou química entre as matrizes, impossibilitando então a realização de análises químicas para testá-las. (CESAR, 2014)

Uma vez que a composição química das matrizes é relativa ao veículo, as análises físico-químicas devem então ser direcionadas a avaliação do mesmo. A análise do título alcoométrico, pode então ser realizada através de diversos métodos analíticos, os quais serão abordados a seguir.

2.3.1 Métodos Clássicos

2.3.1.1 Alcoometria

Alcoometria é a determinação do grau alcoólico ou título etanólico das misturas de água e etanol. (FHB 3, 2011; FB 5, 2010)

Dentre os critérios aceitos oficialmente na preparação de soluções alcoólicas utilizadas nas matrizes homeopáticas, é lícito adotar o critério volumétrico (v/v), ou o critério ponderal (m/m), dentre outros aceitos, desde que se conserve o mesmo critério até o fim da operação. (FHB 3, 2011)

2.3.1.1.1 Determinação do título alcoométrico volumétrico

A determinação do grau alcoólico das misturas de água em volume (% v/v) é realizada através do alcoômetro centesimal (Figuras 6 e 7), sendo indicada pela sua unidade de medida, grau Gay-Lussac (°GL). (FHB 3, 2011; FB 5, 2010)

Figura 6 – Alcoômetro Gay-Lussac com termômetro



Fonte: <http://www.lojasynth.com/loja/produto-243435-2249-alcoometro_alcoolometro_gay_lussac_com_termometro> Acesso em: 27 de agosto de 2014

Figura 7 – Divisão centesimal do alcoômetro



Fonte: dados da pesquisa

O alcoômetro centesimal é um densímetro, graduado para utilização a temperatura de 20°C, onde, suas determinações, somente são exatas para a análise de misturas de água e etanol. (FHB 3, 2011)

A temperatura do ensaio deve ser de 20°C, caso a temperatura se encontre em níveis inferiores ou superiores durante o ensaio, torna-se necessária a correção da mesma. (FB 5, 2010)

O método possui algumas limitações claramente observadas, sendo uma delas a precisão do mesmo, tendo em vista a divisão centesimal do instrumento de medida, o que limita sua precisão na casa de 1°GL, não sendo possível averiguar frações da unidade em questão. Outra limitação decorre da necessidade de volume

de amostra mínimo de 1.000mL, para que se atenda a técnica de determinação descrita pelas Farmacopéias (FHB 3 e FB 5), atualmente em vigor no Brasil.

2.3.1.1.2 Determinação do título alcoométrico ponderal

O título alcoométrico ponderal é expresso pela relação entre a massa de álcool etílico contida em uma mistura de água e etanol e a massa total dessa, sendo expresso em % (m/m). (FHB 3, 2011; FB 5, 2010)

Sobre a obtenção do título alcoométrico ponderal, a FB 5 (2010) especifica, “Para a determinação do grau alcoólico das misturas de água e álcool em massa, pode ser utilizado o método da densidade relativa ou verificada a graduação na tabela alcoométrica após a determinação pelo alcoômetro.”.

A densidade relativa da mistura de etanol e água pode ser então determinada através de picnômetro, balança hidrostática ou densímetro, sendo a picnometria o método descrito de forma pormenorizada no compêndio oficial atualmente em vigor.

O picnômetro (Figura 8) é um recipiente de vidro especial, utilizado para determinar a densidade relativa de uma substância líquida ou solução, geralmente disponíveis para uso laboratorial em volumes de 1mL a 50mL. Tendo em vista que a temperatura é um dos fatores que influenciam a densidade específica, alguns picnômetros possuem termômetros acoplados. (ANSEL, 2008)

Figura 8 – Picnômetro de 50 mL com termômetro



Fonte: Dados da pesquisa

A picnometria deve ser executada então, utilizando-se picnômetro limpo e seco, com capacidade mínima de 5 mL, previamente calibrado. A calibração deverá ser feita por meio da determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água, recém destilada e fervida, a 20°C. (FB 5, 2010)

A técnica descrita na FB 5 (2010), consiste em, “Trasferir a amostra para o picnômetro. Ajustar a temperatura para 20°C, remover o excesso da substância, se necessário, e pesar. Obter o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio.”. Após a execução da técnica, calcular a densidade relativa (d_{20}^{20}) da amostra.

A densidade relativa do álcool etílico é calculada então através da razão de sua massa pela massa de igual volume de água, ambas a 20°C (d_{20}^{20}), conforme equação abaixo:

$$d_{20}^{20} = m_{(\text{etanol})}^{20} \div m_{(\text{água})}^{20}$$

onde:

$m_{(\text{etanol})}^{20}$ = massa do etanol a 20°C

$m_{(\text{água})}^{20}$ = massa da água a 20°C

A partir da densidade relativa, deve-se então calcular a densidade de massa (ρ), para que se possa por fim utilizar a tabela alcoométrica (Anexo A) que correlaciona densidade de massa com o título alcoométrico ponderal (% m/m) da amostra.

A densidade de massa do etanol a 20°C (ρ_{20}) é calculada então, a partir de sua densidade relativa (d_{20}^{20}) utilizando-se a fórmula:

$$\rho_{20} = 0,99820 \times d_{20}^{20} + 0,0012$$

onde o resultado é expresso em g/mL ou Kg/L. (FB 5, 2010)

A densidade de massa pode também ser determinada através da relação tabelada entre % (v/v) e % (m/m), porém haveria, contudo, limitações semelhantes as encontradas no método do alcoômetro, sendo estas em menor proporção.

Dentre as vantagens da utilização deste método, se encontram a melhor precisão (aproximadamente 0,1 %) e a redução do volume necessário de amostra (até 200 vezes menor), se o relacionarmos ao método do alcoômetro.

Encontram-se como desvantagens, o longo tempo necessário a análise e a elevada quantidade de amostra (ainda que reduzida se comparada à técnica do alcoômetro). (WEATHERLY, 2014) Existindo ainda a necessidade de melhor estrutura laboratorial e um procedimento de maior complexidade, se comparado a técnica do alcoômetro.

Ainda que exija uma alíquota mínima de amostra relativamente elevada para análise, a picnometria será aplicada como método de análise de referência para esta pesquisa, para tanto será elaborado *pools* de amostras relacionados a cada ano (1989, 1994, 1999, 2004, 2009 e 2014), contendo volume superior a 5 mL, para que se atenda a técnica de determinação descrita pela Farmacopéia Brasileira atualmente em vigor.

2.3.2 Cromatografia

Um método viável para a determinação do título alcoométrico ponderal em amostras com pequeno volume é a cromatografia, devido as suas características de alta precisão na identificação e determinação de teor de analitos, utilizando-se de quantidade de amostra extremamente inferior aos métodos clássicos anteriormente abordados. Dentre os tipos de cromatografia, destaca-se para a análise de substâncias voláteis, a exemplo do etanol, a cromatografia gasosa, a qual será abordada de forma pormenorizada a seguir.

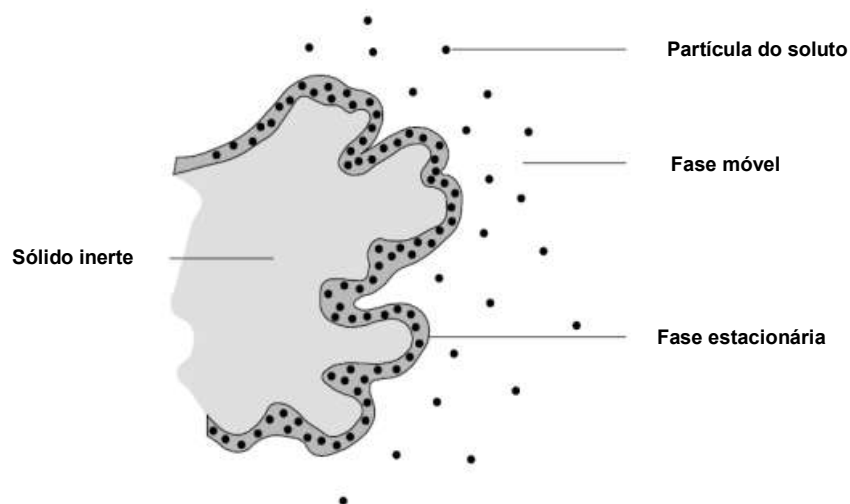
2.3.2.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa (CG ou GC) foi desenvolvida para compostos voláteis ou estáveis termicamente, ou ainda, compostos que após reações de derivação possam apresentar volatilidade e estabilidade adequadas. (GIL, 2007; DEGANI, 1998)

Na cromatografia gasosa, os componentes de uma amostra vaporizada são separados em decorrência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro de uma coluna. Isso limita os mecanismos de separação à partição e à adsorção, ambos amplamente utilizados na cromatografia com fase gasosa. (SKOOG, 2007; MENDHAM, 2002)

O fenômeno de partição pode ser descrito como a distribuição de uma substância entre duas fases imiscíveis no estado de equilíbrio, sendo a promoção da partição, viabilizada através da diferença de solubilidade da substância entre as fases imiscíveis que permanecem em contato constante. O principal mecanismo de separação da cromatografia gasosa é fundamentado neste fenômeno (Figura 9), no qual a partição dos componentes de uma amostra ocorre entre a fase móvel gasosa e a fase estacionária líquida. (GIL, 2007; DEGANI, 1998)

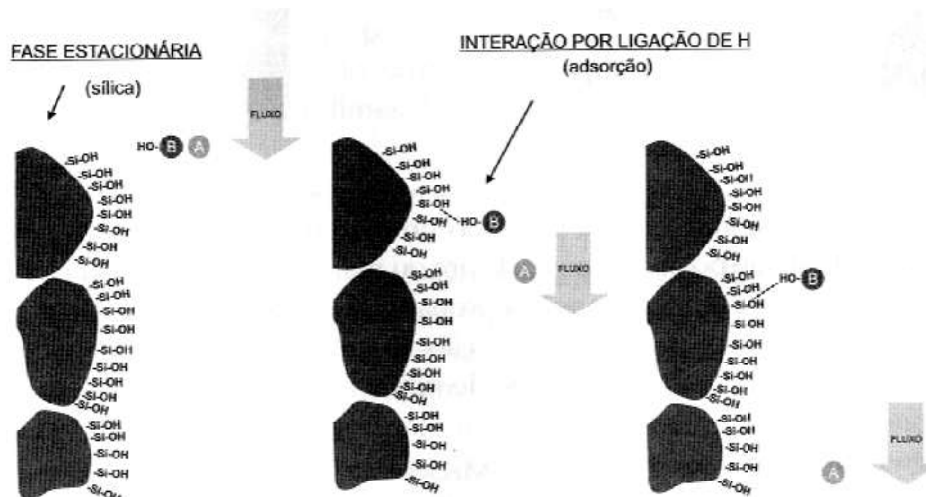
Figura 9 – Partição em cromatografia gás-líquido



Fonte: Adaptado de: <<http://www.drgpdreamdot.com/chromatography>> Acesso em: 01 de setembro de 2014

O emprego de fases estacionárias sólidas, as quais levariam a separação por adsorção (Figura 10), proporciona aplicações mais restritas. Neste mecanismo de separação, forças como pontes de hidrogênio e até eletrostáticas, contribuem para que os analitos sejam adsorvidos transitoriamente na superfície da fase estacionária, resultando na retenção do mesmo. (DEGANI, 1998; GIL 2007)

Figura 10 – Adsorção em cromatografia gás-sólido



Fonte: GIL, E.S. *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos*. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007.

2.3.2.1.1 Sistema de gás de arraste

Na cromatografia a gás, o analito volatilizado é transportado através da coluna por uma fase gasosa, conhecida como gás de arraste, o qual deve possuir alta pureza e ser quimicamente inerte. O hélio é a fase gasosa mais comum, embora o nitrogênio, o hidrogênio ou o argônio possam também ser utilizados. (HARRIS, 2008; SKOOG, 2007; DEGANI, 1998)

A seleção do gás de arraste depende da disponibilidade, pureza, consumo e tipo de detector utilizado. Esses gases estão disponíveis em cilindros pressurizados, sendo necessário, para o controle da vazão do gás, a utilização de reguladores de pressão, manômetros e medidores de vazão. As pressões de entrada encontram-se na faixa de 10 a 50 psi (lb/pol²) acima da pressão ambiente, o que gera vazões de

25 a 150 mL/min em colunas recheadas e 1 a 25 mL/min em colunas capilares de tubo aberto. (MENDHAM, 2002; SKOOG, 2007)

Geralmente, admite-se que as vazões serão constantes se a pressão de entrada permanecer constante, entretanto, o uso de um rotâmetro na cabeça da coluna ou de um medidor de bolhas simples ao final da coluna são alternativas para a aferição da constância da vazão. (SKOOG, 2007)

2.3.2.1.2 Sistema de injeção da amostra

Vários dispositivos de introdução da amostra foram desenvolvidos. Os principais se utilizam de uma microseringa para a introdução de amostras líquidas no injetor, que é um dispositivo posicionado entre a coluna capilar e o reservatório de gás, servindo como sistema de entrada de gás para o sistema capilar. (MENDHAM, 2002; GIL, 2007)

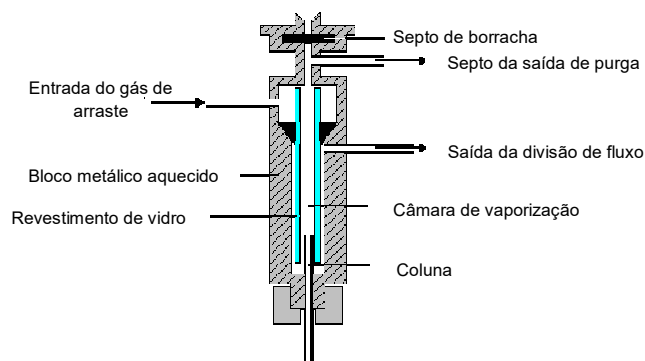
Segundo Skoog (2007), “A eficiência da coluna requer que a amostra seja de tamanho adequado e introduzida como uma zona “estreita” de vapor”, a injeção lenta ou de volumes elevados das amostras produz o espalhamento das bandas e perda de resolução.

Nesses equipamentos é imprescindível o controle da temperatura do injetor, a qual deve ser suficiente para que a amostra líquida se vaporize rapidamente, sem decomposição ou fracionamento. A manutenção da entrada da amostra, próximo a temperatura de ebulição do componente menos volátil é um preceito prático útil. (DEGANI, 1998; MENDHAM, 2002)

Se os analitos de interesse compõem mais que 0,1% da amostra, é preferível, habitualmente a injeção com divisão de fluxo (*split injection*). Nesta técnica, uma proporção predeterminada da amostra, geralmente entre 1 e 10%, passa para a coluna, sendo o restante da amostra descartada. A divisão de fluxo evita a saturação da coluna, mas só funciona se a concentração do analito na amostra é usualmente maior que 0,01%. Quando tratamos de amostras com diminutas concentrações do analito, a injeção sem divisão de fluxo (*splitless injection*) é freqüentemente mais apropriada. (HARRIS, 2008; MENDHAM, 2002)

A Figura 11 ilustra um modelo de injetor com opções de injeção com e sem divisão de fluxo.

Figura 11 – Vista da seção transversal de um injetor com opção de divisão de fluxo



Fonte: Adaptado de: <<http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschrom.htm>> Acesso em: 02 de setembro de 2014

2.3.2.1.3 Colunas

A separação das substâncias da amostra é feita na coluna. A natureza do suporte sólido, o tipo e a quantidade da fase líquida, o método de empacotamento, o tamanho da coluna e a temperatura são fatores importantes para atingir a resolução desejada. (MENDHAM, 2002)

As colunas são tubos longos de metais como cobre ou aço, vidro ou teflon, sendo a grande maioria das análises realizadas em colunas capilares feitas de sílica fundida (SiO_2) e recobertas com poliimida (plástico capaz de resistir até 350°C) utilizado para suportar e proteger a coluna da umidade atmosférica. (DEGANI, 1998; HARRIS, 2008)

Dois tipos gerais de colunas são empregados em cromatografia gasosa, sendo estas, as colunas recheadas (Figura 12) e as colunas tubulares abertas, ou colunas capilares (Figura 13). (SKOOG, 2007)

Para as colunas recheadas, emprega-se geralmente como suporte, terras diatomáceas lavadas e desativadas, sobre a qual é depositada a fase estacionária.

As fases estacionárias podem ser polares, apolares ou quirais, sendo as polares, usualmente baseadas em polietilenoglicol puro ou modificado, as apolares em metilsiloxano puro ou modificado e as fases quirais mais comuns compostas de ciclodextrinas. (MENDHAM, 2002; DEGANI, 1998)

Figura 12 – Coluna recheada



Fonte: <<http://cnx.org/resources/fd3f0b6d5f7f0c39a882cbc782562cf2/packed%20column.jpg>> Acesso em: 27 de agosto de 2014

Figura 13 – Coluna capilar em sílica fundida



Fonte: <<http://www.restek.com/catalog/view/1437>> Acesso em 02 de setembro de 2014

As colunas cromatográficas variam em comprimento, partindo de tamanhos inferiores a 2 m e alcançando comprimentos superiores a 50 m. Colunas capilares propiciam maior resolução (devido ao seu maior comprimento, o que aumenta o número de pratos teóricos), menores tempos de análise e maior sensibilidade do que as colunas recheadas, entretanto possuem menor capacidade de amostra. (SKOOG, 2007; HARRIS, 2008)

Algumas regras auxiliam na escolha da coluna mais adequada a análise. Na escolha da fase estacionária líquida, utiliza-se como base a regra “*semelhante dissolve semelhante*”, sendo então colunas apolares melhores para a separação de substâncias apolares, colunas altamente polares mais indicadas na separação de analitos fortemente polares e as de polaridade intermediária na separação de substâncias com características equivalentes de polaridade. (HARRIS, 2008)

A espessura do filme é outra variável importante. Nas primeiras colunas, a fase estacionária cobria a superfície interna do tubo e era conservada em seu lugar devido à ação capilar. Esta característica limitava a espessura do filme a ordem de 1µm, tendo em vista que espessuras maiores tornam instável o filme, o que pode levar a perda de fase estacionária por arrasto (sangria). Visando a redução da perda por arrasto, sobretudo em temperaturas elevadas, comumente é feito com que a fase estacionária se *ligue* (covalentemente) à superfície da sílica ou forme ligações covalentes cruzadas entre as moléculas da própria fase. (MENDHAM, 2002; HARRIS, 2008)

O comprimento da coluna possui relação direta com a resolução, conforme anteriormente citado, sendo assim, quanto maior a coluna maior será a resolução, contudo, obtemos também um incremento no tempo de eluição da amostra e no custo da coluna. No tocante ao diâmetro, a eficiência aumenta marcadamente com a redução do diâmetro interno da mesma. (MENDHAM, 2002)

A temperatura da coluna é uma variável de grande importância e deve ser controlada com oscilação de poucos décimos de grau para se alcançar boa precisão, para tanto, a coluna é normalmente abrigada em um forno termostatizado, sendo a temperatura ótima da mesma, condicionada ao ponto de ebulição da amostra e o grau de separação requerido. (SKOOG, 2007)

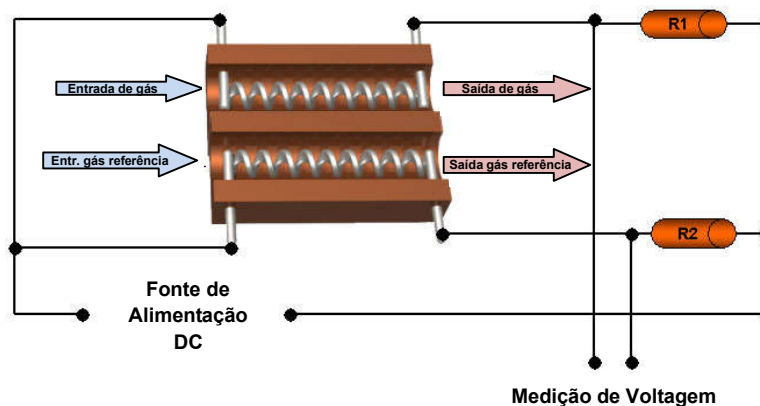
2.3.2.1.4 Sistemas de detecção

São dispositivos eletrônicos que respondem à variação da composição do gás efluente da coluna, gerando sinais elétricos. Os detectores usualmente utilizados são os de condutividade térmica, ionização em chama, captura de elétrons e o espectrômetro de massas. A utilização de espectrômetro de massas, atualmente acoplados aos equipamentos de cromatografia gasosa, possibilita a identificação imediata das substâncias presentes na amostra. (GIL, 2007; DEGANI, 1998)

Provavelmente os mais utilizados no passado, os detectores por condutividade térmica (DCT) (Figura 14) são simples e universais, respondendo a todos os analitos. Atua aferindo a capacidade de uma substância de transportar calor de uma região quente para uma região fria. A condutividade térmica do hélio e

hidrogênio são cerca de 6 a 10 vezes maiores que aquelas da maioria dos compostos orgânicos. Assim, a presença de pequenas quantidades de substâncias orgânicas, resultam em um decréscimo relativamente elevado na condutividade térmica do efluente da coluna, resultando em um aumento apreciável da temperatura do detector. (HARRIS, 2008; SKOOG, 2007)

Figura 14 – Diagrama de chaveamento da ponte de um DCT com duas células



Fonte: Adaptado de: < http://www.chem.agilent.com/en-US/Newsletters_old/einspirations/archives/Pages/oct09techtip.aspx>

Acesso em: 14 de setembro de 2014

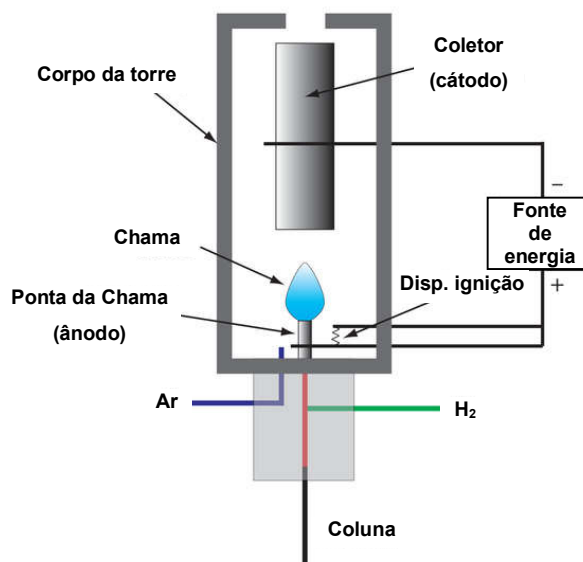
Por questões de segurança, o hélio é o gás preferencialmente usado, tendo em vista sua característica inerte. (MENDHAM, 2002)

Uma vantagem deste detector é a sua característica não destrutiva, que permite que os analitos sejam coletados após a detecção. Infelizmente, a condutividade térmica não é suficientemente sensível para detectar quantidades diminutas do analito eluido de colunas capilares com diâmetro inferior a 0,53mm, sendo assim, atualmente sua aplicabilidade se limita a colunas com 0,53mm ou mais de diâmetro e em colunas empacotadas. (SKOOG, 2007; HARRIS, 2008)

O detector de ionização em chama (DIC) é o mais utilizado em aplicações da cromatografia gasosa em geral (Figura 15), se utilizando de característica aplicável a maioria dos compostos orgânicos, que produzem íons e elétrons quando pirolizados à temperatura de uma chama ar/hidrogênio. A combustão de misturas ar/hidrogênio produz poucos íons e, assim, quando ocorre a queima só do gás de arrasto e hidrogênio, obtém-se um sinal praticamente constante. Na presença de compostos

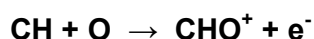
que contenham carbono, ocorre à ionização, obtendo-se então um forte aumento da condutividade elétrica da chama. (SKOOG, 2007; MENDHAM, 2002)

Figura 15 – Vista da seção transversal de um esquema de detector de ionização em chama



Fonte: Adaptado de: < http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Analytical_Chemistry_2.0/12_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods/12D%3A_Gas_Chromatography > Acesso em: 28 de fevereiro de 2015

Segundo Harris (2008), “Os átomos de carbono (exceto aqueles provenientes de carbonilas ou carboxilas) produzem radicais CH, que se acredita formarem íons CHO⁺ e elétrons na chama.”, conforme ilustrado na equação química abaixo:

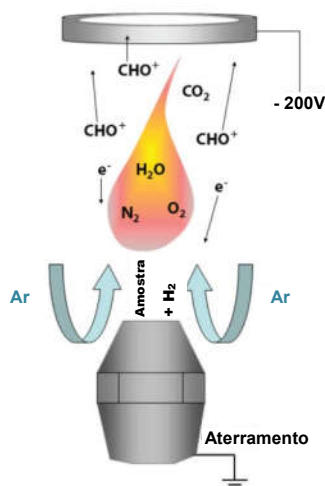


Poucas centenas de volts são aplicadas entre a ponta do queimador e um eletrodo localizado acima da chama, serve para coletar os íons e elétrons. O jato do queimador é o eletrodo negativo e o ânodo é usualmente um filamento ou uma grade que atinge a extremidade da chama. A corrente resultante ($\sim 10^{-12}$ A) é medida com um picoamperímetro. (MENDHAM, 2002; SKOOG, 2007)

A figura 16 ilustra componentes de uma amostra que são queimados na chama, criando íons positivos e elétrons. Os íons positivos são atraídos para o

coletor negativamente carregado, enquanto os elétrons (cargas negativas) são repelidos para o jato do queimador.

Figura 16 – Formação e movimentação dos íons e da corrente elétrica utilizando um DIC



Fonte: Adaptado de: < <http://www.sepscience.com/Techniques/GC/Articles/208-/GC-Solutions-11-The-Flame-Ionization-Detector> > Acesso em: 28 de fevereiro de 2015

Uma vez que o detector de ionização em chama responde ao número de átomos de carbono que ingressam no detector por unidade de tempo, ele é um dispositivo sensível a massa e não a concentração, por isso, a resposta do detector não é afetada por alterações do fluxo do gás de arraste e a alta sensibilidade ($2 \times 10^{-12} \text{ g.s}^{-1}$) se mantém mesmo em fluxos muito baixos. A sensibilidade é usualmente expressa em massa por unidade de tempo, sendo assim, os efeitos de alargamento do pico não precisam ser considerados. (SKOOG, 2007; MENDHAM, 2002)

Segundo Mendham (2002): “A sensibilidade alta, combinada com a grande faixa de resposta linear e a pequena contaminação que sofre, faz com que o DIC também seja o detector mais usado na rotina de CG capilar”.

Uma desvantagem deste tipo de detector é a destruição da amostra durante a etapa de combustão. (SKOOG, 2007)

Tendo em vista todas as características expostas, o detector de ionização em chama se mostra uma excelente opção para aplicação neste trabalho, considerando que as amostras analisadas possuem composição conhecida, sendo misturas

hidroalcoólicas, todo carbono ionizado será proveniente da pirólise do etanol presente na composição.

Os detectores de captura de elétrons (DCE) diferem dos demais detectores de ionização, pois exploram o fenômeno de recombinação fundamentado na captura de elétrons por compostos que possuem afinidade por elétrons livres. O detector afere então a redução e não o aumento da corrente. (MENDHAM, 2002)

O detector de captura de elétrons é sensível a moléculas que contenham halogênios ou enxofre, carbonilas conjugadas, nitrocompostos, nitrilas e compostos organometálicos, entretanto é relativamente insensível a alcoóis, cetonas e hidrocarbonetos. Este detector é extremamente sensível, possuindo limite de detecção comparável com os detectores por espectrometria de massas com monitoramento seletivo de íons. (MENDHAM, 2002; HARRIS, 2008)

A cromatografia gasosa pode ser acoplada com vários tipos de espectrômetros, tais quais os de infravermelho, ressonância magnética nuclear ou massas, compondo sistemas capazes de combinar a capacidade de separação da cromatografia com a capacidade de detecção qualitativa e quantitativa dos métodos espectrais. Essa combinação de técnicas é usualmente chamada de métodos hifenados. (MENDHAM, 2002; SKOOG, 2007)

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) foi um dos primeiros métodos hifenados e é, até hoje, uma das técnicas mais usadas e mais úteis, tendo em vista a possibilidade de identificação imediata das substâncias presentes na amostra, sendo a melhor escolha de detector para a cromatografia gasosa em laboratórios capazes de arcar com o custo. (HARRIS, 2008; MENDHAM, 2002; DEGANI, 1998)

A cromatografia a gás constitui uma forma ideal para a introdução de misturas no espectrômetro de massas, considerando que a técnica efetua a separação dos componentes da mistura antes de sua inserção. (SKOOG, 2007)

Considerado que as amostras a serem analisadas neste trabalho são de composição simples e conhecida, torna-se desnecessária a utilização deste método hifenado para a determinação qualitativa e quantitativa das substâncias envolvidas. (MENDHAM, 2002)

2.3.2.1.5 Análise quantitativa em cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa (CG) quantitativa se baseia na comparação da altura ou da área de um pico analítico com aquele de um ou mais padrões. Caso as condições sejam controladas de forma adequada, ambos os parâmetros variam linearmente com a concentração. A área do pico independe dos efeitos de alargamento, sendo portanto um parâmetro analítico mais satisfatório que a altura do pico. Contudo, as alturas de pico são mensuradas de maneira mais fácil, sendo para os picos estreitos, mais exatas. (SKOOG, 2007)

Em sua forma mais simples, toma-se na quantificação uma série de padrões da substância pura e constrói-se uma curva de calibração (em função da concentração) contra a qual se compara a área da curva correspondente ao analito de interesse, obtendo-se assim a concentração desconhecida. (MENDHAM, 2002)

Segundo Mendham (2002), apesar de simples, o procedimento anteriormente descrito está sujeito a erros, sejam humanos ou instrumentais, o que leva ao uso mais comum das técnicas de normalização das áreas, de padrões internos ou de adição padrão, as quais serão discutidas a seguir.

Na técnica de normalização das áreas, obtém-se a composição da mistura pela expressão da área de cada pico como uma porcentagem da área total dos picos do cromatograma., devendo-se corrigir as áreas dos picos para quaisquer variações significativas da sensibilidade do detector em relação aos diferentes componentes da mistura. (MENDHAM, 2002)

A maior precisão em cromatografia gasosa quantitativa é obtida através do emprego de padrões internos, isto ocorre porque as incertezas introduzidas pela injeção da amostra, vazão e variações nas condições da coluna são minimizadas. (SKOOG, 2007)

Segundo Mendham (2002), para que as substâncias usadas como padrão interno sejam efetivas, as condições descritas a seguir devem ser atendidas:

- (I) Elas devem produzir um pico completamente resolvido, cuja eluição ocorra nas proximidades das substâncias que serão analisadas;
- (II) A área ou a altura do pico correspondente deve ser semelhante à dos picos das substâncias que vão ser analisadas;
- (III) Elas devem ser quimicamente semelhantes às substâncias que vão ser analisadas, entretanto não devem estar presentes na amostra original.

No procedimento do padrão interno, uma quantidade meticulosamente medida de um padrão interno é introduzida em cada padrão de calibração e a razão entre a área (ou altura) do pico do analito e a área (ou altura) do pico do padrão interno é utilizada como parâmetro analítico na elaboração de uma curva de calibração. A análise da amostra é realizada então pela adição da mesma quantidade de padrão interno ao volume especificado da mistura. (SKOOG, 2007; MENDHAM, 2002)

A concentração do soluto é obtida na curva de calibração a partir da razão observada entre as áreas dos picos, sendo o padrão interno adequado, precisões relativas de 0,5% a 1% têm sido relatadas. (MENDHAM, 2002; SKOOG, 2007)

A técnica da adição padrão consiste em cromatografar a amostra antes e após a adição de quantidade exatamente conhecida do componente que se deseja determinar, então se calcula seu peso na amostra à partir da razão entre as áreas do pico dos dois cromatogramas. A adição padrão é muito útil na análise de misturas complexas. (MENDHAM, 2002)

Considerando que dentre as análises físico-químicas propostas para este trabalho, encontramos a avaliação do decaimento da concentração de etanol nas matrizes homeopáticas em função do tempo de armazenamento, e que tal delineamento possuirá sua precisão de forma diretamente proporcional a precisão do método analítico, considera-se então o método do padrão interno, o mais adequado as análises necessárias, devido a sua elevada precisão, dentre as opções disponíveis em cromatografia gasosa quantitativa.

2.3.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os métodos calorimétricos, geralmente referidos pelo termo análise térmica, abrangem um grupo de técnicas em que uma propriedade física, seja de uma substância ou de uma reação, é medida como função do tempo ou da temperatura, enquanto o objeto da investigação é submetido a um programa controlado de temperatura. (GIL, 2007)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC – do inglês “*Differential Scanning Calorimetry*”) mede ao invés da diferença de temperatura, a diferença de energia que é fornecida à substância em análise em comparação a um padrão inerte, quando submetidas a um processo térmico controlado. (BERNAL, 2002; GIL, 2007; MENDHAM, 2002)

A depender do método de medida, podem ser dois procedimentos de DSC: com compensação de potência e com fluxo de calor. (MENDHAM, 2002)

Na DSC com compensação de potência, mede-se a energia necessária para se manter nula a diferença de temperatura entre a amostra e o material de referência, a amostra e a referência termicamente inerte são aquecidas em compartimentos distintos, entretanto sob condições isotérmicas. Os dois compartimentos são submetidos à mesma variação de potência de entrada no forno, assim, quando uma transição endotérmica, a energia absorvida pela amostra é compensada pelo aumento da energia que ela absorve para manter nula a diferença de temperatura. Tendo em vista que este acréscimo de energia é exatamente equivalente, em grandeza, à energia absorvida na transição, mede-se diretamente por calorimetria a energia de transição. (GIL, 2007; MENDHAM, 2002)

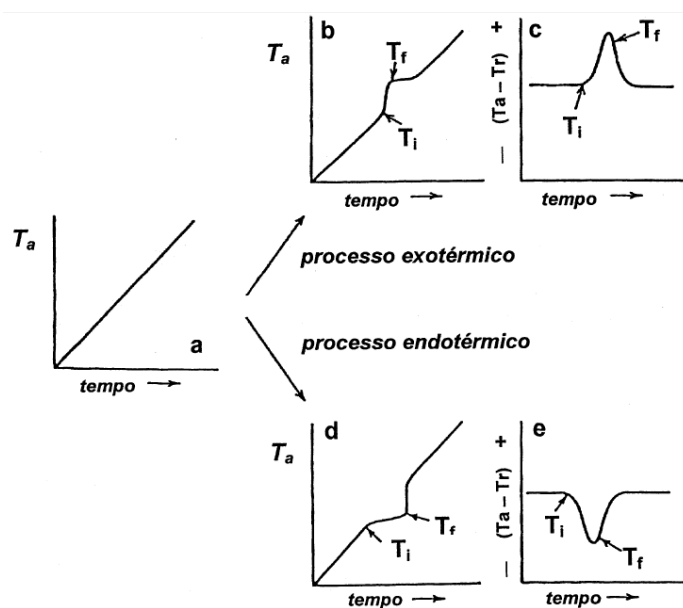
Historicamente, as curvas de aquecimento de Le Chatelier acompanhavam a alteração na temperatura de uma amostra em função do tempo, enquanto a mesma era aquecida. Para variação da temperatura em função do tempo, uma reta é observada caso não exista a ocorrência de fenômenos físicos ou químicos com a amostra (Figura 17a). (BERNAL, 2002)

Nos processo exotérmico, verificava-se um aumento da temperatura durante o processo, representada por uma inflexão ascendente no perfil temperatura-tempo (Figura 17b), já no processo endotérmico, a absorção do calor leva a uma redução

na temperatura, representada por uma inflexão descendente no perfil temperatura-tempo (Figura 17d). (BERNAL, 2002)

No caso da calorimetria exploratória diferencial, a condição isoterma levaria ao aparecimento de gráficos característicos, no processo exotérmico sendo representado por um pico ascendente (Figura 17c), enquanto no endotérmico é representado por um pico descendente (Figura 17e). Entretanto, as curvas de DSC obtidas a partir de instrumentos com compensação de potência, serão invertidas em relação ao anteriormente descrito, apresentando picos ascendentes em seus processos endotérmicos e descendentes nos exotérmicos, isto se deve a característica de formação do gráfico a partir da variação da energia necessária para manter a temperatura, o que é inversamente proporcional a variação de temperatura. (BERNAL, 2002; GIL, 2007)

Figura 17 – Curvas de aquecimento: a) quando não ocorre nenhum evento; b) quando ocorre processo exotérmico; c) idem b, porém para sistema térmico diferencial; d) quando ocorre processo endotérmico; e) idem d, porém para sistema térmico diferencial.

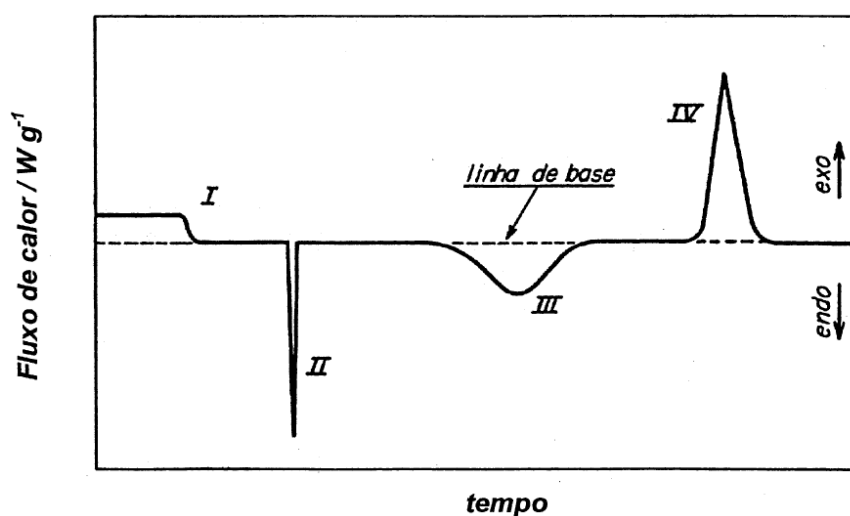


Fonte: BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Química Nova*. São Paulo, v. 25, n. 5, p. 849.

Na DSC com fluxo de calor, amostra e padrão de referência são colocados em cápsulas idênticas, localizadas sobre disco termoelétrico produzido em liga

metálica de cobre e níquel, aquecidas por uma única fonte de calor. Em contrapartida, as curvas obtidas nos aparelhos dessa configuração apresentam picos ascendentes para processos exotérmicos e descendentes para endotérmicos, conforme ilustrado na figura 18. (GIL, 2007)

Figura 18 – Curva genérica para um experimento DSC com fluxo de calor. I) mudança de linha de base sem pico; II e III) picos endotérmicos; IV) pico exotérmico



Fonte: BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Química Nova*. São Paulo, v. 25, n. 5, p. 851.

Nestes experimentos, a forma, posição e número de picos são úteis para a análise qualitativa da amostra, enquanto a área sob os picos é de interesse quantitativo, portanto, é de extrema importância o conhecimento de como fatores externos podem afetar estas características para análise adequada dos resultados e sua reprodutibilidade. (BERNAL, 2002)

Os picos de DSC são influenciados pelas velocidades de aquecimento, atmosferas diferentes e as geometrias dos suportes de amostra, podendo resultar na alteração da posição dos picos, entretanto, o fator mais importante na obtenção de resultados confiáveis em ambas as técnicas, é o preparo da amostra e do material de referência. (MENDHAM, 2002)

Segundo Bernal (2002), em DSC, a área do pico, A , depende da massa da amostra, m , do calor de reação, ΔH , e de uma constante empírica, K , em que

$$A = \pm \Delta H_m K$$

em um equipamento eficiente de DSC, a constante K praticamente não depende da temperatura e só um padrão é necessário para a calibração, sendo assim, para este método, a constante K é determinada com um padrão de alta pureza e uma entalpia de fusão (ΔH_f) conhecida com exatidão.

O método em questão deverá ser empregado neste trabalho como uma alternativa viável para a quantificação de etanol e água nos *pools* de matrizes homeopáticas a serem analisados, através da comparação da área dos picos produzidos nas análises, em relação a um ou mais padrões de concentração conhecida, tendo em vista que se espera que a oscilação energética no processo seja diretamente proporcionais as concentrações de etanol e água nas amostras.

2.4 Controle microbiológico de qualidade

O limite microbiano de medicamentos e seus insumos, pode se estabelecer em ausência irrestrita de formas viáveis (estéreis) ou sua presença em grandezas definidas, restritas ou não a determinadas cepas microbianas (não estéreis). A perspectiva regulatória exige que produtos farmacêuticos de todos os tipos sejam adequadamente controlados em relação ao potencial de contaminação microbiológica, sobretudo por aqueles que possam afetar a qualidade do produto e a segurança do paciente. (PINTO, 2010)

No início da década de 70, a Federação Internacional Farmacêutica (FIP) propôs critérios microbiológicos para produtos farmacêuticos não estéreis, a depender do uso do produto, diferentes limites com relação à contagem dos viáveis e a ausência, ou presença limitada, de determinadas bactérias foi sugerida. Os microorganismos especificados foram escolhidos por serem patogênicos conhecidos (*Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*), indicadores de contaminação fecal (*Escherichia coli*), ou indicadores de baixo nível de higiene (Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*). (PINTO, 2010)

Ainda segundo Pinto (2010), para que se alcance um bom nível de qualidade microbiana nos produtos farmacêuticos é essencial que se conheçam as fontes e os mecanismos responsáveis por esta contaminação. Os contaminantes microbianos presentes nos insumos serão invariavelmente transferidos ao medicamento, acrescido daqueles oriundos dos equipamentos, ambientes de produção, operadores e materiais de embalagem. Os insumos usualmente utilizados constituem-se de pós sintéticos, com baixa carga microbiana, porém aqueles de origem natural podem possuir elevadas cargas microbianas.

Ao contrário das células de um mamífero que se desenvolvem em uma variação de temperatura estreita (próximo a 37°C), os microorganismos podem se desenvolver em uma faixa muito maior de temperatura, desde os psicrófilos que crescem em baixas temperaturas, passando pelos mesófilos que se desenvolvem em temperaturas moderadas e até os termófilos que crescem em altas temperaturas, podendo ultrapassar os 100° C. (PELCZAR JR., 1997)

Segundo Pelczar Jr. (1997), a maioria dos microorganismos são mesófilos, se desenvolvendo melhor em temperaturas que variam de 25°C a 40°C. Os microorganismos parasitários humanos crescem no limite máximo desta variação, os patogênicos ao homem crescem melhor em temperaturas próximas a corporal, que é de 37°C.

A contagem de microorganismos viáveis em produtos que não precisam cumprir com o teste de esterilidade, é realizada através do número total de microorganismos mesófilos aeróbicos, utilizando-se esse teste, é possível determinar o número total de bactérias mesófilas e fungos em produtos e matérias-primas não estéreis, sendo aplicado então na avaliação do produto frente às exigências microbiológicas farmacopeicas. (FB 5, 2010; USP 35, 2012)

Segundo a FB5 (2010), o teste supracitado consiste na contagem da população de microorganismos que apresentam crescimento visível, em até 5 dias, em meio de cultura ágar caseína-soja a 32,5°C ± 2,5°C e em até 7 dias, em ágar sabouraud-dextrose a 22,5°C ± 2,5°C, sendo que métodos microbiológicos alternativos, inclusive os automatizados, podem ser utilizados desde que sua equivalência com o método farmacopeico tenha sido devidamente validada.

Se considerarmos a USP 35 (2012), esse teste consiste na contagem da população de microorganismos que apresentam crescimento visível, em 3 a 5 dias, no meio de cultura Ágar caseína-soja entre 30°C e 35°C e em 5 a 7 dias, no meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose entre 20°C e 25°C.

Utilizando-se dos meios de cultura apropriados, a mesma quantidade de amostra utilizada para a enumeração dos microorganismos é utilizada para a detecção dos patógenos. (Silva Júnior, 2011)

O método de pesquisa e identificação de patógenos possibilita a verificação da presença ou da ausência de microorganismos específicos em meios seletivos. Os procedimentos experimentais devem incluir etapas de pré-enriquecimento para garantir a recuperação dos microorganismos, se presentes no produto. Métodos microbiológicos alternativos, inclusive os automatizados, podem ser utilizados desde que sua equivalência ao método farmacopeico tenha sido devidamente validada. (FB 5, 2010)

Os microorganismos patogênicos pesquisados exigidos tanto pela FB 5 (2010) quanto pela USP 35 (2012), devem ser as bactérias gram-negativas bile tolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* e *Candida albicans*.

Na preparação das matrizes homeopáticas estudadas nesta pesquisa, é estabelecido, conforme orientação farmacopeica, que o insumo inerte (veículo) utilizado seja uma solução hidroalcoólica a 77% (v/v), o que equivale a 70% (m/m) em etanol. (FHB 3, 2011)

Segundo Rowe (2009), misturas aquosas de etanol são bactericidas, em concentrações entre 60% e 95% (v/v).

Sá (2007) realizou análise microbiológica em medicamentos homeopáticos, constituídos por soluções hidroalcoólicas a 30 e 70%, preparadas por equipe especializada em homeopatia, constatando então que todas as amostras diluídas em etanol 70% obedeceram aos limites preconizados pelas Farmacopéias Brasileira e Européia para a contagem de bactérias e fungos, incluindo patógenos.

Partindo-se do preceito de que as matrizes homeopáticas devem encontrar-se em grau alcoólico pertencente à faixa bactericida, supõe-se que as mesmas não deverão possuir a presença de microorganismos viáveis e conseqüentemente a

ausência de patógenos também se torna uma observação esperada, o que deverá ser confirmado através dos testes microbiológicos anteriormente citados e exigidos legalmente.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a integridade físico-química e microbiológica de matrizes homeopáticas de uma farmácia com manipulação homeopática de Maceió-AL em decorrência do tempo de armazenamento.

3.2 Objetivos específicos

Selecionar as matrizes homeopáticas em ordem cronológica, com intervalos de 5 anos, sendo elaborados *pools* de matrizes dos anos de 1989, 1994, 1999, 2004, 2009 e 2014;

Padronizar as técnicas de análise a serem empregadas, incluindo dentre estas, um método oficialmente aceito no Brasil para cada tipo de análise;

Realizar análises microbiológicas e físico-químicas dos *pools* das matrizes homeopáticas selecionadas;

Compilar e analisar comparativamente os dados obtidos com a literatura (Farmacopéias e outras fontes oficiais);

4 MATERIAIS E METODOLOGIA

4.1 Seleção das amostras

As amostras foram escolhidas de forma aleatória, incluído matrizes com dinamização superior a 6CH, sendo estas selecionadas apenas quanto ao ano de produção, aos quais foram atribuídos intervalos de 5 anos para matrizes produzidas e armazenadas adequadamente nos últimos 25 anos.

Seguindo o critério anteriormente exposto, foram amostradas de 6 a 10 matrizes para cada ano de produção, sendo estes 1989, 1994, 1999, 2004, 2009 e 2014, totalizando um volume de 40mL para cada ano.

Para obtenção final das amostras a serem analisadas, foi efetuada a elaboração de *pools* para cada ano de produção, resultando em 06 (seis) amostras, referentes a cada período de produção anteriormente citado.

4.2 Determinação da estabilidade físico-química

Foram avaliados dois parâmetros físico-químicos para cada um dos *pools*, sendo estes o pH e o teor de álcool.

Na determinação do pH foi utilizado papel indicador universal de pH da marca MERCK, com faixa de pH de 0 a 14 (Figura 19).

Figura 19 – Papel indicador universal de pH MERCK



Fonte: Dados da pesquisa.

A determinação do pH então foi efetuada através do emprego de bastões de vidro previamente limpos e esterilizados e da tira indicadora de pH MERCK. Utilizando-se do bastão de vidro efetuou-se o umedecimento da tira, conforme orientação do fabricante, comparando-se posteriormente a seqüência de cores formada na tira de análise ao padrão fornecido pelo fabricante, sendo que a igualdade ou maior proximidade do conjunto de cores indica o pH da amostra.

Para a determinação do teor alcoólico foram empregados três métodos distintos: o da densidade relativa, método farmacopéico de referência e adicionalmente, dois métodos não farmacopéicos complementares, o da cromatografia gasosa e o da calorimetria exploratória diferencial.

Para a execução do método de determinação da densidade relativa para cada um dos *pools*, utilizou-se um picnômetro de 5mL e a tabela alcoométrica disponibilizada na Farmacopéia Brasileira 5ª edição.

A picnometria foi executada então, utilizando-se picnômetro limpo e seco, com capacidade de 5 mL (Figura 20), previamente calibrado. A calibração foi efetuada por meio da determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água, recém destilada e fervida, a 20°C.

Figura 20 – Picnômetro com termômetro, capacidade de 5mL



Fonte: Dados da pesquisa.

Para cada *pool*, foi efetuada a transferência da amostra para o picnômetro, ajustou-se a temperatura para 20°C, removeu-se o excesso da substância e então

se efetuou a pesagem, utilizando para tanto uma balança analítica SHIMADZU AY220 devidamente calibrada, com divisão de 0,0001g, exatidão de 0,001g, carga mínima de 0,01g e máxima de 220g. Obteve-se então a massa da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio.

Após a execução da técnica, efetuaram-se os cálculos para obtenção da densidade relativa para cada *pool*, dada através da razão de sua massa pela massa de igual volume de água, ambas a 20°C (d_{20}^{20}), conforme equação abaixo:

$$d_{20}^{20} = m_{(pool)}^{20} \div m_{(água)}^{20}$$

onde:

$m_{(pool)}^{20}$ = massa do *pool* a 20°C

$m_{(água)}^{20}$ = massa da água a 20°C

A partir da densidade relativa, calculou-se a densidade de massa (ρ), para que se pudesse por fim utilizar a tabela alcoométrica (Anexo A) que correlaciona densidade de massa com o título alcoométrico ponderal (% m/m) ou volumétrico (% v/v) da amostra.

A densidade de massa do *pool* a 20°C (ρ_{20}) foi calculada então, a partir de sua densidade relativa (d_{20}^{20}) utilizando-se a fórmula abaixo descrita, onde o resultado pode ser expresso em g/mL ou Kg/L.

$$\rho_{20} = 0,99820 \times d_{20}^{20} + 0,0012$$

Outro método empregado na determinação do teor alcoólico dos *pools* foi a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Foram elaboradas nove soluções padrão de álcool em água, de maneira que as concentrações sejam, respectivamente, 55% v/v (solução padrão 1), 60% v/v (solução padrão 2), 65% v/v (solução padrão 3), 70% v/v (solução padrão 4), 75%

v/v (solução padrão 5), 80% v/v (solução padrão 6), 85% v/v (solução padrão 7), 90% v/v (solução padrão 8) e 95% v/v (solução padrão 9). Determinou-se a densidade de cada uma das soluções padrão a 20°C e obter a concentração exata de etanol pela Tabela Alcoométrica (Anexo A).

Elaborou-se uma curva de calibração através da análise das soluções padrões anteriormente citadas, utilizando-se o método do padrão interno.

O cromatógrafo utilizado foi um aparelho SHIMADZU CG Plus 2010 (Figura 21) equipado com uma coluna capilar Rtx-1 de 30m x 0,25mm carregada com dimetilpolisiloxano 100% entrecruzado e imobilizado. Utilizou-se o auto-injetor a 120°C e a coluna foi mantida a 30°C por 2 minutos, sendo posteriormente iniciado aquecimento gradual de 20°C/minuto até atingir os 100°C, obtendo-se como resultado um tempo de corrida de 10,50 minutos. Como condutor utilizou-se gás nitrogênio. O detector empregado foi o de ionização em chama, estando o mesmo a 130°C.

Figura 21 – Cromatógrafo SHIMADZU CG Plus 2010

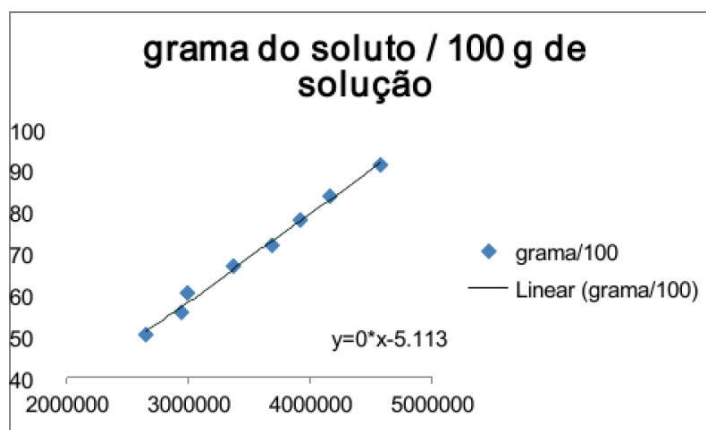


Fonte: Dados da pesquisa.

Executou-se a análise então, procedendo com a amostra e cada uma das soluções padrão como segue: preparar solução com a proporção 1:15 de amostra em relação ao padrão interno (2-propanol). Injetar quantidade, apropriada da solução, no cromatógrafo. Calcular a relação entre a área sob o pico do álcool e a área sob o pico do padrão interno nos cromatogramas.

A fórmula para o cálculo do teor de etanol foi encontrada após injeção de 1µl de padrões em triplicata, para posterior quantificação do etanol. O gráfico 1 a seguir então foi esboçado a partir da média das áreas dos padrões, obtendo-se então a curva de calibração, com coeficiente de correlação de 0,9937.

Gráfico 1 – Curva de calibração obtida no método de cromatografia a gás



Fonte: Dados da pesquisa

A fórmula obtida a partir da curva de calibração se encontra descrita abaixo:

$$y = 2 \times 10^{-5} \times (\text{área do pico de interesse}) - 5,1136$$

A aplicação da fórmula anteriormente descrita resulta na massa de soluto presente em 100g de amostra, sendo este valor ser aplicado na fórmula a seguir, visando à obtenção do respectivo título alcoométrico ponderal:

$$\% \text{ m/m} = (\text{massa do soluto} / \text{massa da solução}) \times 100$$

O terceiro método utilizado na quantificação do título alcoométrico nas amostras foi o da calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor.

Para a realização desta análise foi utilizado um equipamento SHIMADZU DSC-60 com fluxo de calor (Figura 22) aplicando-se atmosfera de nitrogênio e um

fluxo de gás de 50mL/minuto, iniciou-se o aquecimento a temperatura ambiente, com uma razão de aquecimento de 10°C/minuto até os 250°C.

Figura 22 – Equipamento de DSC SHIMADZU DSC-60 com fluxo de calor



Fonte: Dados da pesquisa.

Foi efetuada a análise de 5 padrões, etanol 55% v/v (Solução padrão 1), etanol 65% v/v (Solução padrão 2), etanol 75% v/v (Solução padrão 3), etanol 85% v/v (Solução padrão 4) e etanol 95% v/v (Solução padrão 5), sendo à partir dos resultados destas análises, calculadas as respectivas áreas das curvas endotérmicas referentes a vaporização da água, efetuando-se uma correlação entre teor de água dos padrões e área da curva, obtidos pela formula descrita abaixo:

$$\text{Correlação Teor/Área} = (\text{teor de água} / \text{área da curva})$$

A média das correlações entre teor e área (MCTA) foi então obtida e posteriormente aplicada como base para os cálculos indireto de teor das amostras analisadas, utilizando-se a fórmula a seguir:

$$\text{Título alcoométrico volumétrico} = 100 - (\text{Área da curva} \times \text{MCTA})$$

4.3 Determinação da estabilidade microbiológica

A pesquisa de microorganismos mesofílicos foi efetuada através de dois métodos diferentes, sendo o primeiro descrito a seguir:

Método 1

Este método nos foi fornecido pelo Centro de Patologia e Medicina Laboratorial (CPML) da Universidade de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL), sendo o método empregado por estes na pesquisa de microorganismos mesofílicos e patógenos.

Efetuuou-se a retirada de uma alíquota de 1mL de cada *pool*, realizando-se para cada um, a inoculação em três meios de cultura distintos, sendo estes, Ágar Sangue, Ágar Sabouraud-dextrose e Ágar MacConkey.

O Ágar Sangue é um meio de cultura diferencial não seletivo e adequado para cultura de diversas bactérias. O preparo do mesmo seguiu a composição descrita abaixo:

Extrato de Carne	10,0 g
Peptona de Caseína	10,0 g
Cloreto de Sódio	5,0 g
Ágar	15,0 g
Água purificada	1.000 mL

pH 7,30 ± 0,2. Esterilizado em autoclave usando ciclo validado.

O Ágar Sabouraud-dextrose é um meio de cultura utilizado para pesquisa de fungos, tendo sido preparado conforme descrito na FB5, 2010:

Dextrose	40,0 g
Peptonas	10,0 g
Agar	15,0 g
Água purificada	1.000 mL

pH 5,6 ± 0,2. Esterilizado em autoclave usando ciclo validado.

O Ágar MacConkey é um meio de cultura destinado ao crescimento de bactérias gram-negativas fermentadoras ou não de lactose, colônias bacterianas que fermentam a lactose tornam o meio rosa/avermelhado e as colônias de bactérias não fermentadoras da lactose tornam o meio amarelo claro. Este meio foi preparado conforme preconizado pela FB5, 2010 e descrito abaixo:

Hidrolisado de pancreático de gelatina.....	17,0 g
Peptona (carne ou caseína)	3,0 g
Lactose monoidratada	10,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Bile de boi desidratada	1,5 g
Vermelho neutro	30,0 mg
Cristal violeta.....	1,0 mg
Agar	13,5 g
Água purificada	1.000 mL

pH 7,1 ± 0,2. Ferver 1 minuto com constante agitação.
Esterilizado em autoclave usando ciclo validado.

As placas foram incubadas em estufa durante 2 dias a 37°C, tempo suficiente para o crescimento dos microorganismos mesofílicos.

Método 2

Este método, empregado na detecção da presença de patógenos segue as normas descritas na Farmacopéia Brasileira 5ª edição, as quais são expostas a seguir.

A análise seguiu conforme procedimento para contagem de micro-organismos viáveis em produtos que não necessitam cumprir com o teste de esterilidade, empregando-se então o descrito em contagem do número total de micro-organismos mesófilos aeróbicos. (FB5, 2010)

Através desse teste é possível determinar o número total de bactérias mesófilas e fungos para produtos não estéreis, o que se aplica a amostra em questão. Quando usado para esse propósito, devem-se seguir as indicações dadas, incluindo o número de amostras tomadas e interpretação dos resultados. O teste não é aplicado para produtos que contêm microorganismos viáveis como ingrediente ativo. (FB5, 2010)

Esse teste consiste na contagem da população de microorganismos que apresentam crescimento visível, em até 5 dias, em Ágar caseína-soja a $32,5^{\circ} \text{C} \pm 2,5^{\circ} \text{C}$ e em até 7 dias, em Ágar Sabouraud-dextrose a $22,5^{\circ} \text{C} \pm 2,5^{\circ} \text{C}$.

A amostra foi preparada através da transferência de 10 mL da mistura de amostra para 90 mL de solução tampão fosfato - pH 7,2 e Caldo Caseína-soja. Ajustou-se o pH para 6,0 a 8,0 com solução NaOH 0,1 M. Preparou-se diluições decimais sucessivas com o mesmo diluente.

Utilizou-se *pool* de matrizes de mesmo ano de produção, contendo 10 mL do produto a examinar.

A determinação foi efetuada através de contagem em placa, utilizando-se do Método de superfície, descrito a seguir.

Adicionou-se em placas de Petri, separadamente, 20 mL de ágar caseína soja e ágar Sabouraud-dextrose e aguardou-se a solidificação. Secaram-se as placas. Adicionou-se à superfície de cada meio de cultura, 0,1 mL da amostra preparada como descrito anteriormente. Incubou-se as placas contendo ágar caseína-soja a $32,5^{\circ} \text{C} \pm 2,5^{\circ} \text{C}$ durante 3 a 5 dias e as placas contendo ágar Sabouraud-dextrose a $22,5^{\circ} \text{C} \pm 2,5^{\circ} \text{C}$ durante 5 a 7 dias para determinação do número de microorganismos aeróbicos totais e bolores e leveduras, respectivamente. Tomou-se a média aritmética das placas de cada meio e calculou-se o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mililitro do produto.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises Físico-Químicas

No tocante as análises físico-químicas efetuadas nos *pools* (1989, 1994, 1999, 2004, 2009 e 2014), estas foram relativas a aspecto macroscópico, pH e teor alcoólico. Os resultados obtidos serão então expostos e discutidos a seguir.

A avaliação de aspecto dos *pools* das matrizes se encontra exposta no quadro 1, que segue abaixo:

Quadro 1 – Descrição de aspecto das amostras analisadas

Amostra	Aspecto
<i>Pool 1989</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico
<i>Pool 1994</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico
<i>Pool 1999</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico
<i>Pool 2004</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico
<i>Pool 2009</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico
<i>Pool 2014</i>	Líquido incolor, límpido e com odor etanólico característico

Fonte: Dados da pesquisa

O aspecto encontrado para todos os *pools* são compatíveis com o esperado, pois sendo os mesmos, misturas de matrizes homeopáticas resultantes de diluições infinitesimais, devem apresentar-se então com aspecto compatível a uma solução hidroalcoólica de elevado teor etanólico.

No que cinge a avaliação da acidez das amostras, para todos os *pools* analisados, obteve-se um pH entre 5-6, conforme demonstrado na figura 23.

Apesar de ácida, a faixa de pH encontrada para todos os *pools* não possui grande influência no crescimento de microorganismos patogênicos, tendo em vista que os mesmos encontram um ambiente mais propício para reprodução em uma faixa de pH entre 5 e 8.

Figura 23 – Avaliação do pH utilizando papel indicador de pH MERCK



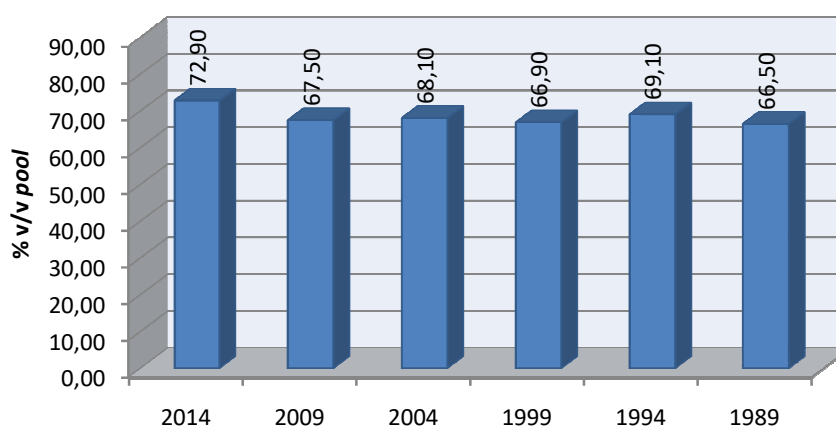
Fonte: Dados da pesquisa

A avaliação do título alcoométrico das amostras foi efetuada utilizando-se três métodos distintos, o da densidade relativa, realizado através da picnometria, o da cromatografia gasosa e o da calorimetria exploratória diferencial.

Os dados obtidos através do método da densidade relativa foram tratados conforme especificado pela FB5 e como resultado obteve-se os teores alcoólicos para cada *pool*, como títulos volumétrico (%v/v) e ponderal (%m/m).

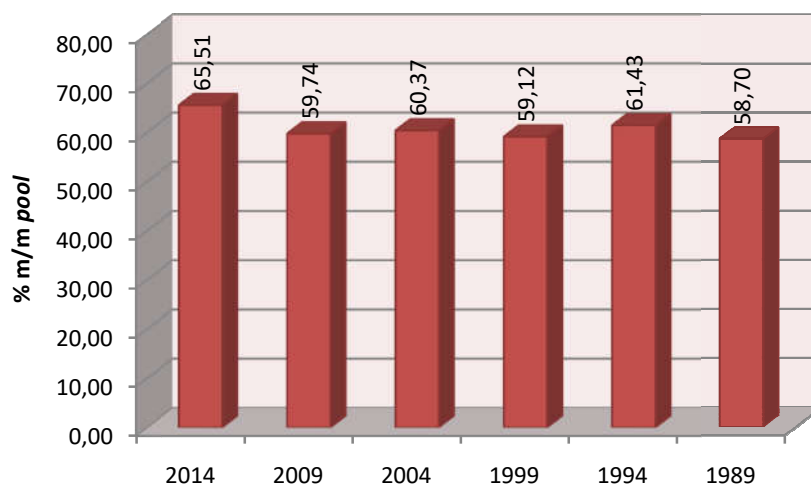
Os gráficos 2 e 3 a seguir, demonstram os resultados obtidos através do método da densidade relativa:

Gráfico 2 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) das amostras analisadas



Fonte: Dados da pesquisa

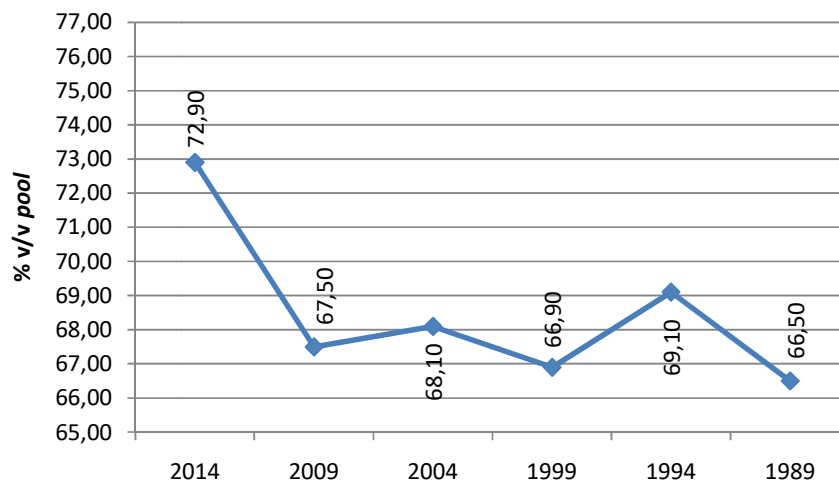
Gráfico 3 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) das amostras analisadas



Fonte: Dados da pesquisa

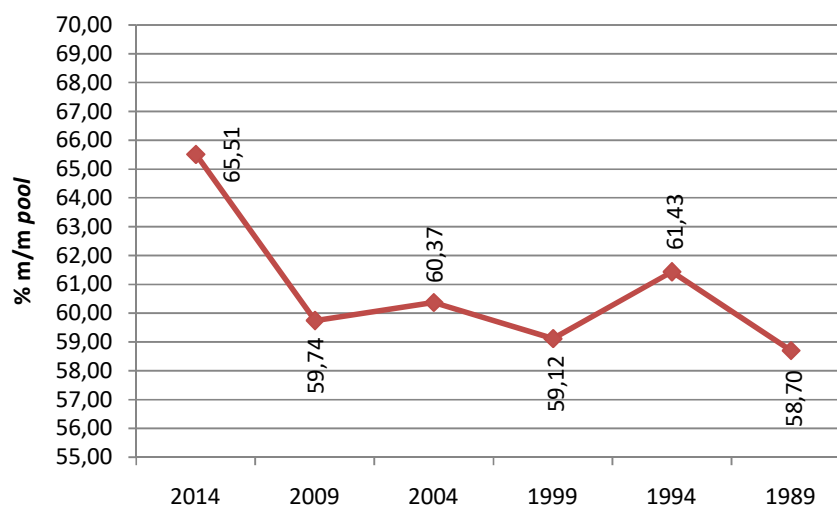
Os gráficos 4 e 5, demonstram a oscilação do teor alcoólico das amostras considerando uma faixa mais estreita de teor.

Gráfico 4 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) das amostras analisadas



Fonte: Dados da pesquisa

Gráfico 5 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) das amostras analisadas



Fonte: Dados da pesquisa

Baseado nos dados obtidos efetuou-se a constatação de um erro sistemático na preparação das matrizes homeopáticas, estando todos os *pools* fora da faixa estabelecida pela Farmacopéia Homeopática Brasileira 3ª edição (FHB3), que especifica que o insumo inerte (veículo) utilizado seja uma solução hidroalcoólica a 77% (v/v), o que equivale a 70% (m/m) em etanol.

As amostras analisadas se encontram em uma faixa de 66,5% a 72,9% (v/v) ou 58,7 a 65,51% (m/m), sendo assim abaixo da especificação farmacopéica, entretanto com concentrações extremamente próximas entre as amostras analisadas (a exceção do *pool* 2014), o que nos levou a averiguação do método de preparo junto à farmácia de manipulação, constatando o devido erro no processo de diluição do etanol.

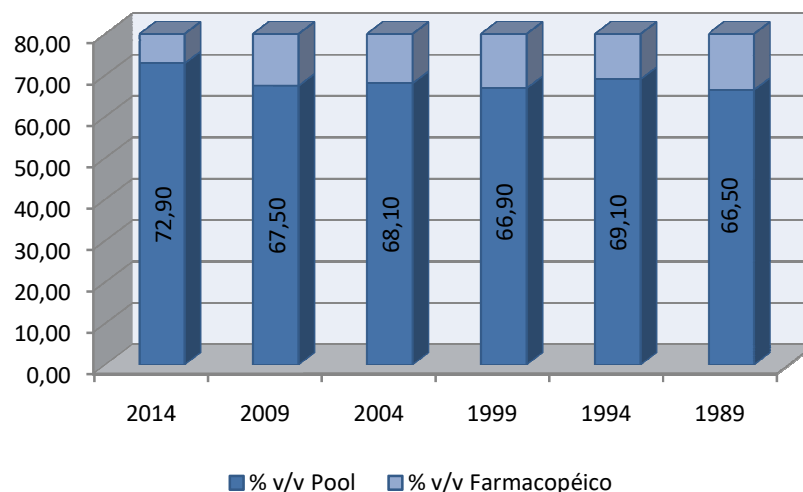
Foi constatado que a produção do etanol diluente das matrizes estava sendo executada mediante utilização do teor exposto no laudo do fabricante do etanol concentrado, efetuando-se diluição em volume para 70% v/v e utilizando-se para tanto uma proveta graduada, a temperatura ambiente.

A soma dos erros de produção, dos quais a ausência de conferência do teor do etanol concentrado, o preparo diretamente em proveta sem consideração da margem de erro da vidraria e/ou ajuste da temperatura da solução e, sobretudo o

preparo já em concentração inferior a especificada pela FHB3, que especifica 77% v/v, justificam os valores desarmônicos encontrados em nossa pesquisa.

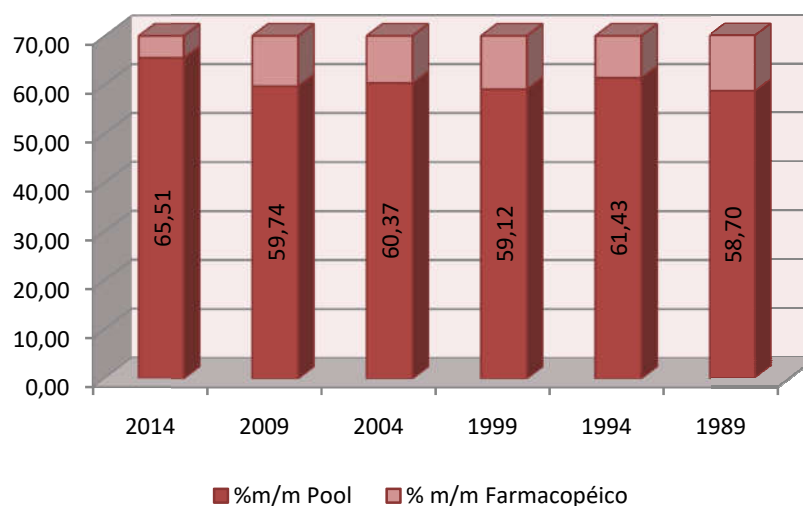
Os gráficos 6 e 7 abaixo ilustram a diferença entre os títulos alcoométricos encontrados e os esperados conforme especificação farmacopéica:

Gráfico 6 – Título alcoométrico volumétrico (%v/v) *pools* x especificação farmacopéica (77% v/v)



Fonte: Dados da pesquisa

Gráfico 7 – Título alcoométrico ponderal (%m/m) *pools* x especificação farmacopéica (70% m/m)



Fonte: Dados da pesquisa

A análise dos dados físico-químicos obtidos destaca em primeiro plano a necessidade de adequação do método de preparo das matrizes homeopáticas pela farmácia de manipulação avaliada, visando à adequação do título alcoométrico das matrizes aos valores especificados pela Farmacopéia Homeopática Brasileira 3ª edição, sejam estes, 77% (v/v) o que equivale a 70% (m/m), ou superior.

A adequação do teor das matrizes já existentes poderia ser efetuada mediante adição de etanol de concentração superior a 90% utilizando-se do cálculo e procedimento discriminados abaixo:

Passo 1

Determinar a densidade de massa da matriz e seu título alcoométrico ponderal

Passo 2

Determinar a densidade relativa do etanol complementar e seu título alcoométrico ponderal (Deverá ser superior a 90%)

Passo 3

Determinar o volume de etanol complementar a ser adicionado, utilizando a fórmula:

$$V_{\text{etanol}} = \frac{6,083287 - [(D_{\text{matriz}} \times 5) \times TP_{\text{matriz}} / 100]}{D_{\text{etanol}} \times (TP_{\text{etanol}} / 100)}$$

Onde,

TP = Título ponderal (%m/m).

D = Densidade de massa

Passo 4

Utilizando um balão volumétrico com capacidade para 10mL, adicionar 5 mL da matriz, adicionar o V_{etanol} estabelecido através do cálculo e adicionar água

purificada q.s.p. 10mL. As substâncias deverão estar a 20°C para que se mantenham as características de densidade/teor necessárias.

Apesar do ajuste técnico do teor alcoólico ser possível através deste procedimento, o mesmo se torna inviável para a adequação do título alcoométrico das matrizes, pois não obedece a filosofia homeopática de diluições sucessivas atreladas ao processo de dinamização da matriz.

No tocante a estabilidade do teor alcoólico das matrizes, relacionada ao tempo de armazenamento, só se torna permitido inferir algo sobre este ponto, se considerarmos que o erro sistemático na produção das matrizes ocorre de forma reprodutível e linear desde o início da produção das amostras analisadas, ou seja, desde 1989.

A avaliação da média do teor alcoólico e do desvio padrão (DP) resultante da análise destes valores, nos dá um bom indicativo da reprodutibilidade e linearidade do erro, através do grau de dispersão dos valores, sendo nas amostras analisadas, encontrados os valores descritos no quadro 2.

Quadro 2 – Dados estatísticos de média e desvio padrão

Amostra/Ano	% v/v	Dispersão	%m/m	Dispersão
Pool 2014	72,90	+2,057 DP	65,51	+2,063 DP
Pool 2009	67,50	-0,468 DP	59,74	-0,471 DP
Pool 2004	68,10	-0,187 DP	60,37	-0,194 DP
Pool 1999	66,90	-0,748 DP	59,12	-0,743 DP
Pool 1994	69,10	+0,281 DP	61,43	+0,272 DP
Pool 1989	66,50	-0,935 DP	58,70	-0,927 DP
Média	68,50	-----	60,81	-----
Desvio Padrão (DP)	2,14	-----	2,28	-----

Fonte: Dados da pesquisa

Com base na avaliação dos dados, apreendeu-se que a dispersão dos valores é pequena, sendo o *pool* 2014 o único a possuir dispersão ligeiramente maior que 2 desvios padrão, sendo que 83,33% das amostras se encontram a

menos que 1 DP da média aritmética das concentrações e apenas 16,67% foge a esse desvio, ficando ligeiramente acima de 2DP em relação a média.

Sendo o *pool* de maior dispersão o do ano de 2014, possuindo título etanólico mais elevado que os demais, aventa-se a hipótese de que o decaimento de teor denotado entre este e as demais amostras, seja decorrente do seu tempo de armazenamento reduzido, sendo o decaimento mais acentuado nos primeiros 5 anos, entretanto linear e relacionado a maior manipulação das matrizes dentro do prazo legal de validade.

Tendo em vista a melhor compreensão deste comportamento, foram realizadas análises físico-químicas complementares a novos *pools* preparados a partir de matrizes dos anos de 2010, 2011, 2012 e 2013, no intuito de aprofundar a análise de correlação com uma possível linearidade do título etanólico das matrizes armazenadas, confirmando ou refutando a hipótese anteriormente citada. Os dados obtidos se encontram descritos no quadro 3.

Quadro 3 – Títulos alcoométricos dos *pools* complementares

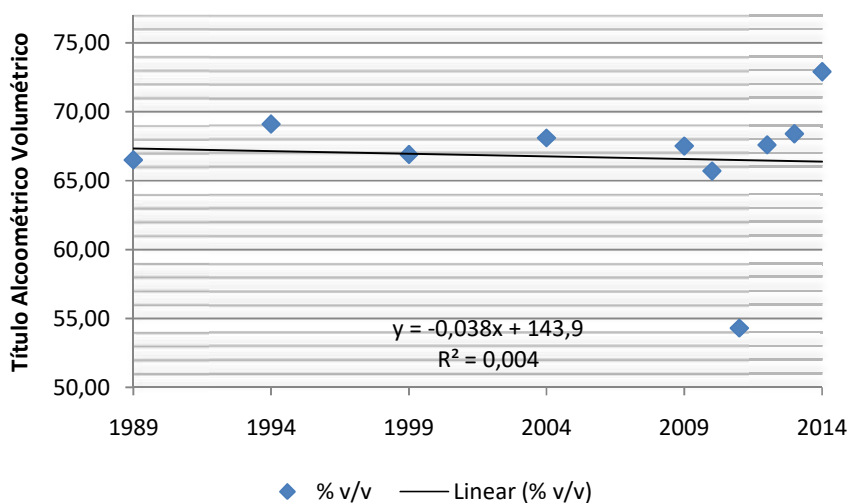
Amostra/Ano	% v/v	%m/m
<i>Pool 2013</i>	68,40	60,69
<i>Pool 2012</i>	67,60	59,85
<i>Pool 2011</i>	54,30	46,51
<i>Pool 2010</i>	65,70	57,87

Fonte: Dados da pesquisa

A análise dos dados obtidos para todos os *pools* gerou o gráfico 8 que descreve a dispersão dos títulos alcoométricos volumétricos, o qual evidencia ausência de linearidade nos títulos etanólicos das amostras, demonstrada sobretudo nos novos *pools* compreendidos entre os anos de 2010 e 2013, o que refuta a hipótese de um decaimento linear mais acentuado nos primeiros anos de armazenamento.

Considerando todos os *pools* analisados, a dispersão em relação à linha de tendência linear demonstra a elevada variação entre os valores, o que é corroborado pelo baixíssimo coeficiente de correlação, de apenas 0,004.

Gráfico 8 – Dispersão dos títulos alcoométricos volumétricos



Fonte: Dados da pesquisa

Analisando então os dados obtidos através da picnometria, constata-se que a ampla oscilação dos teores nos *pools*, atrelada a falta de linearidade destas variações, torna inviável a inferência de conclusões acerca da estabilidade físico-química das matrizes homeopáticas amostradas, tendo em vista a impossibilidade da correlação entre a variação de teor e o tempo de armazenamento.

Na análise do título alcoométrico utilizando métodos analíticos complementares não oficiais, como alternativa ao método da densidade relativa, visando a possibilidade de avaliação do teor etanólico com volume diminuto de amostra, foram obtidos os resultados expostos e discutidos a seguir.

O método da cromatografia gasosa proposto, obteve como resultados os dados expostos no quadro 4, que foram confrontados com os títulos alcoométricos ponderais encontrados pelo método da densidade relativa utilizando a picnometria, conforme quadro 5.

Quadro 4 – Dados obtidos através das análises por cromatografia gasosa

Amostra/Ano	Tempo de Retenção	Área do Pico	Teor Etanol (% m/m)
<i>Pool 2014</i>	4,666	1647605,3	27,84
<i>Pool 2009</i>	4,652	1418458,1	23,26
<i>Pool 2004</i>	4,655	1188911,1	18,66
<i>Pool 1999</i>	4,652	1263601,2	20,16
<i>Pool 1994</i>	4,655	1149338,4	17,87
<i>Pool 1989</i>	4,660	1004668,6	14,98

Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 5 – Títulos alcoométricos ponderais – Picnometria x Cromatografia Gasosa (CG)

Amostra/Ano	Picnometria (% m/m)	CG (% m/m)
<i>Pool 2014</i>	65,51	27,84
<i>Pool 2009</i>	59,74	23,26
<i>Pool 2004</i>	60,37	18,66
<i>Pool 1999</i>	59,12	20,16
<i>Pool 1994</i>	61,43	17,87
<i>Pool 1989</i>	58,70	14,98

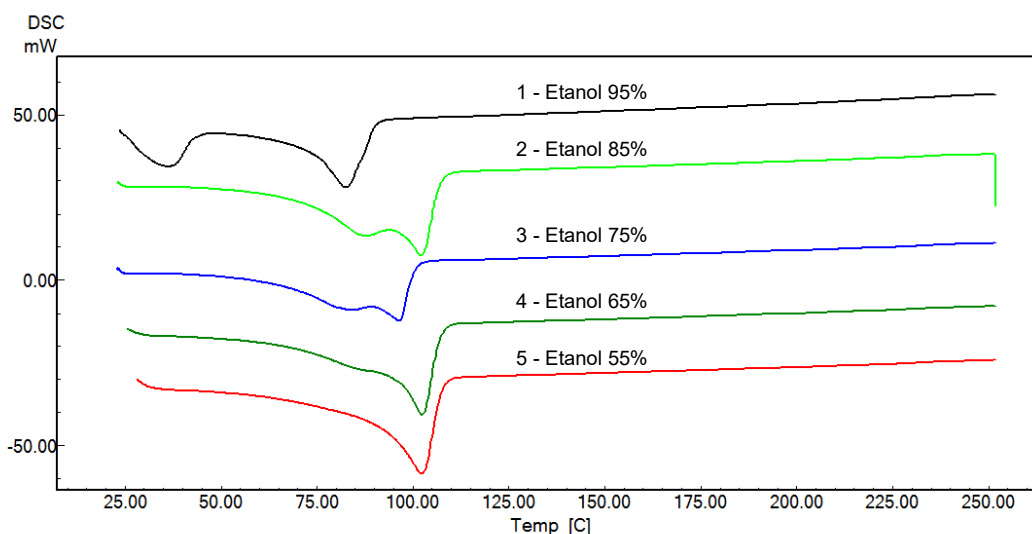
Fonte: Dados da pesquisa

A análise dos dados obtidos denota a necessidade de ajuste do método, tendo em vista que os valores de teor em massa de etanol obtidos estão completamente desarmônicos com os valores obtidos pelo método farmacopéico da densidade relativa por picnometria.

Com a aplicação do método da calorimetria exploratória diferencial (DSC), foram obtidas para as soluções hidroalcoólicas padrão, as curvas demonstradas no gráfico 9, que correlaciona a variação da energia com a temperatura.

Determinou-se a área de cada pico e correlacionou-se com o teor de água em volume (%v/v) (obtido de forma indireta através da picnometria) do respectivo padrão, obtendo-se então a partir desses dados a correlação teor/área, as quais foram utilizadas para obtenção de uma correlação média, que foi aplicada nos cálculos de teor das amostras, conforme demonstrado no quadro 6.

Gráfico 9 – Análise DSC dos padrões de soluções hidroalcoólicas



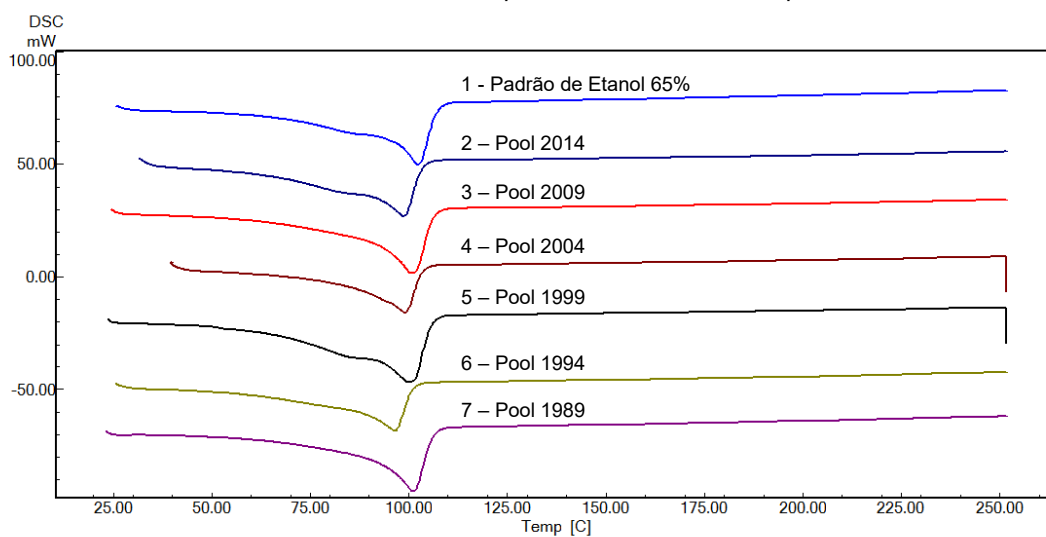
Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 6 – Análise DSC, obtenção da correlação teor/área para água nos padrões

Padrões	(%v/v etanol)	(%v/v água)	Área	Correlação Teor/Área (Água)
Etanol 55%	53,00	47,00	7,069893	6,64790825
Etanol 65%	63,90	36,10	6,556708	5,505811758
Etanol 75%	74,30	25,70	4,209965	6,104563815
Etanol 85%	84,10	15,90	5,310661	2,993977478
Etanol 95%	94,50	5,50	3,432266	1,602440049
			Média	4,57094027

Fonte: Dados da pesquisa

Após a determinação das áreas dos picos, obteve-se o teor de água das amostras através da multiplicação da área do pico do respectivo *pool* (gráfico 10) pela média das correlações teor de água/área dos padrões (CTAP), o teor etanólico foi então deduzido à partir do teor da água (visto que os *pools* podem ser considerados soluções hidroalcoólicas), conforme descrito no quadro 7, os valores encontrados foram então confrontados com os valores das análises realizadas através do método farmacopéico da densidade relativa por picnometria (quadro 8).

Gráfico 10 – Análise DSC dos *pools* de matrizes homeopáticas

Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 7 – Determinação do teor (%v/v) das amostras utilizando dados da DSC

Amostra	Área	CTAP	Teor Água (%v/v)	Teor Etanol (%v/v)
Pool 2014	6,381844	4,57094	29,17102774	70,82897226
Pool 2009	7,239037	4,57094	33,08920574	66,91079426
Pool 2004	5,249688	4,57094	23,99601028	76,00398972
Pool 1999	7,275826	4,57094	33,25736606	66,74263394
Pool 1994	4,406253	4,57094	20,14071928	79,85928072
Pool 1989	7,062836	4,57094	32,28380149	67,71619851

Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 8 – Títulos alcoométricos volumétricos – Picnometria x DSC

Amostra/Ano	Picnometria (% v/v)	DSC (%v/v)
Pool 2014	72,90	70,83
Pool 2009	67,50	66,91
Pool 2004	68,10	76,00
Pool 1999	66,90	66,74
Pool 1994	69,10	79,86
Pool 1989	66,50	67,72




Fonte: Dados da pesquisa

As análises realizadas demonstram a viabilidade na aplicação deste método para determinação do teor alcoólico em soluções hidroalcoólicas, visto a proximidade dos valores encontrados se comparados a picnometria, entretanto, alguns parâmetros necessitam ser revistos, como a razão de aquecimento e o preparo das amostras, visando uma melhoria na linearidade do método, o qual obteve para os padrões, um coeficiente de correlação de 0,78, o que deixa ainda uma margem de erro de 22%, extremamente elevada, mas que pode ser minorada com a realização de ajustes a metodologia.

5.2 Análises Microbiológicas










No tocante as análises microbiológicas, a pesquisa de microorganismos mesofílicos efetuada conforme o método 1, indicou a ausência de crescimento de colônias, para os *pools* analisados (1989 , 1994, 1999, 2004, 2009 e 2014) quando inoculados e incubados nos meio ágar sangue, ágar MacConkey e ágar sabouraud dextrose, conforme resultados de controle positivo e amostras, demonstrados nos quadros 9 e 10.

Quadro 9 – Controle positivo - Método 1

Controle Positivo dos Meios de Cultura		
Ágar Sangue	Ágar MacConkey	Ágar Sabouraud Dextrose
		

Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 10 – Resultado das análises microbiológicas pelo método 1

Amostra / Anos	Meio de Cultura		
	Ágar Sangue	Ágar MacConkey	Ágar Sabouraud Dextrose
Pools 1989 e 1999			
Pools 1994 e 2004			
Pools 2009 e 2014			

Fonte: Dados da pesquisa

A pesquisa de microorganismos mesofílicos efetuada conforme o método 2, foi executada pela empresa PROQUIMO Laboratório Indústria Comércio e Representação de Produtos Químicos, Farmacêuticos e Biológicos Ltda, laboratório

oficial da Associação Nacional de Farmácias Magistrais do Brasil (ANFARMAG) sob o projeto do Sistema Nacional de Aperfeiçoamento e Monitoramento Magistral (SINAMM), conforme laudos em anexo (Anexo B), estando os resultados obtidos dispostos nos quadros 11 e 12.

Quadro 11 – Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e avaliação de patógenos – FB5

Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Avaliação de Patógenos – FB5			
Amostra/Ano	Resultado	Patógenos	Especificações
Pool 2014	< 10 UFC/grama	Ausentes	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama Patógenos: <i>E. coli</i>; <i>S. aureus</i>; <i>P. aeruginosa</i> e <i>Salmonella sp.</i>
Pool 2009	< 10 UFC/grama	Ausentes	
Pool 2004	< 10 UFC/grama	Ausentes	
Pool 1999	< 10 UFC/grama	Ausentes	
Pool 1994	< 10 UFC/grama	Ausentes	
Pool 1989	< 10 UFC/grama	Ausentes	

Fonte: Dados da pesquisa

Quadro 12 – Contagem total de fungos (Bolores e Leveduras) – FB5

Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras) - FB5		
Amostra/Ano	Resultado	Especificação
Pool 2014	< 10 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama
Pool 2009	< 10 UFC/grama	
Pool 2004	< 10 UFC/grama	
Pool 1999	< 10 UFC/grama	
Pool 1994	< 10 UFC/grama	
Pool 1989	30 UFC/grama	

Fonte: Dados da pesquisa

Após avaliação das análises microbiológicas, denotamos a ausência de crescimento de microorganismos mesofílicos através do método 1, fato já esperado, tendo em vista que conforme as análises físico-químicas demonstradas anteriormente, os *pools* possuíam teor alcoólico acima de 60% (v/v), característica essa, que segundo Rowe (2009), levam estas soluções ao status de bactericidas.

Ainda que em concentrações inferiores a 60 % (v/v), porém iguais ou superiores a 10% (v/v), desde que obedecidas às boas práticas de manipulação,

espera-se a manutenção dos níveis de contaminação microbiana dentro dos padrões aceitos pela FB5, devido à ação conservante antimicrobiana produzida pelo etanol nesta faixa.

A ausência de crescimento de microorganismos mesofílicos constatada no método 1 descarta a necessidade da pesquisa específica de patógenos, para este método, tendo em vista, que estes se enquadram dentro deste grupo, portanto, a ausência de crescimento de microorganismos mesofílicos infere a ausência de patógenos nas amostras analisadas.

As análises microbiológicas realizadas utilizando-se o método farmacopéico (método 2), contribuem para a confirmação da estabilidade microbiológica, uma vez que, se denota um crescimento ínfimo de UFC, se considerarmos o limite permitido, e confirma-se a ausência de patógenos.

Os estudos de Sá (2007), analisando microbiologicamente medicamentos homeopáticos, constituídos por soluções hidroalcoólicas a 30 e 70%, preparadas por equipe especializada em homeopatia, corroboram estes resultados, quando o mesmo constata que todas as amostras diluídas em etanol 70% obedeceram aos limites preconizados pelas Farmacopéias Brasileira e Européia para a contagem de bactérias e fungos, incluindo patógenos.

Infere-se então, com base nos dados obtidos, que todos os *pools* conservaram durante o período de armazenamento a qualidade microbiológica exigida pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, que preconiza uma contagem de, no máximo 10^3 UFC/mL e ausência de patógenos.

Visto os fatos expostos, considerando as amostras utilizadas, podemos afirmar que a integridade microbiológica das matrizes homeopáticas foi conservada durante um período de 25 anos de armazenamento.

6 CONCLUSÕES

Baseado nos dados obtidos serão efetuadas algumas apreciações acerca da estabilidade físico-química e microbiológica das matrizes homeopáticas.

No que cinge a estabilidade físico-química, os valores obtidos são consistentes e os métodos empregados adequados ao necessário, entretanto o erro sistemático detectado na preparação das matrizes impossibilitou a obtenção de dados que viabilizassem afirmações acerca do decaimento do título alcoométrico das mesmas em função do tempo, no momento em que, como demonstrado, não foi possível delinear correlações reprodutíveis e lineares das variações dos títulos etanólicos das amostras analisadas.

No tocante as análises microbiológicas, realizadas por métodos distintos, consegue-se determinar de forma concisa, que o tempo de armazenamento não exerce influência na estabilidade microbiológica das matrizes, demonstrando que conforme descrito na literatura, soluções com títulos etanólicos desta magnitude, garantem a inibição do crescimento e/ou sobrevivência de microorganismos mesofílicos e patogênicos. Considerando os fatos expostos, pode-se então afirmar que para os *pools* de matrizes analisados, a estabilidade microbiológica perdurou pelo período de 25 anos, considerando então que os métodos de preparo e armazenamento de matrizes homeopáticas são estabelecidos e normatizados pela Farmacopéia Homeopática Brasileira, sugere-se que esta característica se estenda a qualquer matriz, desde que preparada e armazenada conforme especificado.

Como contribuição deste trabalho, foi realizada junto à farmácia de manipulação homeopática produtora das matrizes, a adequação do método produtivo do veículo utilizado para as matrizes em estoque, atendendo a partir desta, o que é preconizado pela Farmacopéia Homeopática Brasileira 3ª edição, obtendo-se de forma satisfatória as soluções etanólicas a no mínimo 77% v/v ou 70% m/m.

REFERÊNCIAS

ANSEL, H.C.; STOKLOSA, M.J. **Cálculos farmacêuticos**. 12.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

AZEVEDO, E.; PELICIONI, M.C.F. Práticas integrativas e complementares de desafios para a educação. **Trab. Educ. Saúde**. Rio de Janeiro, nov.11/fev.2012, v. 9, n. 3, p. 361-378.

BARNES, J. Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I: Regulation and quality. **J Clin Pharmacol**. 2003a. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1884210/>> Acesso em: 22 out. 2014.

BARNES, J. Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part II: Efficacy and safety. **J Clin Pharmacol**. 2003b. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1884225/>> Acesso em: 22 out. 2014.

BENCKE, A.; FISCHER, M.I.; SARTORI, A.A.T. ESTABILIDADE: Formulações Homeopáticas. Rio Grande do Sul: Centro de informação de medicamentos do Rio Grande do Sul. n. 3, Julho 2007.

BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**. São Paulo, 2002, v. 25, n. 5, p. 849-855.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade para Medicamentos Dinamizados. Instrução Normativa N° 4, de 11 de abril de 2007b.

BROOKS, G.F. et al. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CABÉ, C.M. **Determinação de parâmetros de qualidade para formas farmacêuticas homeopáticas.** 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

CESAR, A.T.; CEGALLA, V.T. Certificados de qualidade para matrizes homeopáticas. **Revista de Homeopatia.**, São Paulo, v. 4, n. 74, p. 70-77.

CORRÊA, A.D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L.E.M. Similia Similibus Curentur: notação histórica da medicina homeopática. **Rev. Ass. Med. Bras.**, São Paulo, v. 4, n. 43, p. 347-351.

DEGANI, A.L.G.; CASS, O.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova Interativa: sociedade brasileira de química.** Maio de 1998. Disponível em: <<http://qnint.sbq.org.br/qni/visualizarConceito.php?idConceito=33>>. Acesso em: 26 ago. 2014.

Farmacopéia Homeopática Brasileira. 3ª edição. São Paulo, 2011.

Farmacopéia Brasileira. 5ª edição, v. 1. Brasília, 2010.

GIL, E.S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos.** 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007.

HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa.** 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

LOUDON, I. A brief history of homeopathy. **Journal of the Royal society of medicine.** London, Dec 1, 2006. V. 99, p. 607-610.

MENDHAM, M.A. et al. **Vogel Análise Química Quantitativa.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** V. 1, 2. ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; PINTO, A.F. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

SÁ, F.A.S. et al. Análise microbiológica de medicamentos homeopáticos hidroalcoólicos. **Revista eletrônica de farmácia**. Vol. IV, 89-91, 2007. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/12503/8222>> Acesso em: 21 out. 2014.

SANTOS, R.; SÁ, F.M.P. HOMEOPATIA: Histórico e fundamentos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**. Jan-jun de 2014. Disponível em: <<http://www.faema.edu.br/revistas/index.php/Revista-FAEMA/article/view/206/166>>. Acesso em: 28 fev. 2015.

SILVA JÚNIOR, J.O.C. et al. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Julho de 2011. **InTech**. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/quality-control-of-herbal-medicines-and-related-areas/processing-and-quality-control-of-herbal-drugs-and-their-derivatives>>. Acesso em: 19 out. 2014.

SKOOG, D.A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2007.

USP 35. The United States Pharmacopeia. *United States Pharmacopeial Convention*: Rockville, MD, December 2012, 35th revision.

WEATHERLY, C.A.; WOODS, R.M.; ARMSTRONG, D.W. Rapid analysis of ethanol and water in commercial products using ionic liquid capillary gas chromatography with thermal conductivity detection and/or barrier discharge ionization detection. **Journal of agricultural and food chemistry**. California, february 17, 2014, 62, 1832-1838.

ANEXO A – TABELA ALCOOMÉTRICA

ANEXO A – ALCOOMETRIA

Tabela Alcoométrica (20 °C)

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
0,0	0,0	998,20	0,999997
0,1	0,08	998,05	0,999846
0,2	0,16	997,90	0,999696
0,3	0,24	997,75	0,999546
0,4	0,32	997,59	0,999386
0,5	0,40	997,44	0,999235
0,6	0,47	997,29	0,999085
0,7	0,55	997,14	0,998935
0,8	0,63	996,99	0,998785
0,9	0,71	996,85	0,998644
1,0	0,79	996,70	0,998494
1,1	0,87	996,55	0,998344
1,2	0,95	996,40	0,998194
1,3	1,03	996,25	0,998043
1,4	1,11	996,11	0,997903
1,5	1,19	995,96	0,997753
1,6	1,27	995,81	0,997602
1,7	1,35	995,67	0,997462
1,8	1,43	995,52	0,997312
1,9	1,51	995,38	0,997172
2,0	1,59	995,23	0,997021
2,1	1,67	995,09	0,996881
2,2	1,75	994,94	0,996731
2,3	1,82	994,80	0,996591
2,4	1,90	994,66	0,996450
2,5	1,98	994,51	0,996300
2,6	2,06	994,37	0,996160
2,7	2,14	994,23	0,996020
2,8	2,22	994,09	0,995879
2,9	2,30	993,95	0,995739
3,0	2,38	993,81	0,995599
3,1	2,46	993,66	0,995449
3,2	2,54	993,52	0,995308
3,3	2,62	993,38	0,995168
3,4	2,70	993,24	0,995028
3,5	2,78	993,11	0,994898
3,6	2,86	992,97	0,994757
3,7	2,94	992,83	0,994617
3,8	3,02	992,69	0,994477
3,9	3,10	992,55	0,994337

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
4,0	3,18	992,41	0,994196
4,1	3,26	992,28	0,994066
4,2	3,34	992,14	0,993926
4,3	3,42	992,00	0,993786
4,4	3,50	991,87	0,993655
4,5	3,58	991,73	0,993515
4,6	3,66	991,59	0,993375
4,7	3,74	991,46	0,993245
4,8	3,82	991,32	0,993104
4,9	3,90	991,19	0,992974
5,0	3,98	991,06	0,992844
5,1	4,06	990,92	0,992704
5,2	4,14	990,79	0,992573
5,3	4,22	990,65	0,992433
5,4	4,30	990,52	0,992303
5,5	4,38	990,39	0,992173
5,6	4,46	990,26	0,992042
5,7	4,54	990,12	0,991902
5,8	4,62	989,99	0,991772
5,9	4,70	989,86	0,991642
6,0	4,78	989,73	0,991512
6,1	4,87	989,60	0,991381
6,2	4,95	989,47	0,991251
6,3	5,03	989,34	0,991121
6,4	5,11	989,21	0,990991
6,5	5,19	989,08	0,990860
6,6	5,27	988,95	0,990730
6,7	5,35	988,82	0,990600
6,8	5,43	988,69	0,990470
6,9	5,51	988,56	0,990339
7,0	5,59	988,43	0,990209
7,1	5,67	988,30	0,990079
7,2	5,75	988,18	0,989959
7,3	5,83	988,05	0,989828
7,4	5,91	987,92	0,989698
7,5	5,99	987,79	0,989568
7,6	6,07	987,67	0,989448
7,7	6,15	987,54	0,989318
7,8	6,23	987,42	0,989197
7,9	6,32	987,29	0,989067
8,0	6,40	987,16	0,988937
8,1	6,48	987,04	0,988817
8,2	6,56	986,91	0,988686
8,3	6,64	986,79	0,988566
8,4	6,72	986,66	0,988436
8,5	6,80	986,54	0,988316
8,6	6,88	986,42	0,988196
8,7	6,96	986,29	0,988065
8,8	7,04	986,17	0,987945
8,9	7,12	986,05	0,987825

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
9,0	7,20	985,92	0,987695
9,1	7,29	985,80	0,987574
9,2	7,37	985,68	0,987454
9,3	7,45	985,56	0,987334
9,4	7,53	985,44	0,987214
9,5	7,61	985,31	0,987084
9,6	7,69	985,19	0,986963
9,7	7,77	985,07	0,986843
9,8	7,85	984,95	0,986723
9,9	7,93	984,83	0,986603
10,0	8,01	984,71	0,986482
10,1	8,10	984,59	0,986362
10,2	8,18	984,47	0,986242
10,3	8,26	984,35	0,986122
10,4	8,34	984,23	0,986002
10,5	8,42	984,11	0,985881
10,6	8,50	983,99	0,985761
10,7	8,58	983,88	0,985651
10,8	8,66	983,76	0,985531
10,9	8,75	983,64	0,985411
11,0	8,83	983,52	0,985290
11,1	8,91	983,40	0,985170
11,2	8,99	983,29	0,985060
11,3	9,07	983,17	0,984940
11,4	9,15	983,05	0,984819
11,5	9,23	982,94	0,984709
11,6	9,32	982,82	0,984589
11,7	9,40	982,70	0,984469
11,8	9,48	982,59	0,984359
11,9	9,56	982,47	0,984238
12,0	9,64	982,35	0,984118
12,1	9,72	982,24	0,984008
12,2	9,80	982,12	0,983888
12,3	9,89	982,01	0,983778
12,4	9,97	981,89	0,983657
12,5	10,05	981,78	0,983547
12,6	10,13	981,67	0,983437
12,7	10,21	981,55	0,983317
12,8	10,29	981,44	0,983207
12,9	10,37	981,32	0,983086
13,0	10,46	981,21	0,982976
13,1	10,54	981,10	0,982866
13,2	10,62	980,98	0,982746
13,3	10,70	980,87	0,982636
13,4	10,78	980,76	0,982525
13,5	10,87	980,64	0,982405
13,6	10,95	980,53	0,982295
13,7	11,03	980,42	0,982185
13,8	11,11	980,31	0,982075
13,9	11,19	980,19	0,981954

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
14,0	11,27	980,08	0,981844
14,1	11,36	979,97	0,981734
14,2	11,44	979,86	0,981624
14,3	11,52	979,75	0,981514
14,4	11,60	979,64	0,981403
14,5	11,68	979,52	0,981283
14,6	11,77	979,41	0,981173
14,7	11,85	979,30	0,981063
14,8	11,93	979,19	0,980953
14,9	12,01	979,08	0,980842
15,0	12,09	978,97	0,980732
15,1	12,17	978,86	0,980622
15,2	12,26	978,75	0,980512
15,3	12,34	978,64	0,980402
15,4	12,42	978,53	0,980291
15,5	12,50	978,42	0,980181
15,6	12,59	978,31	0,980071
15,7	12,67	978,20	0,979961
15,8	12,75	978,09	0,979851
15,9	12,83	977,98	0,979740
16,0	12,91	977,87	0,979630
16,1	13,00	977,76	0,979520
16,2	13,08	977,65	0,979410
16,3	13,16	977,55	0,979310
16,4	13,24	977,44	0,979199
16,5	13,32	977,33	0,979089
16,6	13,41	977,22	0,978979
16,7	13,49	977,11	0,978869
16,8	13,57	977,00	0,978759
16,9	13,65	976,89	0,978648
17,0	13,74	976,79	0,978548
17,1	13,82	976,68	0,978438
17,2	13,90	976,57	0,978328
17,3	13,98	976,46	0,978218
17,4	14,07	976,35	0,978107
17,5	14,15	976,25	0,978007
17,6	14,23	976,14	0,977897
17,7	14,31	976,03	0,977787
17,8	14,40	975,92	0,977677
17,9	14,48	975,81	0,977566
18,0	14,56	975,71	0,977466
18,1	14,64	975,60	0,977356
18,2	14,73	975,49	0,977246
18,3	14,81	975,38	0,977136
18,4	14,89	975,28	0,977036
18,5	14,97	975,17	0,976925
18,6	15,06	975,06	0,976815
18,7	15,14	974,95	0,976705
18,8	15,22	974,85	0,976605
18,9	15,30	974,74	0,976495

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
19,0	15,39	974,63	0,976384
19,1	15,47	974,52	0,976274
19,2	15,55	974,42	0,976174
19,3	15,63	974,31	0,976064
19,4	15,72	974,20	0,975954
19,5	15,80	974,09	0,975843
19,6	15,88	973,99	0,975743
19,7	15,97	973,88	0,975633
19,8	16,05	973,77	0,975523
19,9	16,13	973,66	0,975413
20,0	16,21	973,56	0,975312
20,1	16,30	973,45	0,975202
20,2	16,38	973,34	0,975092
20,3	16,46	973,24	0,974992
20,4	16,55	973,13	0,974882
20,5	16,63	973,02	0,974771
20,6	16,71	972,91	0,974661
20,7	16,79	972,80	0,974551
20,8	16,88	972,70	0,974451
20,9	16,96	972,59	0,974341
21,0	17,04	972,48	0,974230
21,1	17,13	972,37	0,974120
21,2	17,21	972,26	0,974010
21,3	17,29	972,16	0,973910
21,4	17,38	972,05	0,973800
21,5	17,46	971,94	0,973689
21,6	17,54	971,83	0,973579
21,7	17,63	971,73	0,973479
21,8	17,71	971,62	0,973369
21,9	17,79	971,51	0,973259
22,0	17,87	971,40	0,973149
22,1	17,96	971,29	0,973038
22,2	18,04	971,18	0,972928
22,3	18,12	971,08	0,972828
22,4	18,21	970,97	0,972718
22,5	18,29	970,86	0,972608
22,6	18,37	970,75	0,972497
22,7	18,46	970,64	0,972387
22,8	18,54	970,53	0,972277
22,9	18,62	970,42	0,972167
23,0	18,71	970,31	0,972057
23,1	18,79	970,20	0,971946
23,2	18,87	970,09	0,971836
23,3	18,96	969,98	0,971726
23,4	19,04	969,87	0,971616
23,5	19,13	969,76	0,971506
23,6	19,21	969,65	0,971395
23,7	19,29	969,54	0,971285
23,8	19,38	969,43	0,971175
23,9	19,46	969,32	0,971065

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
24,0	19,54	969,21	0,970955
24,1	19,63	969,10	0,970844
24,2	19,71	968,99	0,970734
24,3	19,79	968,88	0,970624
24,4	19,88	968,77	0,970514
24,5	19,96	968,66	0,970404
24,6	20,05	968,55	0,970293
24,7	20,13	968,43	0,970173
24,8	20,21	968,32	0,970063
24,9	20,30	968,21	0,969953
25,0	20,38	968,10	0,969843
25,1	20,47	967,99	0,969732
25,2	20,55	967,87	0,969612
25,3	20,63	967,76	0,969502
25,4	20,72	967,65	0,969392
25,5	20,80	967,53	0,969272
25,6	20,89	967,42	0,969161
25,7	20,97	967,31	0,969051
25,8	21,05	967,19	0,968931
25,9	21,14	967,08	0,968821
26,0	21,22	966,97	0,968711
26,1	21,31	966,85	0,968590
26,2	21,39	966,74	0,968480
26,3	21,47	966,62	0,968360
26,4	21,56	966,51	0,968250
26,5	21,64	966,39	0,968130
26,6	21,73	966,28	0,968019
26,7	21,81	966,16	0,967899
26,8	21,90	966,05	0,967789
26,9	21,98	965,93	0,967669
27,0	22,06	965,81	0,967548
27,1	22,15	965,70	0,967438
27,2	22,23	965,58	0,967318
27,3	22,32	965,46	0,967198
27,4	22,40	965,35	0,967088
27,5	22,49	965,23	0,966967
27,6	22,57	965,11	0,966847
27,7	22,65	964,99	0,966727
27,8	22,74	964,88	0,966617
27,9	22,82	964,76	0,966497
28,0	22,91	964,64	0,966376
28,1	22,99	964,52	0,966256
28,2	23,08	964,40	0,966136
28,3	23,16	964,28	0,966016
28,4	23,25	964,16	0,965895
28,5	23,33	964,04	0,965775
28,6	23,42	963,92	0,965655
28,7	23,50	963,80	0,965535
28,8	23,59	963,68	0,965415
28,9	23,67	963,56	0,965294

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
29,0	23,76	963,44	0,965174
29,1	23,84	963,32	0,965054
29,2	23,93	963,20	0,964934
29,3	24,01	963,07	0,964804
29,4	24,10	962,95	0,964683
29,5	24,18	962,83	0,964563
29,6	24,27	962,71	0,964443
29,7	24,35	962,58	0,964313
29,8	24,44	962,46	0,964192
29,9	24,52	962,33	0,964062
30,0	24,61	962,21	0,963942
30,1	24,69	962,09	0,963822
30,2	24,78	961,96	0,963692
30,3	24,86	961,84	0,963571
30,4	24,95	961,71	0,963441
30,5	25,03	961,59	0,963321
30,6	25,12	961,46	0,963191
30,7	25,20	961,33	0,963060
30,8	25,29	961,21	0,962940
30,9	25,38	961,08	0,962810
31,0	25,46	960,95	0,962680
31,1	25,55	960,82	0,962549
31,2	25,63	960,70	0,962429
31,3	25,72	960,57	0,962299
31,4	25,80	960,44	0,962169
31,5	25,89	960,31	0,962039
31,6	25,97	960,18	0,961908
31,7	26,06	960,05	0,961778
31,8	26,15	959,92	0,961648
31,9	26,23	959,79	0,961518
32,0	26,32	959,66	0,961387
32,1	26,40	959,53	0,961257
32,2	26,49	959,40	0,961127
32,3	26,57	959,27	0,960997
32,4	26,66	959,14	0,960866
32,5	26,75	959,01	0,960736
32,6	26,83	958,87	0,960596
32,7	26,92	958,74	0,960466
32,8	27,00	958,61	0,960335
32,9	27,09	958,47	0,960195
33,0	27,18	958,34	0,960065
33,1	27,26	958,20	0,959925
33,2	27,35	958,07	0,959795
33,3	27,44	957,94	0,959664
33,4	27,52	957,80	0,959524
33,5	27,61	957,66	0,959384
33,6	27,69	957,53	0,959254
33,7	27,78	957,39	0,959113
33,8	27,87	957,26	0,958983
33,9	27,95	957,12	0,958843

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
34,0	28,04	956,98	0,958703
34,1	28,13	956,84	0,958562
34,2	28,21	956,70	0,958422
34,3	28,30	956,57	0,958292
34,4	28,39	956,43	0,958152
34,5	28,47	956,29	0,958011
34,6	28,56	956,15	0,957871
34,7	28,65	956,01	0,957731
34,8	28,73	955,87	0,957591
34,9	28,82	955,73	0,957450
35,0	28,91	955,59	0,957310
35,1	28,99	955,45	0,957170
35,2	29,08	955,30	0,957020
35,3	29,17	955,16	0,956879
35,4	29,26	955,02	0,956739
35,5	29,34	954,88	0,956599
35,6	29,43	954,73	0,956449
35,7	29,52	954,59	0,956308
35,8	29,60	954,44	0,956158
35,9	29,69	954,30	0,956018
36,0	29,78	954,15	0,955867
36,1	29,87	954,01	0,955727
36,2	29,95	953,86	0,955577
36,3	30,04	953,72	0,955437
36,4	30,13	953,57	0,955286
36,5	30,22	953,42	0,955136
36,6	30,30	953,28	0,954996
36,7	30,39	953,13	0,954846
36,8	30,48	952,98	0,954695
36,9	30,56	952,83	0,954545
37,0	30,65	952,69	0,954405
37,1	30,74	952,54	0,954255
37,2	30,83	952,39	0,954104
37,3	30,92	952,24	0,953954
37,4	31,00	952,09	0,953804
37,5	31,09	951,94	0,953653
37,6	31,18	951,79	0,953503
37,7	31,27	951,63	0,953343
37,8	31,35	951,48	0,953193
37,9	31,44	951,33	0,953042
38,0	31,53	951,18	0,952892
38,1	31,62	951,02	0,952732
38,2	31,71	950,87	0,952582
38,3	31,79	950,72	0,952431
38,4	31,88	950,56	0,952271
38,5	31,97	950,41	0,952121
38,6	32,06	950,25	0,951960
38,7	32,15	950,10	0,951810
38,8	32,24	949,94	0,951650
38,9	32,32	949,79	0,951500

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
39,0	32,41	949,63	0,951339
39,1	32,50	949,47	0,951179
39,2	32,59	949,32	0,951029
39,3	32,68	949,16	0,950868
39,4	32,77	949,00	0,950708
39,5	32,86	948,84	0,950548
39,6	32,94	948,68	0,950388
39,7	33,03	948,52	0,950227
39,8	33,12	948,37	0,950077
39,9	33,21	948,21	0,949917
40,0	33,30	948,05	0,949756
40,1	33,39	947,88	0,949586
40,2	33,48	947,72	0,949426
40,3	33,57	947,56	0,949266
40,4	33,66	947,40	0,949105
40,5	33,74	947,24	0,948945
40,6	33,83	947,08	0,948785
40,7	33,92	946,91	0,948614
40,8	34,01	946,75	0,948454
40,9	34,10	946,58	0,948284
41,0	34,19	946,42	0,948124
41,1	34,28	946,26	0,947963
41,2	34,37	946,09	0,947793
41,3	34,46	945,93	0,947633
41,4	34,55	945,76	0,947462
41,5	34,64	945,59	0,947292
41,6	34,73	945,43	0,947132
41,7	34,82	945,26	0,946961
41,8	34,91	945,09	0,946791
41,9	35,00	944,93	0,946631
42,0	35,09	944,76	0,946461
42,1	35,18	944,59	0,946290
42,2	35,27	944,42	0,946120
42,3	35,36	944,25	0,945950
42,4	35,45	944,08	0,945779
42,5	35,54	943,91	0,945609
42,6	35,63	943,74	0,945439
42,7	35,72	943,57	0,945268
42,8	35,81	943,40	0,945098
42,9	35,90	943,23	0,944928
43,0	35,99	943,06	0,944758
43,1	36,08	942,88	0,944577
43,2	36,17	942,71	0,944407
43,3	36,26	942,54	0,944237
43,4	36,35	942,37	0,944066
43,5	36,44	942,19	0,943886
43,6	36,53	942,02	0,943716
43,7	36,62	941,84	0,943535
43,8	36,71	941,67	0,943365
43,9	36,80	941,49	0,943185

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
44,0	36,89	941,32	0,943014
44,1	36,98	941,14	0,942834
44,2	37,07	940,97	0,942664
44,3	37,16	940,79	0,942483
44,4	37,25	940,61	0,942303
44,5	37,35	940,43	0,942123
44,6	37,44	940,26	0,941952
44,7	37,53	940,08	0,941772
44,8	37,62	939,90	0,941592
44,9	37,71	939,72	0,941411
45,0	37,80	939,54	0,941231
45,1	37,89	939,36	0,941051
45,2	37,98	939,18	0,940871
45,3	38,08	939,00	0,940690
45,4	38,17	938,82	0,940510
45,5	38,26	938,64	0,940330
45,6	38,35	938,46	0,940149
45,7	38,44	938,28	0,939969
45,8	38,53	938,10	0,939789
45,9	38,62	937,91	0,939598
46,0	38,72	937,73	0,939418
46,1	38,81	937,55	0,939238
46,2	38,90	937,36	0,939047
46,3	38,99	937,18	0,938867
46,4	39,08	937,00	0,938687
46,5	39,18	936,81	0,938496
46,6	39,27	936,63	0,938316
46,7	39,36	936,44	0,938126
46,8	39,45	936,26	0,937945
46,9	39,54	936,07	0,937755
47,0	39,64	935,88	0,937565
47,1	39,73	935,70	0,937384
47,2	39,82	935,51	0,937194
47,3	39,91	935,32	0,937004
47,4	40,00	935,14	0,936823
47,5	40,10	934,95	0,936633
47,6	40,19	934,76	0,936443
47,7	40,28	934,57	0,936252
47,8	40,37	934,38	0,936062
47,9	40,47	934,19	0,935872
48,0	40,56	934,00	0,935681
48,1	40,65	933,81	0,935491
48,2	40,75	933,62	0,935301
48,3	40,84	933,43	0,935110
48,4	40,93	933,24	0,934920
48,5	41,02	933,05	0,934729
48,6	41,12	932,86	0,934539
48,7	41,21	932,67	0,934349
48,8	41,30	932,47	0,934148
48,9	41,40	932,28	0,933958

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
49,0	41,49	932,09	0,933768
49,1	41,58	931,90	0,933577
49,2	41,68	931,70	0,933377
49,3	41,77	931,51	0,933187
49,4	41,86	931,32	0,932996
49,5	41,96	931,13	0,932806
49,6	42,05	930,92	0,932596
49,7	42,14	930,73	0,932405
49,8	42,24	930,53	0,932205
49,9	42,33	930,34	0,932015
50,0	42,43	930,14	0,931814
50,1	42,52	929,95	0,931624
50,2	42,61	929,75	0,931424
50,3	42,71	929,55	0,931223
50,4	42,80	929,35	0,931023
50,5	42,90	929,16	0,930832
50,6	42,99	928,96	0,930632
50,7	43,08	928,76	0,930432
50,8	43,18	928,56	0,930231
50,9	43,27	928,36	0,930031
51,0	43,37	928,16	0,929831
51,1	43,46	927,96	0,929630
51,2	43,56	927,77	0,929440
51,3	43,65	927,57	0,929240
51,4	43,74	927,36	0,929029
51,5	43,84	927,16	0,928829
51,6	43,93	926,96	0,928629
51,7	44,03	926,76	0,928428
51,8	44,12	926,56	0,928228
51,9	44,22	926,36	0,928027
52,0	44,31	926,16	0,927827
52,1	44,41	925,95	0,927617
52,2	44,50	925,75	0,927416
52,3	44,60	925,55	0,927216
52,4	44,69	925,35	0,927016
52,5	44,79	925,14	0,926805
52,6	44,88	924,94	0,926605
52,7	44,98	924,73	0,926395
52,8	45,07	924,53	0,926194
52,9	45,17	924,32	0,925984
53,0	45,26	924,12	0,925783
53,1	45,36	923,91	0,925573
53,2	45,46	923,71	0,925373
53,3	45,55	923,50	0,925162
53,4	45,65	923,30	0,924962
53,5	45,74	923,09	0,924752
53,6	45,84	922,88	0,924541
53,7	45,93	922,68	0,924341
53,8	46,03	922,47	0,924130
53,9	46,13	922,26	0,923920

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
54,0	46,22	922,06	0,923720
54,1	46,32	921,85	0,923509
54,2	46,41	921,64	0,923299
54,3	46,51	921,43	0,923089
54,4	46,61	921,22	0,922878
54,5	46,70	921,01	0,922668
54,6	46,80	920,80	0,922457
54,7	46,90	920,59	0,922247
54,8	46,99	920,38	0,922037
54,9	47,09	920,17	0,921826
55,0	47,18	919,96	0,921616
55,1	47,28	919,75	0,921406
55,2	47,38	919,54	0,921195
55,3	47,47	919,33	0,920985
55,4	47,57	919,12	0,920774
55,5	47,67	918,91	0,920564
55,6	47,77	918,69	0,920344
55,7	47,86	918,48	0,920133
55,8	47,96	918,27	0,919923
55,9	48,06	918,06	0,919713
56,0	48,15	917,84	0,919492
56,1	48,25	917,63	0,919282
56,2	48,35	917,42	0,919071
56,3	48,45	917,22	0,918871
56,4	48,54	916,99	0,918641
56,5	48,64	916,77	0,918420
56,6	48,74	916,56	0,918210
56,7	48,84	916,35	0,917999
56,8	48,94	916,13	0,917779
56,9	49,03	915,91	0,917559
57,0	49,13	915,70	0,917348
57,1	49,23	915,48	0,917128
57,2	49,32	915,27	0,916917
57,3	49,42	915,05	0,916697
57,4	49,52	914,83	0,916477
57,5	49,62	914,62	0,916266
57,6	49,72	914,40	0,916046
57,7	49,81	914,18	0,915826
57,8	49,91	913,97	0,915615
57,9	50,01	913,75	0,915395
58,0	50,11	913,53	0,915174
58,1	50,21	913,31	0,914954
58,2	50,31	913,09	0,914734
58,3	50,40	912,87	0,914513
58,4	50,50	912,65	0,914293
58,5	50,60	912,43	0,914072
58,6	50,70	912,22	0,913862
58,7	50,80	912,00	0,913642
58,8	50,90	911,78	0,913421
58,9	51,00	911,55	0,913191

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
59,0	51,10	911,33	0,912970
59,1	51,19	911,11	0,912750
59,2	51,29	910,89	0,912530
59,3	51,39	910,67	0,912309
59,4	51,49	910,45	0,912089
59,5	51,59	910,23	0,911868
59,6	51,69	910,01	0,911648
59,7	51,79	909,78	0,911418
59,8	51,89	909,56	0,911197
59,9	51,99	909,34	0,910977
60,0	52,09	909,11	0,910746
60,1	52,19	908,89	0,910526
60,2	52,29	908,67	0,910306
60,3	52,39	908,44	0,910075
60,4	52,49	908,22	0,909855
60,5	52,59	908,00	0,909634
60,6	52,69	907,77	0,909404
60,7	52,79	907,55	0,909184
60,8	52,89	907,32	0,908953
60,9	52,99	907,10	0,908733
61,0	53,09	906,87	0,908502
61,1	53,19	906,64	0,908272
61,2	53,29	906,42	0,908052
61,3	53,39	906,19	0,907821
61,4	53,49	905,97	0,907601
61,5	53,59	905,74	0,907370
61,6	53,69	905,51	0,907140
61,7	53,79	905,29	0,906920
61,8	53,89	905,06	0,906689
61,9	53,99	904,83	0,906459
62,0	54,09	904,60	0,906228
62,1	54,19	904,37	0,905998
62,2	54,30	904,15	0,905777
62,3	54,40	903,92	0,905547
62,4	54,50	903,69	0,905317
62,5	54,60	903,46	0,905086
62,6	54,70	903,23	0,904856
62,7	54,80	903,00	0,904625
62,8	54,90	902,77	0,904395
62,9	55,00	902,54	0,904165
63,0	55,11	902,31	0,903934
63,1	55,21	902,08	0,903704
63,2	55,31	901,85	0,903473
63,3	55,41	901,62	0,903243
63,4	55,51	901,39	0,903013
63,5	55,61	901,15	0,902772
63,6	55,72	900,92	0,902542
63,7	55,82	900,69	0,902311
63,8	55,92	900,46	0,902081
63,9	56,02	900,23	0,901850

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
64,0	56,12	899,99	0,901610
64,1	56,23	899,76	0,901380
64,2	56,33	899,53	0,901149
64,3	56,43	899,29	0,900909
64,4	56,53	899,06	0,900678
64,5	56,64	898,83	0,900448
64,6	56,74	898,59	0,900207
64,7	56,84	898,36	0,899977
64,8	56,94	898,12	0,899737
64,9	57,05	897,89	0,899506
65,0	57,15	897,65	0,899266
65,1	57,25	897,42	0,899035
65,2	57,36	897,18	0,898795
65,3	57,46	896,94	0,898554
65,4	57,56	896,71	0,898324
65,5	57,67	896,47	0,898084
65,6	57,77	896,23	0,897843
65,7	57,87	896,00	0,897613
65,8	57,98	895,76	0,897372
65,9	58,08	895,52	0,897132
66,0	58,18	895,28	0,896892
66,1	58,29	895,05	0,896661
66,2	58,39	894,81	0,896421
66,3	58,49	894,57	0,896180
66,4	58,60	894,33	0,895940
66,5	58,70	894,09	0,895699
66,6	58,81	893,85	0,895459
66,7	58,91	893,61	0,895218
66,8	59,01	893,37	0,894978
66,9	59,12	893,13	0,894738
67,0	59,22	892,89	0,894497
67,1	59,33	892,65	0,894257
67,2	59,43	892,41	0,894016
67,3	59,54	892,17	0,893776
67,4	59,64	891,93	0,893535
67,5	59,74	891,69	0,893295
67,6	59,85	891,45	0,893055
67,7	59,95	891,20	0,892804
67,8	60,06	890,96	0,892564
67,9	60,16	890,72	0,892323
68,0	60,27	890,48	0,892083
68,1	60,37	890,23	0,891832
68,2	60,48	889,99	0,891592
68,3	60,58	889,75	0,891352
68,4	60,69	889,50	0,891101
68,5	60,80	889,26	0,890861
68,6	60,90	889,01	0,890610
68,7	61,01	888,77	0,890370
68,8	61,11	888,52	0,890119
68,9	61,22	888,28	0,889879

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
69,0	61,32	888,03	0,889628
69,1	61,43	887,79	0,889388
69,2	61,54	887,54	0,889138
69,3	61,64	887,29	0,888887
69,4	61,75	887,05	0,888647
69,5	61,85	886,80	0,888396
69,6	61,96	886,55	0,888146
69,7	62,07	886,31	0,887905
69,8	62,17	886,06	0,887655
69,9	62,28	885,81	0,887404
70,0	62,39	885,56	0,887154
70,1	62,49	885,31	0,886904
70,2	62,60	885,06	0,886653
70,3	62,71	884,82	0,886413
70,4	62,81	884,57	0,886162
70,5	62,92	884,32	0,885912
70,6	63,03	884,07	0,885661
70,7	63,13	883,82	0,885411
70,8	63,24	883,57	0,885160
70,9	63,35	883,32	0,884910
71,0	63,46	883,06	0,884650
71,1	63,56	882,81	0,884399
71,2	63,67	882,56	0,884149
71,3	63,78	882,31	0,883898
71,4	63,89	882,06	0,883648
71,5	63,99	881,81	0,883397
71,6	64,10	881,55	0,883137
71,7	64,21	881,30	0,882886
71,8	64,32	881,05	0,882636
71,9	64,43	880,79	0,882375
72,0	64,53	880,54	0,882125
72,1	64,64	880,29	0,881875
72,2	64,75	880,03	0,881614
72,3	64,86	879,78	0,881364
72,4	64,97	879,52	0,881103
72,5	65,08	879,27	0,880853
72,6	65,19	879,01	0,880592
72,7	65,29	878,75	0,880332
72,8	65,40	878,50	0,880081
72,9	65,51	878,24	0,879821
73,0	65,62	877,99	0,879570
73,1	65,73	877,73	0,879310
73,2	65,84	877,47	0,879049
73,3	65,95	877,21	0,878789
73,4	66,06	876,96	0,878539
73,5	66,17	876,70	0,878278
73,6	66,28	876,44	0,878018
73,7	66,39	876,18	0,877757
73,8	66,50	875,92	0,877497
73,9	66,61	875,66	0,877236

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	<i>ρ_{20} (Kg/m³)</i>	<i>d (g/cm³)</i>
74,0	66,72	875,40	0,876976
74,1	66,83	875,14	0,876715
74,2	66,94	874,88	0,876455
74,3	67,05	874,62	0,876194
74,4	67,16	874,36	0,875934
74,5	67,27	874,10	0,875673
74,6	67,38	873,84	0,875413
74,7	67,49	873,58	0,875152
74,8	67,60	873,32	0,874892
74,9	67,71	873,06	0,874632
75,0	67,82	872,79	0,874361
75,1	67,93	872,53	0,874101
75,2	68,04	872,27	0,873840
75,3	68,15	872,00	0,873570
75,4	68,26	871,74	0,873309
75,5	68,38	871,48	0,873049
75,6	68,49	871,21	0,872778
75,7	68,60	870,95	0,872518
75,8	68,71	870,68	0,872247
75,9	68,82	870,42	0,871987
76,0	68,93	870,15	0,871716
76,1	69,04	869,89	0,871456
76,2	69,16	869,62	0,871185
76,3	69,27	869,35	0,870915
76,4	69,38	869,09	0,870654
76,5	69,49	868,82	0,870384
76,6	69,61	868,55	0,870113
76,7	69,72	868,28	0,869843
76,8	69,83	868,02	0,869582
76,9	69,94	867,75	0,869312
77,0	70,06	867,48	0,869041
77,1	70,17	867,21	0,868771
77,2	70,28	866,94	0,868500
77,3	70,39	866,67	0,868230
77,4	70,51	866,40	0,867960
77,5	70,62	866,13	0,867689
77,6	70,73	865,86	0,867419
77,7	70,85	865,59	0,867148
77,8	70,96	865,32	0,866878
77,9	71,07	865,05	0,866607
78,0	71,19	864,78	0,866337
78,1	71,30	864,50	0,866056
78,2	71,41	864,23	0,865786
78,3	71,53	863,96	0,865515
78,4	71,64	863,69	0,865245
78,5	71,76	863,41	0,864964
78,6	71,87	863,14	0,864694
78,7	71,98	862,86	0,864413
78,8	72,10	862,59	0,864143
78,9	72,21	862,31	0,863862

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
79,0	72,33	862,04	0,863592
79,1	72,44	861,76	0,863311
79,2	72,56	861,49	0,863041
79,3	72,67	861,21	0,862760
79,4	72,79	860,94	0,862490
79,5	72,90	860,66	0,862209
79,6	73,02	860,38	0,861929
79,7	73,13	860,10	0,861648
79,8	73,25	859,83	0,861378
79,9	73,36	859,55	0,861097
80,0	73,48	859,27	0,860817
80,1	73,60	858,99	0,860536
80,2	73,71	858,71	0,860256
80,3	73,83	858,43	0,859975
80,4	73,94	858,15	0,859695
80,5	74,06	857,87	0,859414
80,6	74,18	857,59	0,859134
80,7	74,29	857,31	0,858853
80,8	74,41	857,03	0,858573
80,9	74,53	856,75	0,858292
81,0	74,64	856,46	0,858002
81,1	74,76	856,18	0,857721
81,2	74,88	855,90	0,857441
81,3	74,99	855,62	0,857160
81,4	75,11	855,33	0,856870
81,5	75,23	855,05	0,856589
81,6	75,34	854,76	0,856299
81,7	75,46	854,48	0,856018
81,8	75,58	854,19	0,855728
81,9	75,70	853,91	0,855447
82,0	75,82	853,62	0,855157
82,1	75,93	853,34	0,854876
82,2	76,05	853,05	0,854585
82,3	76,17	852,76	0,854295
82,4	76,29	852,48	0,854014
82,5	76,41	852,19	0,853724
82,6	76,52	851,90	0,853433
82,7	76,64	851,61	0,853143
82,8	76,76	851,32	0,852852
82,9	76,88	851,03	0,852562
83,0	77,00	850,74	0,852271
83,1	77,12	850,45	0,851981
83,2	77,24	850,16	0,851690
83,3	77,36	849,87	0,851400
83,4	77,48	849,58	0,851109
83,5	77,60	849,29	0,850819
83,6	77,72	848,99	0,850518
83,7	77,84	848,70	0,850228
83,8	77,96	848,41	0,849937
83,9	78,08	848,11	0,849637

% v/v	% m/m	ρ_{20} (Kg/m ³)	d (g/cm ³)
84,0	78,20	847,82	0,849346
84,1	78,32	847,53	0,849056
84,2	78,44	847,23	0,848755
84,3	78,56	846,93	0,848454
84,4	78,68	846,64	0,848164
84,5	78,80	846,34	0,847863
84,6	78,92	846,05	0,847573
84,7	79,04	845,75	0,847272
84,8	79,16	845,45	0,846972
84,9	79,28	845,15	0,846671
85,0	79,40	844,85	0,846371
85,1	79,53	844,55	0,846070
85,2	79,65	844,25	0,845770
85,3	79,77	843,95	0,845469
85,4	79,89	843,65	0,845169
85,5	80,01	843,35	0,844868
85,6	80,14	843,05	0,844567
85,7	80,26	842,75	0,844267
85,8	80,38	842,44	0,843956
85,9	80,50	842,14	0,843656
86,0	80,63	841,84	0,843355
86,1	80,75	841,53	0,843045
86,2	80,87	841,23	0,842744
86,3	81,00	840,92	0,842434
86,4	81,12	840,62	0,842133
86,5	81,24	840,31	0,841823
86,6	81,37	840,00	0,841512
86,7	81,49	839,70	0,841211
86,8	81,61	839,39	0,840901
86,9	81,74	839,08	0,840590
87,0	81,86	838,77	0,840280
87,1	81,99	838,46	0,839969
87,2	82,11	838,15	0,839659
87,3	82,24	837,84	0,839348
87,4	82,36	837,52	0,839028
87,5	82,49	837,21	0,838717
87,6	82,61	836,90	0,838406
87,7	82,74	836,59	0,838096
87,8	82,86	836,27	0,837775
87,9	82,99	835,96	0,837465
88,0	83,11	835,64	0,837144
88,1	83,24	835,32	0,836824
88,2	83,37	835,01	0,836513
88,3	83,49	834,69	0,836192
88,4	83,62	834,37	0,835872
88,5	83,74	834,05	0,835551
88,6	83,87	833,73	0,835231
88,7	84,00	833,41	0,834910
88,8	84,13	833,09	0,834590
88,9	84,25	832,77	0,834269

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
89,0	84,38	832,45	0,833948
89,1	84,51	832,12	0,833618
89,2	84,64	831,80	0,833297
89,3	84,76	831,48	0,832977
89,4	84,89	831,15	0,832646
89,5	85,02	830,82	0,832315
89,6	85,15	830,50	0,831995
89,7	85,28	830,17	0,831664
89,8	85,41	829,84	0,831334
89,9	85,54	829,51	0,831003
90,0	85,66	829,18	0,830673
90,1	85,79	828,85	0,830342
90,2	85,92	828,52	0,830011
90,3	86,05	828,19	0,829681
90,4	86,18	827,85	0,829340
90,5	86,31	827,52	0,829010
90,6	86,44	827,18	0,828669
90,7	86,57	826,85	0,828338
90,8	86,71	826,51	0,827998
90,9	86,84	826,17	0,827657
91,0	86,97	825,83	0,827316
91,1	87,10	825,49	0,826976
91,2	87,23	825,15	0,826635
91,3	87,36	824,81	0,826295
91,4	87,49	824,47	0,825954
91,5	87,63	824,13	0,825613
91,6	87,76	823,78	0,825263
91,7	87,90	823,44	0,824922
91,8	88,02	823,09	0,824572
91,9	88,16	822,74	0,824221
92,0	88,29	822,39	0,823870
92,1	88,42	822,04	0,823520
92,2	88,56	821,69	0,823169
92,3	88,69	821,34	0,822818
92,4	88,83	820,99	0,822468
92,5	88,96	820,63	0,822107
92,6	89,10	820,28	0,821757
92,7	89,23	819,92	0,821396
92,8	89,37	819,57	0,821045
92,9	89,50	819,21	0,820685
93,0	89,64	818,85	0,820324
93,1	89,77	818,49	0,819963
93,2	89,91	818,12	0,819593
93,3	90,05	817,76	0,819232
93,4	90,18	817,40	0,818871
93,5	90,32	817,03	0,818501
93,6	90,46	816,66	0,818130
93,7	90,59	816,30	0,817769
93,8	90,73	815,93	0,817399
93,9	90,87	815,55	0,817018

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (Kg/m ³)	<i>d</i> (g/cm ³)
94,0	91,01	815,18	0,816647
94,1	91,15	814,81	0,816277
94,2	91,29	814,43	0,815896
94,3	91,43	814,06	0,815525
94,4	91,56	813,68	0,815145
94,5	91,70	813,30	0,814764
94,6	91,84	812,92	0,814383
94,7	91,98	812,54	0,814003
94,8	92,13	812,15	0,813612
94,9	92,27	811,77	0,813231
95,0	92,41	811,38	0,812840
95,1	92,55	810,99	0,812450
95,2	92,69	810,60	0,812059
95,3	92,83	810,21	0,811668
95,4	92,98	809,82	0,811278
95,5	93,12	809,42	0,810877
95,6	93,26	809,02	0,810476
95,7	93,41	808,63	0,810086
95,8	93,55	808,23	0,809685
95,9	93,69	807,82	0,809274
96,0	93,84	807,42	0,808873
96,1	93,98	807,01	0,808463
96,2	94,13	806,61	0,808062
96,3	94,27	806,20	0,807651
96,4	94,42	805,78	0,807230
96,5	94,57	805,37	0,806820
96,6	94,71	804,96	0,806409
96,7	94,86	804,54	0,805988
96,8	95,01	804,12	0,805567
96,9	95,16	803,70	0,805147
97,0	95,31	803,27	0,804716
97,1	95,45	802,85	0,804295
97,2	95,60	802,42	0,803864
97,3	95,75	801,99	0,803434
97,4	95,90	801,55	0,802993
97,5	96,05	801,12	0,802562
97,6	96,21	800,68	0,802121
97,7	96,36	800,24	0,801680
97,8	96,51	799,80	0,801240
97,9	96,66	799,35	0,800789
98,0	96,81	798,90	0,800338
98,1	96,97	798,45	0,799887
98,2	97,12	798,00	0,799436
98,3	97,28	797,54	0,798976
98,4	97,43	797,08	0,798515
98,5	97,59	796,62	0,798054
98,6	97,74	796,15	0,797583
98,7	97,90	795,68	0,797112
98,8	98,06	795,21	0,796641
98,9	98,22	794,73	0,796161

<i>% v/v</i>	<i>% m/m</i>	<i>ρ_{20} (Kg/m³)</i>	<i>d (g/cm³)</i>
99,0	98,38	794,25	0,795680
99,1	98,53	793,77	0,795199
99,2	98,69	793,28	0,794708
99,3	98,86	792,79	0,794217
99,4	99,02	792,30	0,793726
99,5	99,18	791,80	0,793225
99,6	99,34	791,29	0,792714
99,7	99,50	790,79	0,792213
99,8	99,67	790,28	0,791703
99,9	99,83	789,76	0,791182
100,0	100,00	789,24	0,790661

**ANEXO B – LAUDOS PROQUIMO: ANÁLISE
MICROBIOLÓGICA**

		Departamento de Controle de Qualidade	
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO nº 12639			
Produto: POOL MATRIZES - MICRO		Lote: NI	
Manipulado em: 1989		Validade: 2018	
Farmácia: CNPJ: Endereço: Telefone: Farmacêutico Responsável:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL 24.464.109/0001-48 LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOES TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL CEP: 57072-970 82 - 8102-2552 Prof. Ruy		
TESTE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO	
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama	
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	30 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama	

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
 CRF - 20203-2
 06/04/2015

	Departamento de Controle de Qualidade
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO n° 12640	

Produto: POOL MATRIZES - MICRO	Lote: NI
Manipulado em: 1994	Validade: 2018
Farmácia:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL
CNPJ:	24.464.109/0001-48
Endereço:	LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOE TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL
Telefone:	CEP: 57072-970 82 - 8102-2552
Farmacêutico Responsável:	Prof. Ruy

TESTE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
CRF - 20203-2
06/04/2015

		Departamento de Controle de Qualidade	
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO n° 12643			
Produto: POOL MATRIZES - MICRO		Lote: NI	
Manipulado em: 1999		Validade: 2018	
Farmácia: CNPJ: Endereço: Telefone: Farmacêutico Responsável:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL 24.464.109/0001-48 LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOE TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL CEP: 57072-970 82 - 8102-2552 Prof. Ruy		
TESTE	RESULTADO		ESPECIFICAÇÃO
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama		Limite: ≤ 1.000 UFC/grama
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	<10 UFC/grama		Limite: ≤ 100 UFC/grama

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
 CRF - 20203-2
 06/04/2015

	Departamento de Controle de Qualidade
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO n° 12642	

Produto: POOL MATRIZES - MICRO	Lote: NI
Manipulado em: 2004	Validade: 2018
Farmácia:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL
CNPJ:	24.464.109/0001-48
Endereço:	LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOE TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL
Telefone:	CEP: 57072-970 82 - 8102-2552
Farmacêutico Responsável:	Prof. Ruy

TESTE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
CRF - 20203-2
06/04/2015

	Departamento de Controle de Qualidade
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO n° 12641	

Produto: POOL MATRIZES - MICRO	Lote: NI
Manipulado em: 2009	Validade: 2018
Farmácia:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL
CNPJ:	24.464.109/0001-48
Endereço:	LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOE TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL
Telefone:	CEP: 57072-970 82 - 8102-2552
Farmacêutico Responsável:	Prof. Ruy

TESTE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
CRF - 20203-2
06/04/2015

	Departamento de Controle de Qualidade
CERTIFICADO DE ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO n° 12644	

Produto: POOL MATRIZES - MICRO	Lote: NI
Manipulado em: 2014	Validade: 2018
Farmácia:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - AL
CNPJ:	24.464.109/0001-48
Endereço:	LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N COMP.: CAMPUS A. C. SIMOE TABULEIRO DO MARTINS MACEIÓ AL
Telefone:	CEP: 57072-970 82 - 8102-2552
Farmacêutico Responsável:	Prof. Ruy

TESTE	RESULTADO	ESPECIFICAÇÃO
Contagem Total de Bactérias Aeróbias Mesófilas	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 1.000 UFC/grama
Contagem Total de Fungos (Bolores e Leveduras)	<10 UFC/grama	Limite: ≤ 100 UFC/grama

Observações:

- 1) Os resultados obtidos referem-se apenas aos ensaios realizados e a amostra recebida.
- 2) Data de Recebimento da Amostra: 19/03/2015
- 3) Metodologias Analíticas Empregadas:
Farmacopéia Brasileira 5ª Edição <5.5.3.1.2> p.240 e <5.5.3.1.3> p.243
- 4) UFC: Unidade Formadora de Colônia.
- 5) A documentação de rastreabilidade da amostra está arquivada no Laboratório Proquimo à disposição para consulta pela empresa contratante ou seu representante legal.
- 6) Esse documento somente é válido com a assinatura do Farmacêutico Responsável
- 7) Observação: Ausência dos Patógenos: E. coli; S. aureus; P. aeruginosa e Salmonella sp. Início do Teste: 26/03/2015 - Término Teste: 06/04/2015

O produto: A AMOSTRA ANALISADA CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

Farmacêutica Responsável:



Patricia Malafati
CRF - 20203-2
06/04/2015