

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA  
E INFORMÁTICA INDUSTRIAL - CPGEI

LUCIANA MARTINS PEREIRA DE ARAÚJO

**CARACTERIZAÇÃO DAS GOTÍCULAS RESPIRÁVEIS  
GERADAS POR NEBULIZADORES UTILIZANDO TÉCNICA DE  
INCIDÊNCIA LAMINAR DIRETA (ILD)**

TESE DE DOUTORADO

CURITIBA

2018

LUCIANA MARTINS PEREIRA DE ARAÚJO

**CARACTERIZAÇÃO DAS GOTÍCULAS RESPIRÁVEIS  
GERADAS POR NEBULIZADORES UTILIZANDO TÉCNICA DE  
INCIDÊNCIA LAMINAR DIRETA (ILD)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito para a obtenção do grau de Doutora em Ciências - Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Wilson José da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Paulo José Abatti

CURITIBA

2018

Dedico este trabalho primeiramente a **Deus**, pois sem **Ele**, nada seria possível.

À minha família pelo incentivo e confiança demonstrada.

Ao meu esposo, **Walter Araújo**, pelo apoio incondicional, compreensão e motivação.

À minha filha, **Livia Helena Araújo**, pelo apoio e compreensão.

Ao meu orientador pela disposição em orientar e paciência demonstrada no decorrer do trabalho.

Enfim, a todos que de alguma forma tornaram este caminho mais fácil de ser percorrido.

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**

A663c Araújo, Luciana Martins Pereira de  
Caracterização das gotículas respiráveis geradas por nebulizadores utilizando técnica de incidência laminar direta (ILD) [recurso eletrônico] / Luciana Martins Pereira de Araújo.— 2018.

1 arquivo texto (111 f.) : PDF ; \$c 3,05 MB.

Texto em português com resumo em inglês.

Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial. Área de Concentração: Engenharia Biomédica, Curitiba, 2018.

Bibliografia: f. 92-100.

1. Engenharia elétrica - Teses. 2. Aerossóis - Avaliação. 3. Gotas - Medição. 4. Pneumologia. 5. Tratamento respiratório - Equipamento e acessórios. 6. Processamento de imagens - Técnicas digitais. 7. MATLAB (Programa de computador). 8. Microscopia. 9. Saúde pública. 10. Engenharia biomédica. I. Silva, Wilson José da, orient. II. Abatti, Paulo José, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial. IV. Título.

CDD: Ed. 23 – 621.3

**Biblioteca Central do Câmpus Curitiba – UTFPR**  
**Bibliotecária: Luiza Aquemi Matsumoto CRB-9/794**



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação

## TERMO DE APROVAÇÃO DE TESE N° 182

A Tese de Doutorado intitulada “**Caracterização do Diâmetro Aerodinâmico de Microgotas Geradas por Nebulizadores Utilizando Técnica de Incidência Laminar Direta (LTI)**”, defendida em sessão pública pelo(a) candidato(a) **Luciana Martins Pereira de Araújo**, no dia 23 de novembro de 2018, foi julgada para a obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração Engenharia Biomédica, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial.

### BANCA EXAMINADORA:

Prof(a). Dr(a). Wilson José da Silva - Presidente – (UTFPR)

Prof(a). Dr(a). Jorge Tomioka – (UFABC)

Prof(a). Dr(a). Edemir Luiz Kowalski – (UFPR)

Prof(a). Dr(a). Rigoberto Eleazar Melgarejo Morales – (UTFPR)

Prof(a). Dr(a). Paula Cristina Rodrigues - (UTFPR)

Prof(a). Dr(a). Walmor Cardoso Godoi – (UTFPR)

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

CURITIBA, 23 DE NOVEMBRO DE 2018.

## AGRADECIMENTOS

A agência brasileira CNPq (através da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR – bolsa de doutorado), pelo suporte e apoio financeiro a esse projeto.

Ao Professor **Dr. Wilson José da Silva**, pela orientação final.

Ao Professor **Dr. Paulo José Abatti**, pela coorientação e confiança.

Ao Professor **Dr. Rigoberto Morales**, pelo apoio, dedicação e partilha.

Aos colegas do CPGEI pelo companheirismo, convívio, estímulo e partilha, em especial, Cláudio, Joyce, Terezinha, Leonardo e Joaquim de Mira.

Ao **Rafael Fabrício Alves**, pelo apoio e aprendizado compartilhado.

Ao professor **Paulo Augusto Oliveira Ramos** pelo apoio dado à revisão e formatação do texto da tese.

Aos professores, pelo conhecimento compartilhado.

Ao meu esposo **Walter** pela colaboração, paciência, incentivo e amor.

A **Livia Helena**, minha filha, pela compreensão, incentivo e amor.

Aos meus pais **Evandro Reis Pereira** (in memoriam) e **Maria da Piedade Martins** que sempre me deram forças para continuar perseverando rumo ao objetivo a ser alcançado.

## RESUMO

ARAÚJO, Luciana M. P. CARACTERIZAÇÃO DAS GOTÍCULAS RESPIRÁVEIS GERADAS POR NEBULIZADORES UTILIZANDO TÉCNICA DE INCIDÊNCIA LAMINAR DIRETA (ILD). 2018. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná). Curitiba, 2018.

Os nebulizadores pneumáticos e ultrassônicos são cada vez mais utilizados por crianças, idosos ou doentes crônicos, devido à facilidade com que estes meios entregam os fármacos através de uma suspensão em aerossol. A escolha de nebulizadores está relacionada à capacidade desses equipamentos de realizar a entrega de fármacos de forma localizada no trato respiratório, propiciando uma maior eficiência da absorção através do pulmão. O presente trabalho tem como objetivo caracterizar os diâmetros das gotículas por faixas de “partículas respiráveis” geradas por uma amostra de nebulizadores comercializados no mercado brasileiro, utilizando a técnica de incidência laminar direta (ILD). Foram tomados como amostra seis (6) nebulizadores de marcas diferentes, sendo 4 pneumáticos e 2 ultrassônicos. No procedimento de nebulização as imagens das gotículas aero dispersas foram capturadas através da técnica ILD (Incidência Laminar Direta) que consiste em uma câmera digital de alta velocidade acoplada a um microscópio invertido tendo as imagens capturadas processadas por um software em ambiente MATLAB® para a caracterização automatizada das faixas de diâmetro das gotículas aero dispersas geradas no processo de nebulização. Foram elaborados histogramas de distribuição do diâmetro das gotículas dos seis nebulizadores pesquisados enfatizando a faixa das gotículas respiráveis, i.e., diâmetros compreendidos entre 1,0-5,0  $\mu\text{m}$ . Os resultados atestaram que cada nebulizador tem uma característica própria de entrega da suspensão aerodinâmica no processo de nebulização. Esta característica está intimamente relacionada na capacidade dos mesmos em gerar gotículas na faixa classificada como respiráveis. Os resultados das medidas apontam para uma outra forma de classificação dos nebulizadores tendo por base o critério anteriormente citado. Devido às características próprias de cada nebulizador em gerar a nuvem aerodinâmica, torna-se plausível o desenvolvimento futuro de um protocolo de avaliação mais abrangente, tendo por base a entrega de gotículas na faixa ideal, proporcionando um melhor balizamento da eficiência dos nebulizadores domésticos na administração de fármacos por inalação.

**Palavras-Chave:** Nebulizador, gotículas, pneumologia, saúde pública.

## ABSTRACT

ARAÚJO, Luciana M. P. CHARACTERIZATION OF RESPIRABLE DROPLETS GENERATED BY NEBULIZERS USING DIRECT LAMINAR INCIDENCE TECHNIQUE (LDI) 2018. Doctoral Thesis (Post-Graduate Program in Electrical Engineering and Computer Science Industrial of the Federal Technological University of Parana). Curitiba, 2018.

Pneumatic and ultrasonic nebulizers are increasingly used by children, the elderly, or the chronically ill, because of the ease with which these devices deliver the drugs through an aerosol suspension. The choice of nebulizers is related to the ability of these devices to perform the delivery of drugs in a localized way in the respiratory tract, providing a greater efficiency of absorption through the lung. The aim of the present work is to characterize the diameters of the micro droplets by bands of "breathable particles" generated by a sample of commercial nebulizers commercialized in the Brazilian market, using the technique of direct laminar incidence (ILD). Six (6) nebulizers of different marks were taken as samples, being 4 pneumatic and 2 ultrasonic. In the nebulization procedure the images of the dispersed aero micro droplets were captured through the ILD (Direct Laminar Incidence) technique consisting of a high-speed digital camera coupled to an inverted microscope and the captured images processed by software in an environment MATLAB<sup>®</sup> for the automated characterization of the diameter bands of the dispersed aero micro droplets generated in the nebulization process. Histograms of the micro droplet diameter distribution of the six nebulizers surveyed were developed emphasizing the range of breathable micro droplets, i.e., diameters ranging from 1.0-5.0  $\mu\text{m}$ . The results attest that each nebulizer has its own characteristic of delivering the aerodynamic suspension in the nebulization process. This feature is closely related in their ability to generate micro droplets in the range classified as breathable. The results of the measurements point to another way of classifying nebulizers based on the criterion previously mentioned. Due to the characteristics of each nebulizer in generating the aerodynamic cloud, it becomes plausible the future development of a more comprehensive evaluation protocol, based on the delivery of micro droplets in the ideal range, providing a better marking of the efficiency of the domestic nebulizers in the administration of drugs by inhalation.

Keywords: Nebulizer, droplets, pneumology, public health.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema geral da distribuição das partículas aero dispersas para que o efeito terapêutico seja atingido .....	20
Figura 2- Esquema do caminho percorrido pela disposição dos fármacos inalados.....	27
Figura 3- Ilustração dos fatores que determinam a deposição de partículas inaladas ao longo do trato respiratório. ....	29
Figura 4 - Gráfico da relação entre o tamanho da partícula e a porcentagem de deposição no trato respiratório .....	30
Figura 5- Localização da deposição das gotículas no trato respiratório em função do tamanho .....	34
Figura 6 - Diagrama dos três principais mecanismos de deposição pulmonar em função do diâmetro aerodinâmico das partículas. ....	35
Figura 7 - Mecanismos de deposição de partículas no sistema respiratório. ....	38
Figura 8 - Ilustração do nebulizador convencional pneumático .....	40
Figura 9 - Ilustração do dispositivo nebulizador convencional ultrassônico .....	41
Figura 10 - Esquema do nebulizador que utiliza rede vibratória. ....	43
Figura 11. (1) Difração de um feixe de luz na superfície de uma partícula grande. (2) Difração de um feixe de luz na superfície de uma partícula pequena. ....	47
Figura 12 - Ilustração do procedimento do uso de difração por laser.....	48
Figura 13 - Esquema de um espectrômetro LIBS. ....	50
Figura 14 - Diagrama esquemático do funcionamento de um separador de partículas por impacto (Cascade Impactor) .....	52
Figura 15 - Ilustração sobre o método de funcionamento da PDA.....	54
Figura 16 - Esquema mostrando as principais partes óticas do microscópio de luz e do microscópio eletrônico, em modo de transmissão. ....	56
Figura 17 - Princípio de funcionamento da velocimetria por imagem de partícula (PIV) .....	57
Figura 18 - Ilustração de uma representação de uma imagem de uma mulher.....	59
Figura 19 - Etapas do Processamento de Imagens .....	61
Figura 20 - Microscópio invertido tri ocular CARL ZEISS™ AXIOVERT A1. ....	64

Figura 21 - Câmera FASTEC HISPEC 4. ....	64
Figura 22 - Incidência direta do fluxo de spray na lâmina e o posicionamento do sistema de captura digital de imagem. ....	68
Figura 23 - Esquema operacional da técnica de Incidência Laminar Direta (ILD), mostrando o posicionamento dos equipamentos. ....	69
Figura 24 - Imagem das gotículas em suspensão aerodinâmica adquirida pelo dispositivo experimental. ....	70
Figura 25 - histograma que expressa faixa de partículas respiráveis do nebulizador A. ....	73
Figura 26 - histograma de demonstra a faixa de partículas respiráveis do nebulizador B. ....	73
Figura 27 - Histograma de demonstra a faixa de partículas respiráveis do nebulizador C. ....	74
Figura 28 - Histograma de demonstra a faixa de gotículas respiráveis do nebulizador D. ....	74
Figura 29 - Histograma que demonstra as faixas das gotículas respiráveis do nebulizador E. ....	75
Figura 30 - Histograma que demonstra a faixa de gotículas respiráveis do nebulizador F. ....	75
Figura 31 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas para o nebulizador A. ....	77
Figura 32 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas do nebulizador B. ....	78
Figura 33 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas do nebulizador C. ....	78
Figura 34 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas para o nebulizador D. ....	79
Figura 35 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas para o nebulizador E. ....	80
Figura 36 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas para o nebulizador F. ....	80
Figura 37 - Evolução do diâmetro aerodinâmico das gotículas no intervalo de tempo de 2,0 s para o nebulizador F. (a) população inicial de gotículas no instante inicial. (b) população das gotículas no instante 0,5s. (c) população das gotículas no instante 1,0s d) população das gotículas no instante 1,5s. (e) população das gotículas no instante 2,0s. ....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição das vantagens e desvantagens dos nebulizadores convencionais pneumáticos e ultrassônicos.....	44
Tabela 2. Resumo das vantagens e desvantagens dos nebulizadores .....	45
Tabela 3. Diâmetros das esferas de poliamida, Diâmetro médio ( $D_m$ ), Desvio Padrão ( $\sigma$ ) e Variação percentual ( $V_p$ ). .....	65
Tabela 4. a) Informações sobre o diâmetro das gotículas fornecidas pelos manuais que acompanham os equipamentos; (b) Percentual de gotículas na faixa ideal (c) diâmetro médio característico das gotículas em suspensão para cada nebulizador (amostra) utilizando o parâmetro (CMAD) através da técnica ILD. ....	71
Tabela 5. Estatística descritiva com distribuições ajustadas e critério de Akaike (AIC), além dos valores relativos à Média, Mediana, e Desvio Padrão.....	81
Tabela 6. Evolução do diâmetro das gotículas geradas pelo nebulizador F no intervalo de tempo de 2,0s. A variação do parâmetro CMAD neste intervalo de tempo não sofre alteração significativa, demonstrando que as gotículas permanecem com as características físicas e morfológicas quase inalteradas. ....	83
Tabela 7. Vazões de cada nebulizador obtidas experimentalmente, com as respectivas médias e os desvios padrão ( $\sigma$ ).....	84
Tabela 8. Comparação das vazões obtidas experimentalmente com as veiculadas nos manuais que acompanham os nebulizadores.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Aerossóis Dosimetrados
APS	<i>Aerodynamic Particle Sizer</i>
CI	Cascade Impactor
CMAD	<i>Count Median Aerodynamic Diameter</i>
DAMM	Diâmetro Aerodinâmico de Massa Médio
DPI	<i>Dry Powder Inhaler</i>
GSD	<i>Geometric Standard Deviation</i>
ILD	Incidência Laminar Direta
LD	<i>Laser Diffraction</i>
LDA	<i>Laser Doppler Anemometry</i>
LDV	<i>Laser Doppler Velocimetry</i>
LIBS	<i>Laser-induced Breakdown Spectroscopy</i>
MMAD	<i>Mass Median Aerodynamic Diameter</i>
NP	Nebulizadores Pneumáticos
NU	Nebulizadores Ultrassônicos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDA	<i>Phase Doppler Particle Size Analysis</i>
PDIA	Técnica de Análise por imagem
Ph	Potencial Hidrogeniônico
PIV	<i>Particle Images Velocimetry</i>
SNC	Sistema Nervoso Central

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1 TEMA .....	17
1.2 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA .....	18
1.3 OBJETIVOS .....	21
1.3.1. <i>Objetivo Geral</i> .....	21
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i> .....	21
1.5 ESTRUTURA DO TRABALHO .....	23
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>24</b>
2.1 FATORES QUE AFETAM A EFICÁCIA DA INALAÇÃO .....	24
2.1.1. <i>Deposição Pulmonar</i> .....	24
2.2.2. <i>Gotículas</i> .....	30
2.2.3. <i>Fatores Fisiológicos e Patológicos</i> .....	32
2.2 MECANISMOS DE DEPOSIÇÃO DO AEROSSOL NAS VIAS RESPIRATÓRIAS..	35
2.2.1. <i>Impactação inercial</i> .....	36
2.2.2 <i>Sedimentação</i> .....	36
2.2.3 <i>Difusão</i> .....	37
<b>3. NEBULIZADORES.....</b>	<b>39</b>
3.1 INALAÇÃO.....	39
3.2 INALAÇÃO E NEBULIZADORES .....	40
3.3 NOVOS NEBULIZADORES.....	42
3.4. VANTAGENS E DESVANTAGENS.....	43
3.4.1. <i>Vantagens</i> .....	45
3.4.2. <i>Desvantagens</i> .....	45
<b>4. TÉCNICAS DE REFERÊNCIAS NA CARACTERIZAÇÃO DAS GOTÍCULAS.....</b>	<b>47</b>
4.1 DIFRAÇÃO A LASER.....	47
4.2 ESPECTROSCOPIA POR INDUÇÃO A LASER .....	49
4.3 CASCATA POR IMPACTO .....	51
4.4 PDA (PHASE DOPPLER PARTICLE SIZE ANALYSIS).....	52
4.5 ANÁLISE POR IMAGEM .....	54
4.5.1 <i>Microscopia</i> .....	54
4.5.2. <i>Velocimetria por imagem de partícula (PIV)</i> .....	56
<b>5. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>58</b>
5.1 PROCESSAMENTO DE IMAGENS.....	58
5.1.1 – <i>Imagem digital</i> .....	58
5.1.1.1 – <i>Representação da imagem</i> .....	58

5.1.1.2 – Amostragem e Quantização.....	59
5.2.1 – Processamento de imagens.....	60
5.3 EQUIPAMENTOS .....	64
5.4 METODOLOGIA.....	65
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>71</b>
6.1 CONTAGEM MÉDIA DO DIÂMETRO AERODINÂMICO (CMAD).....	71
6.2 HISTOGRAMAS DOS NEBULIZADORES.....	72
6.3 DISTRIBUIÇÕES DE FREQUÊNCIA DO DIÂMETRO DAS GOTÍCULAS GERADAS PELOS NEBULIZADORES .....	76
6.4 ANÁLISE TEMPORAL DA EVOLUÇÃO DAS GOTÍCULAS .....	81
6.5 VAZÃO DO EXCIPIENTE LÍQUIDO DOS NEBULIZADORES.....	83
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>86</b>
7.1 A TÉCNICA INCIDÊNCIA LAMINAR DIRETA (ILD) NA CARACTERIZAÇÃO DO DIÂMETRO DAS GOTÍCULAS AERO DISPERSAS. ....	86
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>89</b>
<b>9. TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>91</b>
<b>10. PUBLICAÇÕES .....</b>	<b>92</b>
<b>11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>95</b>
<b>ANEXO A - CARACTERIZAÇÃO DO DIÂMETRO DAS MICRO GOTAS .....</b>	<b>104</b>
<b>ANEXO B - VARIAÇÃO TEMPORAL DO DIÂMETRO DE UM NEBULIZADOR .</b>	<b>111</b>
<b>ANEXO C- ELABORAÇÃO DOS HISTOGRAMAS COM DESTAQUE DAS FAIXAS DE PARTÍCULAS RESPIRÁVEIS.....</b>	<b>113</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo é apresentado o tema da tese e a sua delimitação, discorrendo sobre os objetivos a serem alcançados, e da justificativa da pesquisa.

### 1.1 TEMA

A presente tese se insere no campo do aerossol terapia que utiliza a terapia com aerossol como um método de tratamento que permite que substâncias aerossolizadas sejam administradas por inalação, sendo os nebulizadores os dispositivos responsáveis pela geração de gotículas líquidas aerossolizadas. A principal vantagem da terapia com aerossóis é que concentrações mais altas da substância em aerossol podem ser alcançadas na árvore brônquica com menos efeitos colaterais do que sistemicamente, quando a substância é depositada diretamente no trato respiratório (MUERS,1997; O'CALLAGHAN, 1997; O'DONOHUE, 1996)

O trato respiratório representa uma opção ideal para a administração de fármacos. As vias aéreas são facilmente acessíveis por meio de inalação nasal ou oral e tem grande extensão, incluindo a superfície alveolar, o que permite a dispersão dos compostos terapêuticos. Como muitas dessas partículas não cruzam a barreira alvéolo/capilar, consegue-se utilizar doses mais altas do que seria possível pela administração oral para doenças das vias aéreas. Por outro lado, a deposição alveolar de fármacos permite uma rápida absorção pela circulação pulmonar, reduzindo a sua absorção pelo trato intestinal (DOLOVICH,2011; RUBIN, 2011).

A deposição pulmonar de uma droga depende do tipo de dispositivo inalatório utilizado. Sempre que possível, deve-se usar apenas um tipo de dispositivo, avaliando o seu custo e durabilidade. A preferência do paciente ou de seu responsável deve ser levada em consideração, uma vez que representa um fator importante na adesão do paciente ao tratamento (HUNTZINGER,2005).

Os principais fatores que determinam o depósito do fármaco nebulizado nas vias respiratórias estão relacionados ao tamanho das partículas aerodispersas, além de outros relacionados ao paciente, tais como idade, das condições subjacentes pulmonares, além da escolha do equipamento de nebulização. (BOE et al, 2001; ANCOCHEA,2009).

O uso da terapia com aerossóis permite que o fármaco seja depositado na região específica do trato respiratório, propiciando uma absorção sistêmica limitada visando minimizar os

efeitos colaterais indesejáveis. Por outro lado, esta forma de tratamento localizado possibilita uma ação mais rápida em comparação com outras formas de administração de fármacos por via oral, intramuscular e intravenosa, além de que, as doses utilizadas no tratamento são geralmente bem menores (PANDEY, 2005).

## 1.2 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

Nas últimas décadas, a terapia utilizando o aerossol alcançou um progresso significativo, o que determinou que o seu uso tornasse uma modalidade mais rápida, eficaz e segura para o tratamento de várias doenças respiratórias. Esta forma de administração permite a chegada do medicamento diretamente ao local de ação, evitando a necessidade de uso do trato digestivo ou via parenteral. A administração de fármacos por inalação oferece as seguintes vantagens:

1. Possibilidade de usar significativamente uma menor quantidade de fármaco;
2. Níveis sanguíneos mais altos, com menores efeitos colaterais;
3. Ação mais rápida.

Na árvore respiratória, a maior resistência ocorre nas vias aéreas superiores (revestimento da boca, língua, orofaringe) pela tendência desta região em reter partículas grandes. Isto torna-se um obstáculo quando se deseja que as partículas transportando fármaco ativo penetre nas vias aéreas inferiores. (AMIRAV et al, 2003).

O movimento das partículas é governado por dois tipos de fatores: o intrínseco do aerossol, e aqueles inerentes ao paciente.

Um dos fatores intrínsecos do aerossol é o comportamento aerodinâmico das partículas no sistema respiratório, governado principalmente por:

### 1. Tamanho:

O diâmetro das partículas é o fator mais importante na determinação de sua possibilidade de entrada na via aérea inferior e chegada ao local de ação. Partículas muito pequenas (menores que  $1,0 \mu\text{m}$ ) têm baixa capacidade de transporte de fármacos e alta probabilidade de serem exaladas para o meio ambiente sem atingir o epitélio respiratório. Partículas muito grandes ( $> 5,0 \mu\text{m}$ ) têm uma alta tendência a aglomerar e a impactar rapidamente na via aérea superior; portanto, estão associados à possibilidade de gerar maiores efeitos sistêmicos. Partículas de tamanho intermediário, de  $1,0 - 5,0 \mu\text{m}$ , são as "ideais" que através de mecanismos de deposição, sedimentação e



difusão, podem muito provavelmente atingir as paredes das vias aéreas distais. Partículas com esta característica constituem a "massa respirável" de um aerossol. Os aerossóis terapêuticos são "polidispersos", o que significa que a nuvem de aerossol é constituída de partículas de tamanhos consideravelmente diferentes (BENNET, 1991). À medida que a dispersão é assimétrica (não-Gaussiana), um aerossol pode ser caracterizado em termos de uma medida central de tendência, o diâmetro aerodinâmico médio de massa (MMAD) e uma medida de dispersão, o GSD (desvio padrão geométrico). Para a administração de partículas nas vias periféricas, o sistema que fornece um aerossol com o MMAD mais menor e com o GSD mais estreito será o mais indicado.

## 2. Velocidade de entrada.

Quanto maior a velocidade, maior a probabilidade de depósito nas vias aéreas superiores.

## 3. Carga eletrostática

As influências de atração e repulsão pela carga elétrica podem estar entre as partículas, ou entre as partículas e as paredes das vias aéreas.

## 4. "Higrofilia".

É a propriedade das partículas aumentarem seu tamanho quando estão em um ambiente saturado de água, como a via aérea.

Pode-se observar na Figura 1, alguns tipos de fármacos são "ineficientes", porque uma grande parte é desperdiçada no trajeto não chegando ao local da ação para que o procedimento seja efetivo. Nota-se que parte da dose inalada pelo paciente se divide em gotículas que podem ser maiores ou menores que  $5,0 \mu\text{m}$ ; para aquelas que são maiores que  $5,0 \mu\text{m}$  que se depositam nas vias áreas superiores há uma absorção digestiva que culmina com efeitos sistêmicos e excreção renal. Para as gotículas menores que  $5 \mu\text{m}$  há uma deposição nas vias aéreas inferiores levando ao efeito terapêutico esperado. A proporção de distribuição de partículas no sistema respiratório depende do tipo de método de geração e das inúmeras variáveis que participam de suas características de desempenho (DOLOVICH, 1991).

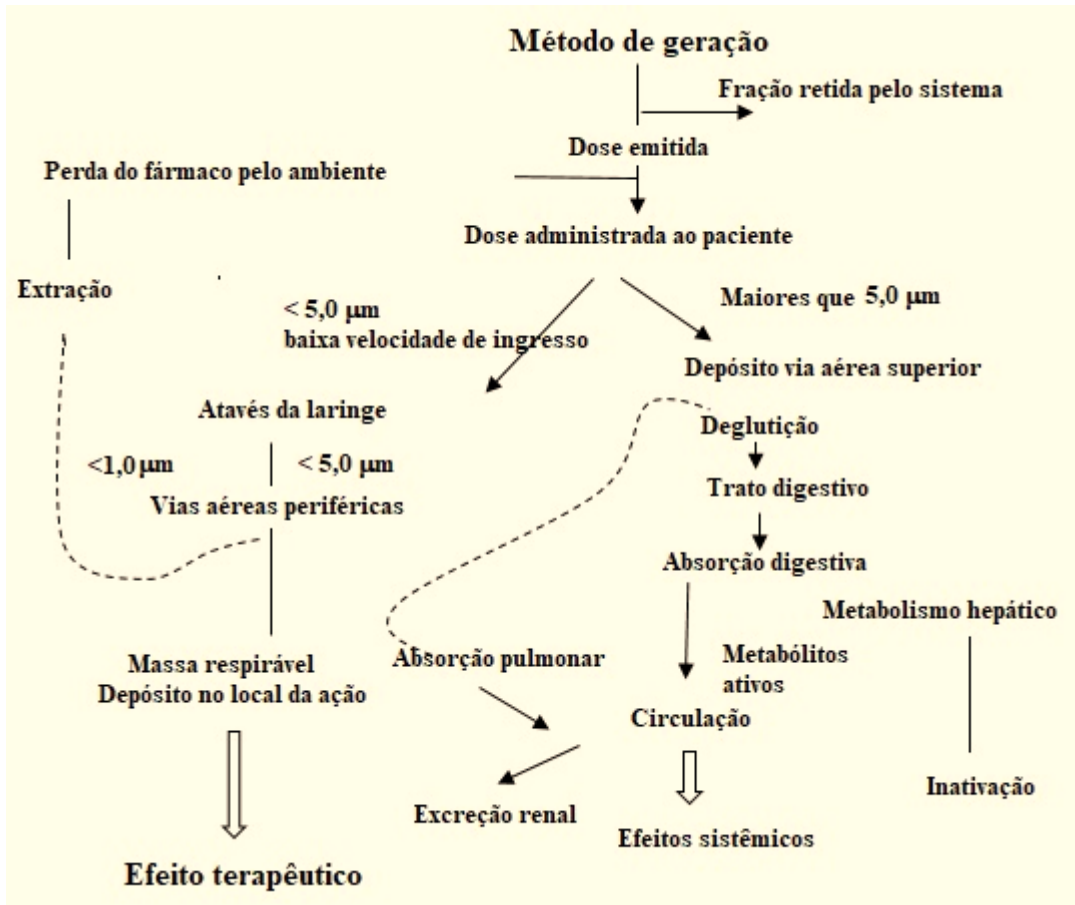


Figura 1- Esquema geral da distribuição das partículas aero dispersas para que o efeito terapêutico seja atingido  
 Fonte: Adaptado de DOLOVICH, 1991.

A partir do que foi tratado anteriormente, o tamanho das gotículas geradas no processo de nebulização tem um papel crucial na eficácia da ação do fármaco durante o tratamento. O projeto de cada nebulizador possui características específicas que os fazem ter um comportamento diferente no processo de nebulização. Desse modo há um problema a ser respondido: Como quantificar a eficiência dos nebulizadores em entregar gotículas aerodispersas com diâmetros compreendidos na faixa entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$  (gotículas respiráveis)?

Em busca de para uma resposta a essa questão utilizou-se a técnica Incidência Laminar Direta (ILD) para caracterizar a população das gotículas geradas no processo de nebulização, enfatizando a região compreendida entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$  que corresponde a faixa ideal de absorção do fármaco no trato respiratório inferior, o que possibilita uma melhor resposta ao tratamento terapêutico.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1. Objetivo Geral

Caracterizar os diâmetros de gotículas respiráveis produzidas no processo de nebulização tomando por base uma amostra de nebulizadores comercializados no mercado brasileiro, utilizando a técnica de Incidência Laminar Direta (ILD).

### 1.3.2. Objetivos Específicos

- Encontrar o parâmetro Contagem Mediana do Diâmetro Aerodinâmico (CMDA) para cada nebulizador;
- Estudar quantitativamente a distribuição percentual da população de gotículas em relação ao diâmetro utilizando o parâmetro CMDA;
- Avaliar a evolução temporal da população das gotículas em suspensão aerodinâmica baseado no parâmetro CMDA;
- Determinar a vazão de cada nebulizador que compõe a amostra no processo de nebulização;
- Elaborar de histogramas por faixas de diâmetro de gotículas para cada nebulizador que compõe a amostra;
- Elaborar gráficos de distribuição de densidade de frequência para cada nebulizador que compõe a amostra.

## 1.4 JUSTIFICATIVA

A entrega pulmonar de fármacos tornou-se um alvo atraente e de grande interesse científico na área de pesquisa em saúde, devido a capacidade do pulmão em absorver produtos farmacêuticos por deposição localizada. A este respeito, tem sido dada uma atenção crescente ao potencial da via pulmonar para a administração local não invasiva devido a elevada permeabilidade e grande área de superfície de absorção dos pulmões (aproximadamente 70-140 m<sup>2</sup> em seres humanos adultos) e bem vascularizada (GRONEBERG, 2001; GRONEBERG, 2003). Como já foi relatado, os distúrbios respiratórios locais e algumas doenças sistêmicas podem ser tratados com a entrega de fármacos por via pulmonar. Isto inclui o tratamento tópico de asma, doenças infecciosas locais, hipertensão pulmonar, a utilização sistêmica de insulina, hormônios de crescimento humano, e oxitocina (FLUME 2002; GESSLER, 2008). Se ele for planejado para atuar em uma parte específica dos pulmões, então o dispositivo selecionado deve ser capaz de gerar e entregar as partículas de diâmetros aerodinâmicos específicos. Os dispositivos comumente utilizados para este fim incluem nebulizadores, inaladores dosimetrados e inaladores de pó seco.

Estão disponíveis vários tipos de nebulizadores, nomeadamente nebulizadores de jato, nebulizadores ultrassônicos, nebulizadores de malha vibratória. Nebulizadores a jato são acionados por ar comprimido. Os nebulizadores ultrassônicos usam um transdutor piezoelétrico para criar gotículas a partir de um reservatório de líquido aberto. Nebulizadores de malha de vibração usam membranas perfuradas acionadas por um piezo elemento em forma de anel para vibrar em modo de flexão ressonante. Os orifícios na membrana têm um tamanho de seção transversal grande no lado de suprimento de líquido e um tamanho de seção transversal estreito no lado de onde as gotículas emergem. A seleção de um dispositivo adequado depende de parâmetros como: a natureza do medicamento e sua formulação, o local de ação, e a fisiopatologia do pulmão (GELLER, 2002; HENRY et al, 2003).

Assim, uma melhor compreensão desses parâmetros e sua interrelação ajudará a maximizar a eficiência e os benefícios do sistema de liberação pulmonar de fármacos otimizando o tratamento de doenças crônicas do trato respiratório. Existe ainda um amplo escopo para os pesquisadores investigarem e demonstrarem estratégias de nano medicina para a entrega de fármacos pulmonares (WHITE et al, 2005). Recentes avanços tecnológicos estão levando ao desenvolvimento de sistemas de liberação mais eficientes e que produzem aerossóis de partículas cada vez menores, permitindo que doses mais altas de droga sejam depositadas na região alveolar dos pulmões, disponibilizando assim para absorção sistêmica.

A maioria dos aerossóis terapêuticos tem um grau de dispersão muito grande, consistindo de uma ampla gama de tamanhos de partículas e descrita pela distribuição Log-Normal que relaciona o logaritmo dos diâmetros das partículas com número de partículas. O tamanho das partículas é definido a partir desta distribuição por vários parâmetros, dentre eles: o MMAD é caracterizado a partir da curva de distribuição cumulativa no ponto de 50%; Desvio Padrão Geométrico (GSD) é uma medida da variabilidade dos diâmetros das partículas no interior do aerossol e é calculado a partir da relação entre o diâmetro das partículas no ponto de 84,1% na curva de distribuição cumulativa e o MMAD. Para uma distribuição Log-Normal, o GSD é o mesmo para as distribuições de número, área de superfície ou massa. Um GSD de 1 indica um aerossol monodisperso, enquanto um  $GSD > 1,2$  indica um aerossol polidisperso (DOLOVICH, 1978).

## 1.5 ESTRUTURA DO TRABALHO

No capítulo 2 são descritos forma sucinta o estudo de aerossóis e sua relação com a dimensão das partículas aero dispersas.

No capítulo 3 são apresentadas as técnicas inalatórias utilizadas na administração de fármacos no tratamento das doenças respiratórias, relação entre o processo de inalação e os nebulizadores, e uma discussão das vantagens e desvantagens do uso destes equipamentos.

No capítulo 4 são apresentadas as técnicas de referências existentes na literatura voltadas para a caracterização do diâmetro partículas aero dispersas.

No capítulo 5 apresenta-se a técnica proposta, e a metodologia utilizada na obtenção dos dados referentes à caracterização das gotículas geradas pelos nebulizadores tomados como amostra.

No capítulo 6, são apresentados os resultados experimentais representados através diagramas, gráficos, histogramas e tabelas.

No capítulo 7, serão discutidos os resultados apresentados e a validade da técnica Incidência Laminar Direta (ILD) na caracterização das gotículas aero dispersas geradas pelos nebulizadores, além de apontar os desdobramentos futuros do presente trabalho.

No capítulo 8, é apresentada as considerações finais de todo o trabalho.

E por fim, no capítulo 9 é apresentado os futuros trabalhos.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo serão abordados os aspectos biológicos, tais como: fatores que afetam a eficácia da inalação, micro gotas, aerossol e fatores fisiológicos e patológicos das gotículas.

### 2.1 FATORES QUE AFETAM A EFICÁCIA DA INALAÇÃO

#### 2.1.1. Deposição Pulmonar

O tratamento de doenças respiratórias utilizando nebulizadores está associado a uma liberação suficiente de fármaco nos pulmões para uma indução de resposta terapêutica. Para uma melhor eficácia, a administração de fármacos deve ser precisa, reprodutível e conveniente. Este objetivo pode ser alcançado pela combinação de formulação, dosagem e estratégias de nebulização.

Aspectos clínicos e técnicos da seleção do sistema de liberação devem ser extensivamente avaliados (TELKO & HICLEY, 2005). Logo, a deposição de um fármaco por aerossol nas vias respiratórias depende de quatro fatores: propriedades físico-químicas do fármaco, formulação do fármaco, dispositivo de entrega ou liberação, e do estado clínico do paciente. (AULTON, 2005).

A relação risco–benefício dos fármacos administradas por aerossóis (efeito farmacológico desejável X efeito sistêmico indesejável) pode ser denominada de índice terapêutico. O fármaco ideal, considerando suas propriedades farmacocinéticas, deveria possuir um elevado índice terapêutico, baixa absorção pulmonar, baixa biodisponibilidade oral e elevada liberação sistêmica (WITEK, 2000). A biodisponibilidade do fármaco e o seu índice terapêutico podem ser influenciados pelas características do dispositivo gerador, pelas propriedades do fármaco veiculado e pela técnica inalatória.

- **Características do dispositivo gerador:** existe uma grande variabilidade individual de diversos sistemas para a deposição pulmonar, neste quesito merece destaque a utilização de espaçadores quando acoplados a inaladores dosimétricos. A fração biodisponível de

fármaco, seguindo a absorção pelo trato gastrointestinal pode ser reduzida de maneira significativa com a escolha do dispositivo, como por exemplo o uso de nebulizadores. (DOLOVICH et al, 2000; DUBUS et al, 2001).

- **Características do fármaco:** as propriedades de biodisponibilidade dos corticoides são variáveis, podendo ser menos importantes em fármacos como a budesonida<sup>1</sup> e a fluticasona<sup>2</sup>(que apresentam elevado metabolismo de primeira passagem). Os  $\beta$ - adrenérgicos<sup>3</sup>também são fármacos conjugados pelo trato gastrointestinal, ficando a sua biodisponibilidade exclusivamente dependente da fração depositada na via aérea (BISGAARD, 1997; COLICE, 2000; ALLEN, 2002).

Algumas características da via aérea podem influenciar a deposição pulmonar do aerossol, pode-se citar:

- **Calibre da via aérea:** Em situações de comprometimento do processo obstrutivo brônquico também influencia a deposição do aerossol para a via aérea mais terminal.
- **Frequência respiratória:** a taquipnéia<sup>4</sup> pode diminuir o tempo de residência da partícula no pulmão, diminuindo a sua deposição. Contrariamente, manobras de pausa inspiratória parecem contribuir para o aumento da deposição pulmonar.
- **Padrão inalatório:** o nariz é uma estrutura com elevado poder de filtração. Partículas maiores que 10  $\mu\text{m}$  são, na sua maioria, retidas com o padrão de respiração nasal. A respiração oral é menos efetiva quanto a esta característica, o que resulta em uma maior deposição de aerossol na via aérea.
- **Padrão inspiratório e Fluxo inspiratório:** volumes correntes mais elevados parecem influenciar favoravelmente a deposição do aerossol. Fluxos mais elevados tendem a aumentar a deposição do fármaco na via aérea superior por impactação.

---

<sup>1</sup> A budesonida é um glicocorticosteroide com grande efeito anti-inflamatório local (BROGDEN, 1992).

<sup>2</sup> O propionato de fluticasona exerce atividade anti-inflamatória potente nos pulmões. Reduz os sintomas e as exacerbações da asma em pacientes previamente tratados com broncodilatadores isolados ou com outra terapia profilática (DYKEWICZ, 2003).

<sup>3</sup> A estimulação dos receptores  $\alpha$  e  $\beta$  em resposta à exposição promove constrição ou relaxamento de artérias e veias (DESSY et al, 2006).

<sup>4</sup> Respiração acelerada, é o nome que recebe o aumento da frequência ou ritmo respiratório. Esta frequência alude ao número de respirações (inalações e exalações) que uma pessoa realiza durante um período de tempo definido.

- **Umidade:** de forma geral, as partículas produzidas no exterior da via aérea tendem a diminuir o seu diâmetro em função de uma perda do seu conteúdo hídrico; entretanto, ao entrarem na via aérea, podem aumentar de diâmetro em função de suas propriedades hidrofílicas.

#### 2.1.1.1 Influência das propriedades farmacológicas dos fármacos na deposição pulmonar.

Independentemente da característica ou do sistema utilizado, sempre há deposição de partículas na orofaringe, que serão deglutidas e absorvidas pelo trato gastrointestinal, normalmente em torno de 80% a 90% ((LIPWORTH, 1995; BRUTON et al., 2010). No trato gastrointestinal produz-se a primeira metabolização e inativação do fármaco. Após absorvido, ele é metabolizado no fígado e retorna à circulação sistêmica (metabolismo de primeira passagem) (COLICE, 2000; ALLEN, 2002). O sistema gerador de aerossol utilizado, a faixa etária do paciente, e a técnica inalatória empregada, são determinantes para esta distribuição, podendo variar significativamente de paciente para paciente.

A Figura 2 apresenta uma representação esquemática da disposição dos fármacos inalados, quando da inalação há uma separação da absorção ao longo do trato respiratório; parte da medicação se deposita nos pulmões, onde há absorção pulmonar. Outra parte segue ao longo do trato intestinal sendo excretada, sem ser absorvida de modo terapêutico.

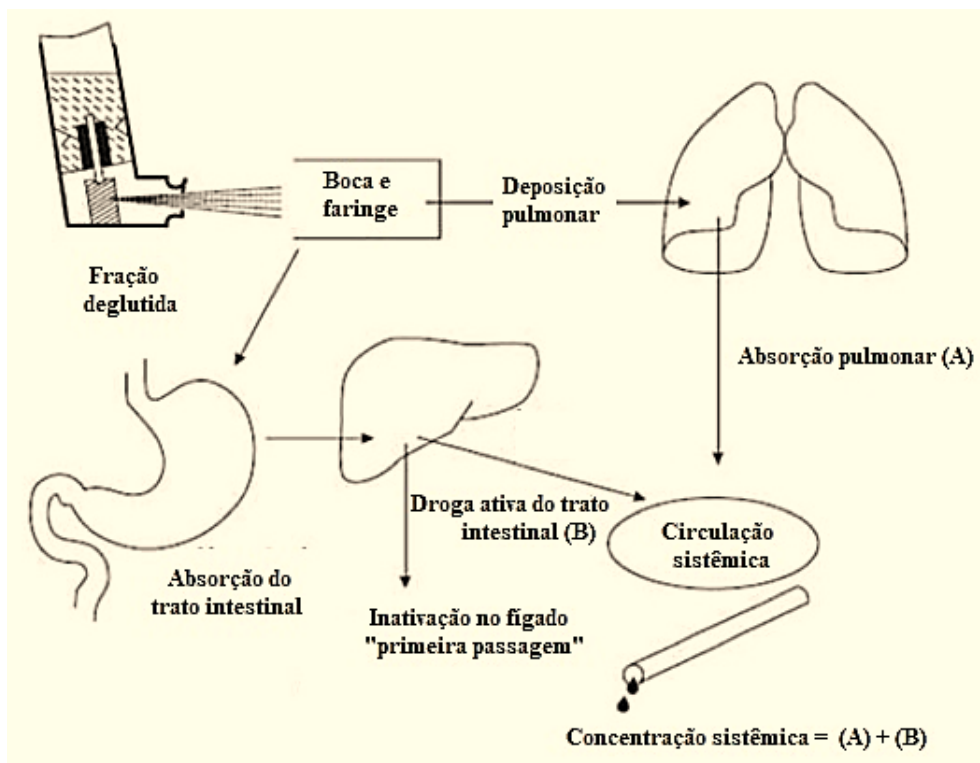




Figura 2- Esquema do caminho percorrido pela disposição dos fármacos inalados.

Fonte: Adaptado de ALLEN, 2002.

A fração de aerossol gerado que se deposita na via aérea, sem entrar em contato com o receptor específico, é absorvida diretamente para a circulação sistêmica sem sofrer metabolismo de primeira passagem (COLICE, 2000; ALLEN, 2002). A fração biodisponível do fármaco atinge a circulação sistêmica a partir das absorções pelos tratos gastrointestinal e respiratório, e em função de seu tempo de sua meia-vida permanecerá um determinado tempo na circulação antes de ser eliminada do organismo (COLICE, 2000; WITEK, 2000; ALLEN, 2002). O conhecimento específico sobre as propriedades farmacológicas dos diversos fármacos utilizados por via inalatória tem uma importância clínica considerável (BISGAARD, 1997; CALPIN et al., 1997; COLICE, 2000; ALLEN, 2002).

#### *2.1.1.2 Deposição de gotículas no trato respiratório*

A administração de fármacos pela via pulmonar apresenta múltiplas vantagens; entre elas pode-se citar uma ação não invasiva e uma elevada área superficial disponibilizada pelos pulmões. Adicionalmente, as enzimas metabolizadoras de fármacos estão em concentração muito inferior nos pulmões que no trato gastrointestinal e no fígado, desse modo as moléculas inaladas que alcançam a circulação sistêmica são menos susceptíveis à degradação (PATTON & BYRON, 2007).

A extensão e a eficácia de deposição das gotículas após a inalação é influenciada primeiramente por três fatores: (a) tamanho das micro gotas(diâmetro), densidade, propriedades de superfície, e forma das micro gotas; (b) anatomia da via aérea superior e inferior e a estrutura alveolar; e (c) parâmetros de ventilação como o impacto sobre a deposição das micro gotas(incluindo modo de prender a respiração, e presença de limitação no fluxo de expiração), taxa de fluxo, velocidade de fluxo do ar e o tempo de residência no trato respiratório (YANG et al, 2008).

Uma das propriedades físico-químicas fundamentais de um aerossol quando inalado é o tamanho das gotículas. Esse tamanho é padronizado pelo cálculo de seu diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD), o qual é o diâmetro físico de uma esfera de densidade unitária, que sedimenta no ar com uma velocidade igual à partícula sob análise (AULTON, 2005). Sendo assim, dependem fortemente da forma, densidade e diâmetro geométrico da gotícula (YANG et al, 2008). O diâmetro aerodinâmico é a medida mais apropriada para caracterizar o tamanho das gotículas

aero dispersas, pois traduz o comportamento dinâmico da partícula além de descrever o principal mecanismo de deposição (TELKO & HICKEY, 2005).

Existem três principais mecanismos de deposição das micro gotas no trato respiratório, os quais são dependentes do diâmetro das micro gotas inaladas:

(a) Impactação - fenômeno que ocorre principalmente nas regiões de bifurcação, ou próximo a estas, onde a velocidade de fluxo é maior e onde existe uma rápida alteração na direção do fluxo de ar, gerando forças inerciais consideráveis - este mecanismo de deposição ocorre com micro gotas que possuem diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) maiores que  $5,0 \mu\text{m}$ , durante a passagem das mesmas através da faringe e vias condutoras mais largas (PILCER & AMIGHI, 2010; YANG et al, 2008);

(b) Sedimentação - ocorre pela ação da gravidade consistindo importante mecanismo de deposição, e ocorre com partículas de diâmetro aerodinâmico compreendido entre  $1,0$  e  $5,0 \mu\text{m}$ , nas vias aéreas de menor condução, onde a velocidade do ar é menor - a sedimentação gravitacional aumenta com o aumento do tamanho das micro gotas, mas é reduzida com o aumento da frequência respiratória;

(c) Difusão - a deposição da partícula acontece especialmente nas vias aéreas inferiores e nos alvéolos, onde o fluxo de ar é muito baixo, podendo não haver deposição completa ou deposição muito lenta.

A Figura 3 representa as divisões do trato respiratório e o tipo de deposição mais provável de ocorrer, nesta ilustração pode-se observar os dois mecanismos necessários para que ocorra a deposição de micro gotas. Ressalta-se que a sedimentação é parte onde há absorção das menores micro gotas, entre  $1\mu\text{m}$  a  $5\mu\text{m}$ , classificadas como partículas respiráveis. Estas são essenciais para um resultado positivo no tratamento de doenças respiratórias.

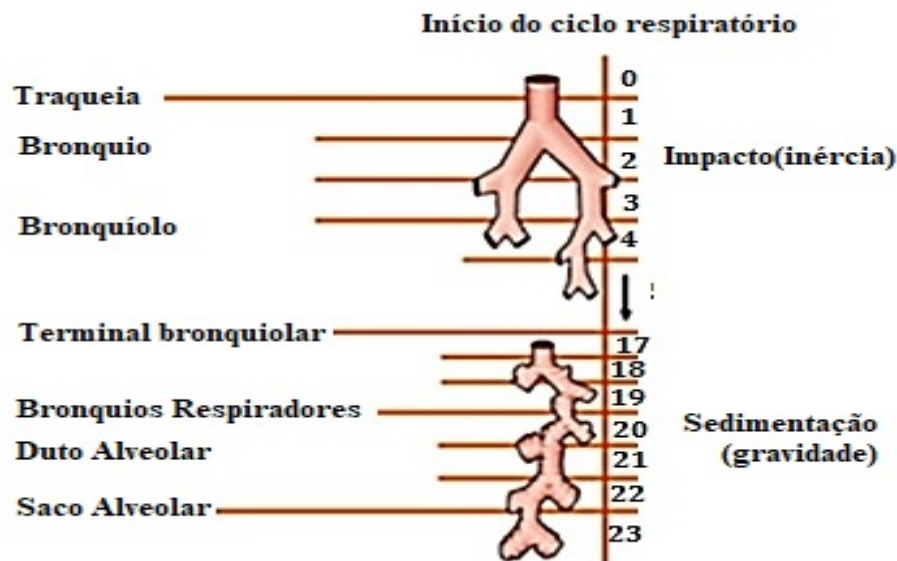


Figura 3- Ilustração dos fatores que determinam a deposição de partículas inaladas ao longo do trato respiratório.  
 Fonte: Adaptado de BYRON, 2007.

De modo geral, as gotículas devem apresentar diâmetro aerodinâmico médio mássico entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$  para que as mesmas apresentem um efeito localizado e ao mesmo tempo, evitar a fagocitose pelos macrófagos alveolares (TABATA & IKADA, 1988; COATES et al, 1997).

A Figura 4 demonstra a dependência do diâmetro aerodinâmico das partículas em relação ao local de deposição no trato respiratório, pode-se visualizar através do gráfico que há uma região onde há uma maior probabilidade de absorção de gotículas respiráveis. A região em azul caracteriza a faixa destas gotículas na região alveolar, região compreendida entre 1 $\mu\text{m}$  a 5 $\mu\text{m}$ . As demais regiões há uma dispersão das gotículas maiores, sem eficaz no tratamento das doenças do trato respiratório.

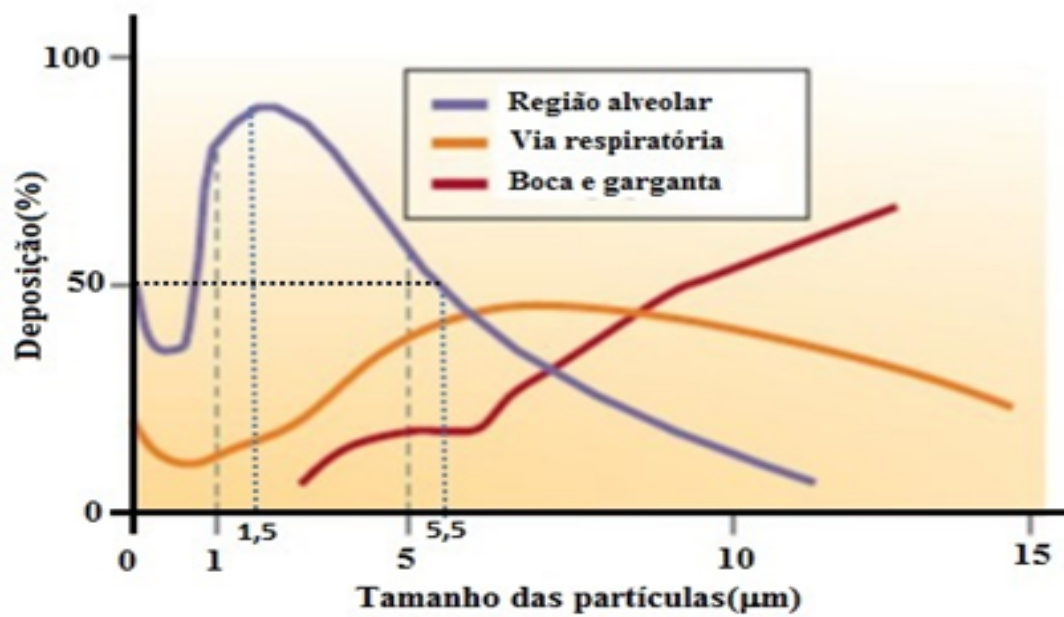


Figura 4 - Gráfico da relação entre o tamanho da partícula e a porcentagem de deposição no trato respiratório  
Fonte: Adaptado de PATTON, 2007.

A deposição pulmonar média de um aerossol é de aproximadamente 10% da dose inalada, podendo variar de 6 a 30%, a depender do dispositivo inalatório, do fármaco, da técnica de uso e do grau de obstrução das vias aéreas (WILLEKE, 1993).

### 2.2.2. Gotículas

A faixa de diâmetros das gotículas dos aerossóis é extremamente grande. Para gotículas esféricas, o diâmetro é uma medida adequada. A descrição de uma partícula tridimensional através de um único número e dada pelo diâmetro equivalente, que é determinado pela medição direta do diâmetro da partícula ou pela medição de algum parâmetro que esteja relacionado com o seu tamanho (STOCKHAM, 1979).

Vários tipos de diâmetros equivalentes podem ser extraídos a partir de técnicas que medem diferentes propriedades físicas específicas da gotícula, como volume, área, resistência à movimentação em um gás ou poder de espalhamento da luz. O mais usado é o diâmetro esférico equivalente, que corresponde ao diâmetro de uma esfera que tem o mesmo valor da propriedade

física da gotícula que está sendo medida (ALLEN, 1997).

Entretanto, quando gotículas de tamanhos diferentes estão juntas, como no caso das aero dispersas, o diâmetro por si só, não é suficiente para descrever as dimensões de todas as partículas presentes. A descrição da quantidade de partículas com relação ao seu tamanho é chamada de função distribuição. Os dados de medição de tamanho de partícula podem ser apresentados na forma de distribuição de frequência ou de distribuição de frequência acumulada, usando uma combinação do parâmetro de medição com o parâmetro de quantidade. Os dados obtidos na medição do tamanho de partícula são classificados de acordo com faixas de tamanhos chamadas intervalos de classe (ALLEN, 1990). A maioria das gotículas aero dispersas possuem distribuições de tamanho que obedecem à função de distribuição Log-Normal. Esta distribuição é caracterizada por uma curva típica, altamente desviada, com maior inclinação na direção das gotículas de diâmetros menores, indicando que um grande número de partículas pequenas está presente na amostra.

#### *2.2.2.1 – MMAD E CMAD*

O tamanho da micro gota refere-se ao de uma gota aerodinâmica, significando uma gota de densidade unitária esférica que se estabelece com a mesma velocidade que a gota em questão. Uma gota muito densa terá um comportamento aerodinâmico diferente (um tamanho aerodinâmico aumentado) de uma gota de tamanho equivalente, mas menos densa. Aerossóis produzidos por nebulizadores médicos são polidispersos, isto é, compostos de gotas de diferentes tamanhos. A distribuição de tamanho de gotas pode ser descrita estatisticamente. A maioria dos aerossóis terapêuticos está em conformidade com uma distribuição logarítmica normal aproximada, que pode ser descrita a partir do parâmetro Diâmetro Aerodinâmico Médio de Massa (MMAD) e Desvio Padrão Geométrico (GSD), como descrito ao longo do texto. Estes parâmetros são usados como referência para a caracterização das gotículas chamadas de respiráveis.

Um outro parâmetro que pode ser usado para a caracterização de gotículas é o Diâmetro Aerodinâmico Mediano da Contagem (CMAD), o diâmetro do número mediano de partículas na nuvem de aerossol, normalmente é utilizado como se fosse equivalente ao MMAD. A descrição do número de gotículas de um determinado tamanho pode, portanto, dar uma visão mais abrangente das gotículas respiráveis geradas por um nebulizador (HINDS, 1983).

### 2.2.2.2 – Tamanho de Gotículas e microscopia ótica

A microscopia ótica ainda é a técnica analítica mais utilizada para medição de tamanho de partícula. Apesar de estar sendo substituída, nos últimos anos, por técnicas automáticas mais avançadas e rápidas, ela ainda permanece como técnica de referência devido a sua facilidade operacional (BS, 1993). Pode-se citar algumas características operacionais positivas da microscopia ótica:

- I. Fornece informações sobre tamanho, forma, cor;
- II. A observação direta das partículas dá um certo grau de credibilidade e confiança aos resultados;
- III. A observação direta permite ao microscopista obter ou deduzir informações sobre a presença de aglomerados, corpos defeituosos ou outras indicações de falta de homogeneidade;
- IV. Baixo custo operacional comparado ao de outros tipos de equipamentos destinados à mesma finalidade.

O microscópio ótico é indicado para identificação e medição de tamanhos de partículas na faixa de diâmetro entre 0,8 e 20  $\mu\text{m}$ . A detecção de partículas menores que as limitadas por esta faixa depende da resolução do instrumento. Um limite inferior teórico poderia chegar a até 0,2  $\mu\text{m}$ , dependendo dos acessórios instalados e do ajuste do microscópio (WILLEKE, 1993).

Os avanços dos últimos anos, na área de processamento de imagem, têm permitido o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de diversos equipamentos para análise automática e semiautomática de imagens. Reconhecimento, contagem e medição de tamanho, forma, posição, densidade e outras propriedades similares de objetos presentes em uma imagem são tarefas que podem ser executadas com relativa facilidade e excelente reprodutibilidade pelos microcomputadores.

### 2.2.3. Fatores Fisiológicos e Patológicos

Ao longo dos últimos anos, as vias áreas do sistema respiratório tem se tornado um veículo para a administração nasal de fármacos apresentando grande interesse para a comunidade científica devido às características particulares da cavidade nasal, levando ao desenvolvimento de

novos compostos bioativos, procurando assim melhorar o perfil terapêutico dos mesmos (CONSTANTINO et al., 2007). A mucosa nasal permite a absorção de fármacos de ação tópica, de ação sistêmica além, da veiculação de vacinas.

Nas áreas mais profundas do pulmão, os macrófagos alveolares são capazes de englobar as gotículas logo após sua deposição. Uma terapia com liberação retardada eficaz, portanto, requer uma estratégia que evite ou iniba este mecanismo de eliminação pulmonar (EDWARDS et al.1997).

O grau de captura por macrófagos está diretamente relacionado com as condições patológicas, ou seja, o estado de ativação dos macrófagos. Um aumento da fagocitose de gotículas tem sido observado com pacientes com asma branda. Como a fagocitose necessita resistência física, partículas rígidas são mais facilmente fagocitadas do que aquelas mais maleáveis. A captura de gotículas é reduzida quando os diâmetros geométricos das gotículas assumem valores inferiores a  $1,0\ \mu\text{m}$  (TABATA & IKADA, 1988) ou superiores a  $5,0\ \mu\text{m}$  (EDWARDS et al. 1997).

Por outro lado, doenças como a asma modificam a arquitetura do trato respiratório devido a bronco-constricção e aos processos decorrentes da inflamação, provocando alterações nos ângulos de bifurcação e obstrução das vias aéreas em função do acúmulo de muco, modificando, assim, o perfil de deposição e distribuição dos aerossóis. Uma redução da superfície do pulmão causada pela obstrução aumenta a velocidade do ar e a turbulência nas regiões onde o fluxo normalmente é laminar. A obstrução das vias aéreas desvia o ar inspirado para áreas não obstruídas, fazendo com que pouco fármaco seja depositado nas áreas obstruídas, reduzindo a eficiência terapêutica do medicamento. Em um pulmão obstruído, o fármaco na forma de aerossol tende a se depositar mais centralmente no sistema respiratório por impactação inercial (LABIRIS & DOLOVICH, 2003).

Há uma necessidade de se obter gotículas de tamanhos compatíveis com a região pulmonar onde haverá sua absorção. Este processo será mais eficaz e preciso quanto mais gotículas do tamanho ideal (gotículas respiráveis) forem produzidas pelos equipamentos no processo inalatório.

Como a eficiência do tratamento acontece pela atuação localizada das gotículas na região pulmonares de maior absorção (LABIRIS & DOLOVICH, 2003), este trabalho propõe uma técnica alternativa de quantificação dos diâmetros das gotículas aero dispersas, aliado a um modelo alternativo de caracterização, enfatizando a faixa compreendida entre  $1,0$  e  $5,0\ \mu\text{m}$ . O gráfico da Figura 4, mostra que é justamente nesta faixa que ocorre uma maior deposição das gotículas nas regiões inferiores do trato respiratório.

#### 2.1.4. Aerossol

A deposição pulmonar média de um aerossol é de aproximadamente 10% (BRUTON et al., 2010) da dose inalada, podendo variar de 6 a 32%, dependendo do dispositivo utilizado, do fármaco, da técnica de uso, do grau de obstrução das vias aéreas, além do tamanho das partículas aero dispersas no processo inalatório (PEREIRA, 1998, 2007; MESQUITA et al, 2004).

O tamanho da partícula inalada é um parâmetro físico de relevância clínica. Este parâmetro físico é dependente de dois fatores básicos: o sistema utilizado para sua geração e as características da substância a ser veiculada. Partículas maiores que 10  $\mu\text{m}$  depositam-se na boca e orofaringe, enquanto que partículas menores que 0,5  $\mu\text{m}$  alcançam os alvéolos, sendo exaladas sem se depositar na superfície brônquica. Partículas de 1 a 5  $\mu\text{m}$  são as ideais, depositando-se nas pequenas vias aéreas cumprindo assim o seu papel terapêutico (PEREIRA, 1998). A Figura 5, mostra que há no trato respiratório uma relação direta entre o tamanho das gotículas e sua absorção pela superfície brônquica.

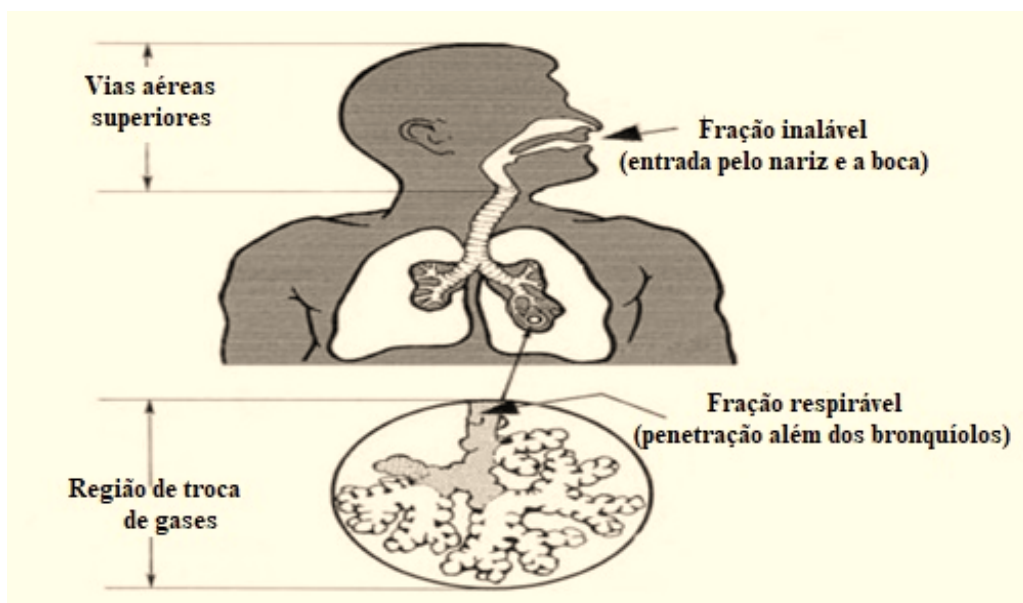


Figura 5- Localização da deposição das gotículas no trato respiratório em função do tamanho

Fonte: Adaptado de EPA, 1999

A oferta de aerossol para o pulmão está relacionada: (a) ao diâmetro médio da massa aerodinâmica, que determina a principal característica das partículas geradas a ser considerada no processo de deposição pulmonar; (b) da técnica inalatória utilizada e as características da via aérea do paciente. Mesmo considerando situações ideais, a fração final depositada nos pulmões é muito baixa e depende dos vários mecanismos como: impactação inercial, sedimentação gravitacional e



difusão browniana (NEWHOUSE e DOLOVICH, 1986; O'CALLAGHAN, 1997; DOLOVICH, 2000; DOLOVICH et al, 2000; FINK RAU, 2000).

## 2.2 MECANISMOS DE DEPOSIÇÃO DO AEROSSOL NAS VIAS RESPIRATÓRIAS

A deposição de partículas em uma determinada área requer não apenas que as partículas atinjam o sítio de ação, como também que elas parem nesta região. Para que uma partícula atinja um determinado nível da árvore respiratória, não é necessário que ela se deposite em quantidade, é necessário considerar que a velocidade de inspiração do aerossol seja suficiente para levar o aerossol ao seu local de ação. A deposição da partícula é determinada principalmente pelo seu tamanho (DAUTZENBERG et al, 2000; ZANEN et al, 2002).

Na Figura 6 são representados os três principais mecanismos de deposição das partículas, e sua relação com o tamanho (expresso como diâmetro geométrico para partículas esféricas de densidade 1, que representa o diâmetro aerodinâmico).

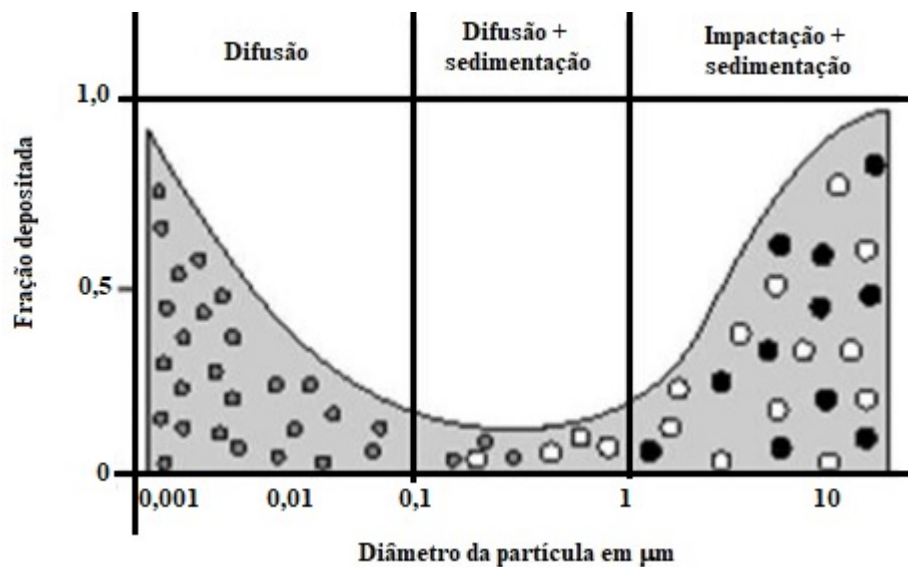


Figura 6 - Diagrama dos três principais mecanismos de deposição pulmonar em função do diâmetro aerodinâmico das partículas.

Fonte: Adaptado de JASPART, 2007.

As condições físicas locais determinadas pelo tamanho, velocidade das partículas, diâmetro, e curvatura das vias aéreas devem permitir um encontro entre a partícula e a parede, através de um dos três seguintes mecanismos de deposição:

### 2.2.1. Impactação inercial

A impactação ocorre quando uma partícula não consegue seguir o fluxo de ar e então ela se impacta contra uma curva ou uma bifurcação. Geralmente ocorre nas vias aéreas superiores. A impactação depende do diâmetro e da velocidade das partículas: quanto maior é a partícula (diâmetro aerodinâmico médio de massa MMAD, maiores  $>3 \mu\text{m}$ ), maior é a chance de colisão nas paredes das vias aéreas, sobretudo nas bifurcações. As partículas maiores (MMAD  $> 10 \mu\text{m}$ ) se impactam ao nível da orofaringe, enquanto as menores penetram mais profundamente na árvore brônquica. A impactação representa o principal obstáculo para alcançar os bronquíolos e as áreas mais profundas.

A velocidade de inspiração dos pacientes tem um efeito sobre a impactação das partículas do aerossol ao nível da cavidade oral. Anderson et al. (1990), mostraram que o aumento do fluxo de inspiração provoca um aumento na deposição de partículas de MMAD  $> 3 \mu\text{m}$  ao nível da orofaringe. A deposição ao nível da cavidade oral aumenta de 20 a 38% se o fluxo de inspiração aumenta 0,4-1,2 l/s.

### 2.2.2 Sedimentação

Corresponde ao depósito de partículas sob a ação de forças gravitacionais que provocam nas partículas um movimento descendente em direção à parede brônquica. Ela é especialmente interessante para as partículas com MMAD entre 1 e 5  $\mu\text{m}$ . Este é o mecanismo de deposição mais importante e predominante ao nível dos brônquios e bronquíolos. É independente do movimento das partículas, mas é influenciado pela sua massa (CARVALHO et al., 2011).

Neste processo, o tempo de permanência das partículas deve ser longo o suficiente para permitir sua sedimentação completa. O tempo de permanência de partículas nas vias aéreas superiores é muito curto devido à alta velocidade das partículas. A baixa velocidade de partículas nas

vias aéreas inferiores e na região alveolar provoca um tempo de permanência prolongado o que facilita absorção. Existem dois fatores que podem aumentar o tempo de permanência das partículas nas vias aéreas. O primeiro fator é o aumento do volume de ar pulmonar durante a inalação. O segundo, é o aumento do tempo de permanência do ar dentro dos pulmões (CARVALHO et al., 2011).

### 2.2.3 Difusão

O mecanismo de difusão está relacionado com o movimento browniano das partículas de  $MMAD \leq 0,5 \mu\text{m}$ . O fenômeno é traduzido pelo movimento incessante de partículas microscópicas suspensas em um gás ou um líquido, devido à agitação térmica das moléculas. Esse mecanismo de deposição é observado apenas na área alveolar e brônquio-alveolar. Cerca de 80% dessas partículas permanecem suspensas e são eliminados durante a expiração, neste caso a quantidade de fármaco transportado por estas partículas é desprezível (CARVALHO et al., 2011).

Difusão browniana é o mecanismo primário de deposição para partículas menores que  $3,0 \mu\text{m}$  de diâmetro. Neste tamanho, a deposição parece ser muito influenciada pelo fluxo inspiratório (inferior a  $60\text{l/min}$ ) e pelo volume corrente (inferior a 1 litro). Quando menores que  $1,0 \mu\text{m}$ , as partículas permanecem suspensas no ar, com baixa deposição, sendo facilmente exteriorizadas pelo fluxo expiratório, conforme ilustrado na Figura 7 (CARVALHO et al., 2011).

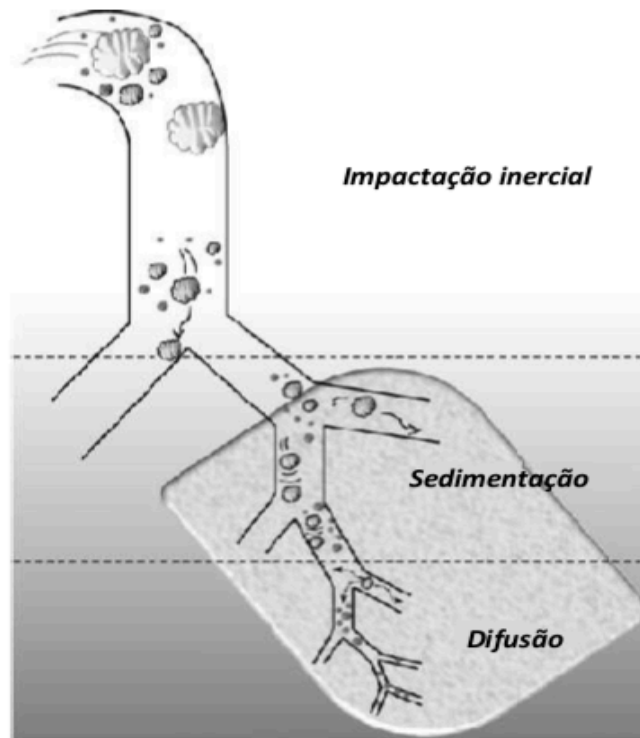


Figura 7 - Mecanismos de deposição de partículas no sistema respiratório.

Fonte: Adaptação de CARVALHO et al, 2011.

No processo inalatório as gotículas maiores  $10,0 \mu\text{m}$  são retidas no nariz ou na orofaringe. Aquelas situadas entre  $5,0$  e  $10,0 \mu\text{m}$  atingem, no máximo, as gerações proximais do trato respiratório inferior, cabendo as gotículas de  $1,0$  a  $5,0 \mu\text{m}$  alcançarem os brônquios e bronquíolos que constituem o trato respiratório inferior.

### 3. NEBULIZADORES

Neste capítulo serão apresentadas as técnicas inalatórias utilizadas na administração de fármacos no tratamento das doenças respiratórias e se discutirá a relação entre o processo de inalação e os nebulizadores, assim como as vantagens e desvantagens do uso destes equipamentos.

#### 3.1 INALAÇÃO

A inalação é um procedimento pelo qual se administram fármacos para o sistema respiratório. Também chamado de nebulização, caracteriza-se pela transformação de um medicamento líquido ou em pó em um medicamento inalável, realizado por meio de inalador ou de nebulizador, que faz com que as moléculas da fase líquida (fármaco agregado ao excipiente aquoso), transformem em gotículas suspensas no ar, fazendo desse modo chegar aos pulmões do paciente (WILLEKE, 1993).

O tratamento de infecções respiratórias com vapor inalado iniciou-se em 1828, quando Schneider e Waltz desenvolveram um atomizador para pulverizadores de água, que também foi usado como um inalador (ALMEIDA et al, 2001).

O primeiro inalador portátil foi criado em 1856 por Sales-Giron (CAMPS, 1929). Ele consistia de um atomizador de líquido manual que permitia ao paciente a administração de infusões balsâmicas por inalação em casa. A descoberta da adrenalina em 1901 por Takamine e Aldrich, e sua administração inalada pela primeira vez em 1929, iniciou a busca e administração de novos fármacos inalados, levando a uma melhoria nos aparelhos inalatórios (RAU, 2005). Os dispositivos utilizados atualmente para a administração de fármacos inalados podem ser divididos em três tipos: nebulizadores, inaladores dosimétricos e inaladores de pó seco.

### 3.2 INALAÇÃO E NEBULIZADORES

A terapêutica inalatória constitui o pilar do tratamento não só dos pacientes asmáticos, mas também dos recém-nascidos sibilantes, idosos e no tratamento de diversas doenças respiratórias. O uso de nebulizadores possibilita a administração eficiente dos fármacos que atuam diretamente no pulmão ocasionando uma maior absorção, desencadeando a melhorado tempo de resposta ao tratamento (HARDY; NEWMAN& KNOCH, 1993; AMIRAV& NEW HOOSE, 2012). Os nebulizadores convencionais podem ser divididos em duas categorias, nebulizadores de ar comprimido ou pneumáticos, e nebulizadores ultrassônicos.

Nos nebulizadores pneumáticos (Figura 8), as gotículas são geradas através da ação de um jato de gás de alta pressão liberado através de um depósito contendo uma solução constituída de água e um determinado fármaco, formando gotículas de água lançadas contra um anteparo que filtra aquelas com diâmetros maiores que 5,0  $\mu\text{m}$ .

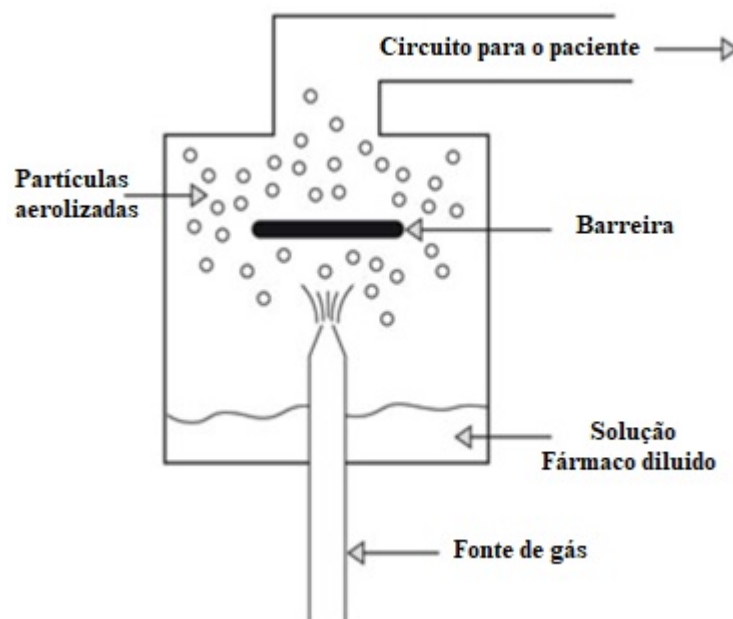


Figura 8 - Ilustração do nebulizador convencional pneumático

Fonte: Adaptado de MUCHÃO, 2008.

Nesse tipo de dispositivo, o fluxo de gás, ao passar através de um pequeno orifício (Venturi), se expande, havendo queda brusca de sua pressão e grande aumento da velocidade. Por efeito

Bernoulli, o líquido do reservatório, ou dos tubos capilares, é sugado e são gerados aerossóis. Menos de 1% desses aerossóis tem diâmetro inicial inferior a  $5\ \mu\text{m}$  e é inalado diretamente pelo paciente. As partículas com grande diâmetro impactam no anteparo ou nas paredes internas do nebulizador sendo reenviadas ao reservatório e renebulizadas, mantendo produção contínua de aerossol (PEREIRA, 1993).

Nos nebulizadores ultrassônicos (Figura 9), as gotículas são geradas pela ação ultrassônica onde uma corrente elétrica ativa um transdutor, produzindo oscilações mecânicas de alta frequência que é transmitida para um depósito contendo uma solução agregada a um fármaco, a energia gerada pela vibração do cristal piezoelétrico é transmitida à superfície da solução gerando gotículas de diâmetros compreendidos entre  $0,5$  a  $8,0\ \mu\text{m}$  (LOFFERT; IKLE & NELSON, 1994). Os nebulizadores ultrassônicos geram aerossóis com maior diâmetro, causam maior deposição de droga na orofaringe e tosse, tem um maior débito de nebulização e custo mais elevado do que os nebulizadores pneumáticos.

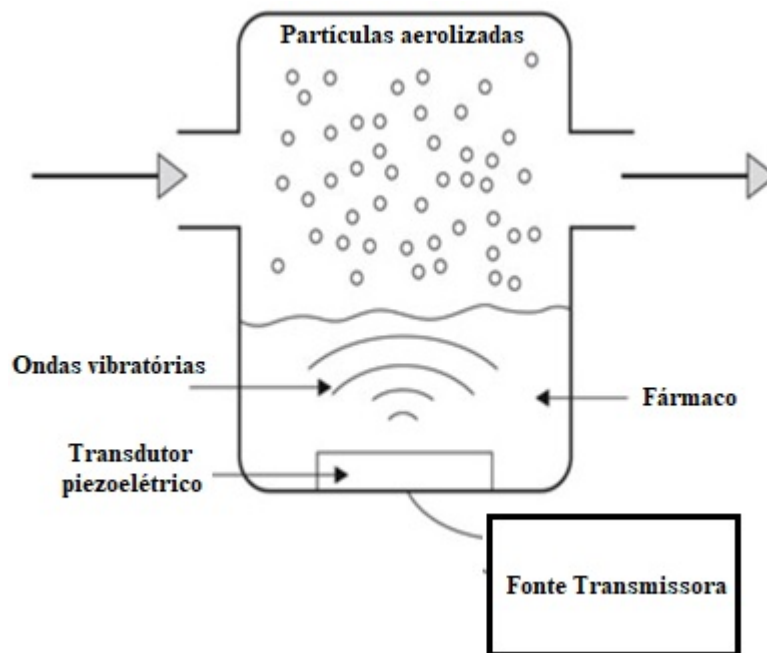


Figura 9 - Ilustração do dispositivo nebulizador convencional ultrassônico

Fonte: Adaptado de MUCHÃO et al, 2008.

Os nebulizadores podem administrar altas doses de medicação em pacientes que não são capazes cooperar operacionalmente com o procedimento terapêutico tradicional, por exemplo, as

crianças, além da possibilidade de administrar várias substâncias numa mesma solução (LOFFERT; IKLE, 1994). O fluxo inspiratório mínimo necessário para o aerossol produzido por um nebulizador atingir os pulmões é de 6,0 a 8,0 l/min (SOUZA, 1998), no entanto, há uma elevada quantidade de medicamento que é perdido ou retido no espaço morto do nebulizador, ou é perdido durante a expiração. Estima-se que só 10% da dose que é inicialmente colocada no nebulizador serão eficazmente depositados nos pulmões (TENA, 2012). Se o paciente respira fundo e prende a respiração, a quantidade de medicamento retido nos pulmões pode aumentar de 10 para 17% (ALMEIDA et al, 2001; ALVINE et al, 1992). Segundo COATES (2006) & PATTON, (2007), a maneira mais prática para modificar o padrão de deposição é reduzir o tamanho das gotículas geradas no processo de nebulização situando-as na faixa de 0,5 e 5,5  $\mu\text{m}$ .

### 3.3 NOVOS NEBULIZADORES

No intuito de aumentar o grau de deposição pulmonar de fármacos, os nebulizadores foram aperfeiçoados, originando dispositivos com desempenho melhorado pela respiração: os nebulizadores ativados pela respiração. Os nebulizadores com desempenho melhorado pela respiração têm uma válvula inspiratória que permite ao paciente inspirar ar adicional durante a inalação, além de reciclar a medicação no reservatório quando não se está inalando (LEUNG et al, 2008). Eles são bem mais eficientes que os antigos, que não possuem esse sistema de reciclagem (nebulização contínua), no qual mais de 70% da droga é perdida no ambiente durante as expirações. A única desvantagem desses dispositivos consiste no tempo aumentado de nebulização.

Nebulizadores mais modernos estão sendo desenvolvidos. Dentre eles, podemos citar o Omron NE-U22V MicroAir<sup>®</sup> (Omron, EUA), o Aerogen's OnQ<sup>®</sup> aerosol generator (Nektar Therapeutics/Novartis, EUA) e o Pari's eFlow TouchSpray<sup>®</sup> technologies (Pari, Alemanha), que utilizam o mecanismo de rede vibratória com um elemento piezelétrico associado (operando em frequências menores que nos nebulizadores ultrassônicos convencionais). Esse mecanismo vibra em uma abertura de uma placa ou em uma rede, agindo como uma bomba eletrônica. Eles são silenciosos, portáteis, não necessitam de fonte de ar comprimido e funcionam com bateria ou corrente elétrica alternada, com a desvantagem de ter um custo mais elevado.

Na Figura10, é apresentado o esquema de nebulizador com o desempenho melhorado pela inspiração.





Figura 10 - Esquema do nebulizador que utiliza rede vibratória.

Fonte: Pari LC Star, Pari Respiratory, equipamento, Canadá

Há também os nebulizadores ativados pela respiração, como o *AeroEclipse*<sup>®</sup> (*Trudell Medical International, Canadá*), que disparam a nebulização apenas quando o paciente inala, reduzindo o desperdício e a contaminação da droga durante a inalação. Existem nebulizadores que, além de monitorar continuamente o padrão respiratório do paciente, realizam mudanças de acordo com o padrão averiguado em uma média das três últimas respirações e liberam o aerossol durante 50 a 80% das porções iniciais da inspiração. Esses equipamentos utilizam sistemas adaptativos de oferta de aerossol, como exemplo: o *HaloLite*<sup>®</sup> e o *Pro-Dose*<sup>®</sup> (*Respironics/Philips, EUA*), (DHAND, 2002).

### 3.4. VANTAGENS E DESVANTAGENS

Durante anos, os nebulizadores convencionais foram os únicos dispositivos inalatórios disponíveis. Os primeiros utilizavam como atomizadores bulbos manuais semelhantes aos usados em frascos de perfumes. Porém, com estes equipamentos apenas micro gotas grosseiramente grandes eram produzidas, tornando-os extremamente ineficientes. Atualmente, os nebulizadores classificam-se como ultrassônicos, nebulizadores de jato e ainda outros mais modernos como os ativados pela respiração, os de rede vibratória e os de desempenho melhorado pela respiração. Em

alguns casos, circuitos computadorizados são usados para regular o tamanho das micro gotas e o início da oferta de aerossol de maneira coordenada com a respiração.

Nebulizadores ultrassônicos geram o aerossol através da rápida vibração de um cristal piezelétrico. Embora grandes volumes de medicação possam ser nebulizados por estes dispositivos, este processo tende a gerar micro gotas de tamanho elevado demais para uma eficiente inalação, além disso, o calor gerado pelo cristal pode desnaturar muitas medicações, particularmente proteínas. De uma forma geral, eles são pouco eficientes para a oferta de medicações aerossolizadas não sendo os mais recomendados para o uso na terapêutica inalatória (NEWMAN, 1987).

Nos nebulizadores de jato, o aerossol é gerado através do princípio de Bernoulli. Esse mecanismo não é simples, o fluxo de ar ou oxigênio ao passar através de um pequeno orifício, se expande, havendo queda brusca de sua pressão e grande aumento de sua velocidade. Pelo efeito Bernoulli, o líquido do reservatório de inalação é sugado e são gerados aerossóis. Os maiores são retidos em anteparos, e se juntam ao restante do líquido do reservatório, para serem re-nebulizados, e os menores são inalados. Aparelhos tradicionais injetam gás comprimido na parte inferior do reservatório enquanto que os mais modernos possuem uma abertura adicional no topo do reservatório. O gás comprimido necessário para o funcionamento destes equipamentos pode ser oriundo de cilindros pressurizados ou obtido através da utilização de compressores elétricos (LEUNG et al, 2004).

A Tabela 1 descreve as vantagens e desvantagens destes dois tipos de nebulizadores.

Tabela 1. Descrição das vantagens e desvantagens dos nebulizadores convencionais pneumáticos e ultrassônicos.

<b>Nebulizadores</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Pneumáticos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil de usar.</li> <li>• Distribuição de medicamento durante a inalação.</li> <li>• Menor desperdício do fármaco.</li> <li>• Custo de aquisição acessível.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Necessita de fluxo suficiente para desencadear a entrega do fármaco.</li> <li>• Leva mais tempo para entregar o fármaco.</li> <li>• Difícil de limpar.</li> <li>• Precisa de ar comprimido e tubulação adicional.</li> </ul>
<b>Ultrassônicos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil de usar.</li> <li>• Rápido, silencioso, portátil.</li> <li>• Fonte de energia independente.</li> <li>• Otimiza o tamanho das partículas para fármacos específicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incapacidade de aerossolizar soluções viscosas.</li> <li>• Degradação de fármacos sensíveis ao calor.</li> <li>• Custo de aquisição mais elevado.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de ARI et al, 2009

### 3.4.1. Vantagens

Os nebulizadores apresentam características peculiares que reforçam as vantagens do seu uso, tais como: facilidade de administração, uso do equipamento em qualquer idade do paciente, inalação em volume corrente, alto débito de nebulização e possibilidade de aplicar associações simultâneas de fármacos (O'CALLAGHAN& BARRY, 2000; MATTHYS, 1991).

### 3.4.2. Desvantagens

Os nebulizadores apresentam também desvantagens em relação a outros tipos de tratamento, como: custo inicial elevado, a maioria necessita de fonte de energia convencional, dificuldade de transporte, exige desinfecção cuidadosa e periódica, e não são aceitos por algumas crianças (O'CONNOR, 2001).

Apesar das desvantagens citadas, o tratamento de doenças respiratórias usando nebulizadores, representa uma alternativa bastante viável para a entrega de fármacos no trato respiratório de forma localizada e efetiva. Na tabela 2 apresenta um resumo das características positivas e negativas destes dispositivos.

Tabela 2. Resumo das vantagens e desvantagens dos nebulizadores

VANTAGENS	DESVANTAGENS
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Capacidade de aerossolizar muitas soluções e fármacos.</li> <li>2. Tolera mistura de medicamentos compatíveis entre si.</li> <li>3. É necessária cooperação/coordenação mínima do paciente</li> <li>4. Útil em pacientes muito jovens, muito idosos, debilitados ou angustiados.</li> <li>5. Concentrações de fármacos e dose podem ser modificadas.</li> <li>6. Variabilidade nas características de desempenho entre diferentes tipos marcas e modelos.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. O tempo de terapia pode variar de 5 a 25 minutos.</li> <li>2. O equipamento necessário pode ser grande e pesado.</li> <li>3. Necessita de fonte de energia (eletricidade, bateria ou gás comprimido)</li> <li>4. Potencialidade para entrega inadvertida de medicamento nos olhos.</li> <li>5. Potencial de exposição de medicamento aos profissionais /cuidadores.</li> <li>6. Montagem e limpeza são necessárias</li> </ol>

Fonte: adaptado de GARDENHIRE et al, 2017.

Assim, a terapia com aerossol usando nebulizadores é um método bem estabelecido para o tratamento de pacientes acometidos de doenças pulmonares. Avanços recentes no desenvolvimento de nebulizadores tornaram a administração de fármacos mais precisa, menos dispendiosa e muito mais acessível. Além disso, os nebulizadores mais modernos possuem uma série de melhorias, tais como: design compacto, portabilidade, operação silenciosa, além de propiciar uma menor duração do tratamento, melhorando assim a adesão do paciente à terapia inalatória.

## 4. TÉCNICAS DE REFERÊNCIAS NA CARACTERIZAÇÃO DAS GOTÍCULAS

Neste capítulo, serão apresentadas técnicas referenciais de medida das gotículas aerodispersas existentes na literatura.

### 4.1 DIFRAÇÃO A LASER

Nos instrumentos baseados na técnica de Difração a Laser ou *Laser Diffraction* (LD), conforme mostra a Figura 11, as partículas presentes na célula irão absorver ou dispersar a luz incidente de acordo com o seu tamanho, forma e índice de refração. A luz dispersada é subsequentemente colimada pelas lentes de um transformador Fourier, e focada sobre um detector no eixo central posicionado a uma distância da lente equivalente à distância focal. A luz não difratada é focalizada no detector central. Desse modo um padrão de difração de todas as partículas contribuintes é registrado como uma função do ângulo de dispersão (KIPPAX, 2005).

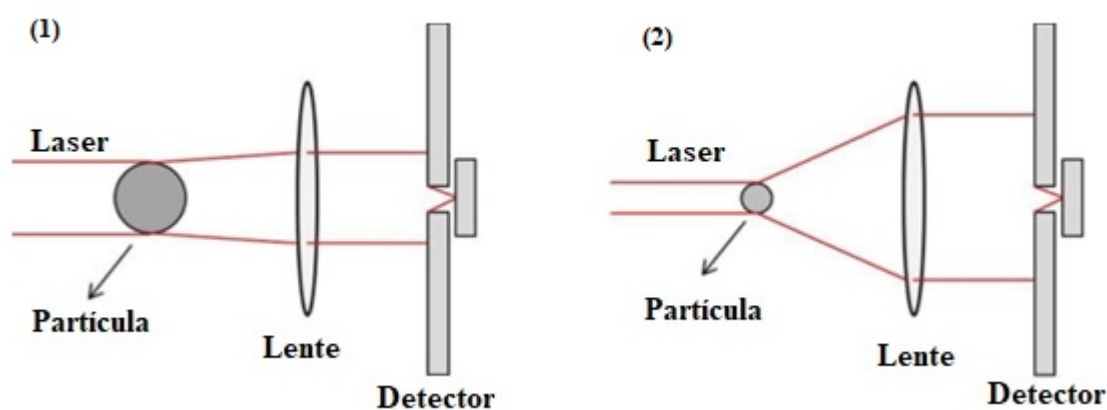


Figura 11. (1) Difração de um feixe de luz na superfície de uma partícula grande. (2) Difração de um feixe de luz na superfície de uma partícula pequena.

Fonte adaptado de CUNHA, 2007

A baseado no princípio da difração da luz a técnica Difração a Laser trabalha com o desvio que o feixe luminoso apresenta ao interagir com a população de partículas aero dispersas. Quanto menor o tamanho da partícula, maior o ângulo de difração do um feixe luminoso que atravessa

uma população de partículas (MITCHELL, 2004). No entanto a difração a laser tem sido questionada devido a potenciais perdas por evaporação das pequenas partículas na extremidade da coluna de água, provocando uma mudança aparente na distribuição do tamanho da partícula e consequentemente um diâmetro médio de massa maior (MMD) (KWONG& COATES, 2000).

O esquema da técnica Difração a Laser para obtenção do tamanho das gotículas aero dispersas é apresentado na Figura 12.

A configuração básica de um difratômetro a laser consiste de uma fonte de luz para iluminar a amostra, elementos óticos para processar e alargar o feixe incidente de luz e uma simples cuba para receber a amostra. Tipicamente, a fonte de luz empregada consiste de um laser de baixa potência (fonte de Hélio-Neon com aproximadamente 10 mW e comprimento de onda de 632,8 nm, combinado com uma fonte de luz azul (JILLAVENKATESA *et al.*, 2001). Porém, é importante citar que, na prática, a faixa de comprimento de onda das fontes de luz presentes nos equipamentos varia de 632 a 800 nm (KECK e MÜLLER, 2008).



Figura 12 - Ilustração do procedimento do uso de difração por laser.

Fonte: Adaptado de MCCAVE, 1991.

Na prática, a determinação dos tamanhos de partículas está limitada pelo desenvolvimento de hardware e algoritmos de processamento de sinal adequados. Na técnica de difração de laser, as distribuições de tamanhos de partículas são calculadas com dados que caracterizam o padrão de espalhamento de uma amostra com auxílio de correlações matemáticas fundamentadas em teorias

clássicas da Física. Tradicionalmente, são usados a Teoria de Mie e a aproximação de Fraunhofer (OLIVEIRA, 2010).

## 4.2 ESPECTROSCOPIA POR INDUÇÃO A LASER

Uma segunda técnica conhecida é a espectroscopia por indução à laser ou *Laser Induced Breakdown Spectroscopy* (LIBS). A técnica consiste num feixe de luz proveniente de um laser pulsado focalizado diretamente na amostra para gerar um micro plasma de alta temperatura. A luz emitida por este plasma carrega a contribuição dos elementos atômicos presentes na amostra. Um espectrômetro é utilizado para a captura do espectro emitido pelo plasma proveniente da amostra em estudo e, através desta análise espectral, pode-se identificar os elementos constituintes da amostra e determinar suas características relativas ou absolutas.

O sistema de excitação da amostra é baseado em um laser pulsado que é focalizado em uma pequena área da superfície da amostra, gerando uma irradiância (potência por área) muito grande. Usualmente, cada pulso de laser gera um único espectro de emissão, ou seja, uma única medida LIBS. Essa energia é suficiente para aquecer a amostra de forma a vaporizar uma pequena quantidade das espécies que a constitui (cerca de alguns nano gramas a alguns microgramas) e ainda ionizar a matéria próxima ao ponto de incidência, produzindo um plasma com elevada temperatura. A elevada temperatura desencadeia os processos de atomização, excitação e a posterior emissão das espécies (átomos, íons, moléculas) presentes na amostra (MISIOLEK, 2006). A Figura 13 mostra um diagrama esquemático de um sistema LIBS simples.

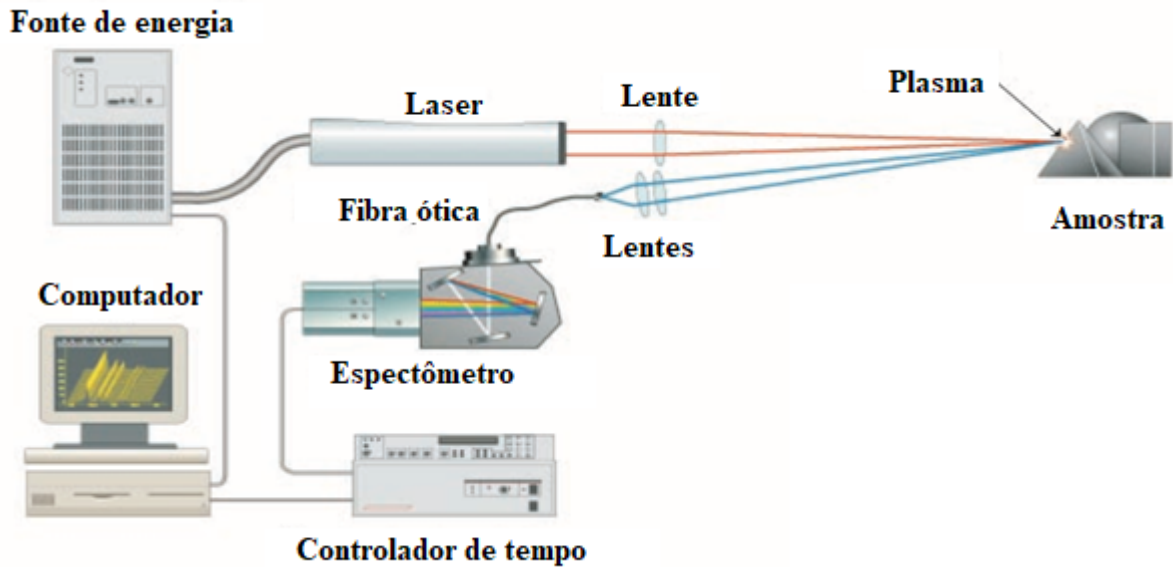


Figura 13 - Esquema de um espectrômetro LIBS.

Fonte: Figura adaptada de [www.appliedphotonics.co.uk](http://www.appliedphotonics.co.uk)

A LIBS usa um micro plasma induzido por laser para vaporizar e dissociar todas as moléculas e partículas finas dentro do volume da amostra. Átomos dentro do plasma são excitados dentro do plasma energético, resultando em emissão atômica. A técnica de espectroscopia de plasma induzida por laser data da década de 1960 e tem sido aplicada à análise de sólidos, líquidos e gases.

A configuração LIBS emprega um laser pulsado com um comprimento de onda fundamental de 1064 nm que é duplicado em frequência para 532 nm e usado como o comprimento de onda de excitação. A energia do pulso do laser é de 25 mJ, a largura do pulso de laser é de 3 a 5 ns e a taxa de repetição varia de 1 a 15 Hz. Um dispositivo de ionização por eletro spray é empregado para gerar fluxo de gotículas aero dispersas onde o laser é guiado e focado na superfície do alvo por uma lente de quartzo plano-convexa e uma lente de focagem para formar um plasma de alta temperatura para vaporização e atomização do material que constitui o alvo (gotículas ou partículas aero dispersas). Um cabo de fibra ótica de sílica fundida é montado fazendo um ângulo de aproximadamente 45° em relação a superfície do alvo. A luz liberada do plasma contendo o espectro de emissão é entregue pelo cabo de fibra ótica a um espectrômetro que é conectado a um detector acoplado. Uma câmera ICCD registra as linhas de emissão e permite que identificação dos elementos através de suas assinaturas espectrais únicas. O espectrômetro abrange uma faixa



de comprimento de onda de 200 ~ 600 nm, incluindo as linhas espectrais de quase todos os elementos. Significa que a LIBS é capaz de detectar todos os elementos químicos porque todos os elementos emitem luz em algum lugar nessa faixa espectral. A resolução de comprimento de onda é de 0,012 nm. A abertura do obturador da câmera é controlada por um gerador de atraso, sendo todo o sistema LIBS controlado por computador usando um programa computacional específico (STURM, 2003).

A base da LIBS para a análise de partículas dispersas de aerossol foi desenvolvida nos trabalhos de HAHN (2000) e MARTIN (1999), incluindo a análise baseada em LIBS de diferentes tipos de partícula de aerossol sob uma faixa de condições experimentais bem controladas.

#### 4.3 CASCATA POR IMPACTO

A técnica baseada no comportamento inercial, também conhecido como *Cascade Impactor* (CI), representa também uma das formas de se medir o diâmetro das gotículas em suspensão aerodinâmica. Esse método baseia-se na inércia das partículas e é usado para caracterizar aerossóis através de um dispositivo onde as partículas são separadas por impacto em vários níveis. A corrente de ar que arrasta as partículas é acelerada através de um bocal indo de encontro a um prato plano. As linhas de corrente do gás mudam bruscamente de direção, o que não acontece com algumas partículas, sobretudo as maiores, que, devido à sua elevada inércia, precipitam no prato. A passagem das partículas através de sucessivos andares origina a sua deposição em frações com diâmetros sucessivamente menores. Em cada andar obtém-se frações mássicas de partículas com a mesma inércia, ou seja, o mesmo diâmetro aerodinâmico, as quais, após manipulação matemática geram a distribuição de tamanhos da amostra inicial (O'CALLAGHAN & BARRY, 2000). A Figura 14 ilustra o funcionamento da técnica.

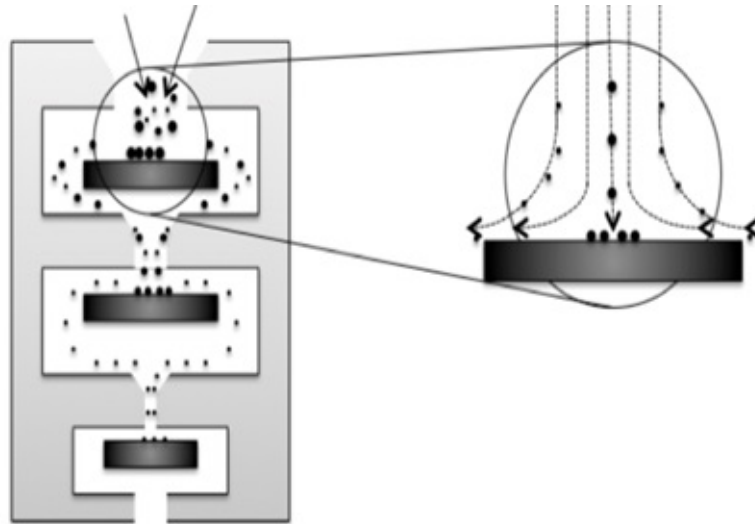


Figura 14 - Diagrama esquemático do funcionamento de um separador de partículas por impacto (Cascade Impactor)  
 Fonte: Adaptado ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, 2012.

Uma das vantagens de se medir o tamanho das gotículas pelo método citado CI, é que ele consegue separar as frações da amostra em questão em partículas pequenas, chamadas de Fração de Partículas Finas (FPF) além de outras frações. Apesar de ser um método demorado, mantém a sua posição como a técnica padrão recomendado pelos órgãos reguladores para a validação dos novos produtos de inalação. No entanto, existem desvantagens como, por exemplo: (a) é um método que relativamente consome muito tempo e trabalho e (b) pode haver passagem de partículas de um anteparo para o outro por salto sem ter havido seleção, além disso, algumas gotículas podem ficar retidas nos anteparos e não serem contabilizadas, fazendo com que a classificação seja baseada em apenas um pequeno número de classes de tamanho (DE BOER, 2002).

#### 4.4 PDA (PHASE DOPPLER PARTICLE SIZE ANALYSIS)

Um dos parâmetros mais importantes para se avaliar o comportamento dinâmico dos nebulizadores é a distribuição de tamanho de partículas aerodispersas (micro gotas), pois o dimensionamento preciso das partículas tem impacto direto na eficácia e qualidade do produto, ajudando a reduzir as perdas de energia e do fármaco no processo de nebulização. Soluções aquosas salinas para inalação de fármacos podem ser direcionadas para uma parte específica do trato respiratório. Gotículas com menores que 3  $\mu\text{m}$  de diâmetro são expelidas durante a expiração, enquanto maiores

que 10  $\mu\text{m}$  ficam presas no trato respiratório superior. Portanto o dimensionamento preciso das gotículas direcionadas aos alvéolos pulmonares significa uma grande redução na dosagem do fármaco anexado, levando a uma diminuição do tempo de resposta terapêutica. (BLACK et al, 1996).

As teorias que sustentam os métodos baseados na luz dispersa são: a teoria de Lorenz-Mie (1908, muitas vezes chamada de Mie), a teoria generalizada de Lorenz-Mie (GLMT), a teoria da difração de Fraunhofer e a óptica geométrica. Em 1964, foi inventada a técnica de anemometria por laser Doppler. O mais popular instrumento de contagem de partículas deste tipo é o Analisador de Partículas Doppler de Fase (PDPA). O princípio de operação é mostrado na Figura 16. Um feixe de laser é dividido em dois feixes do mesmo comprimento de onda, que são focalizados com lente e interferem na região central do feixe. Quando uma gota cruza o volume da amostra, ela envia luz difusa, que é coletada nos detectores. O padrão de franja de interferência refletido e refratado pela gotícula transmite a informação da frequência das franjas, que é uma função dos parâmetros ópticos do sistema (o índice de refração e o diâmetro  $D$  da partícula). A diferença de fase entre os sinais nos detectores é medida como o intervalo de tempo  $\Delta T$ ; o período Doppler do sinal é medido como  $T$ ; então o deslocamento de fase  $\phi$  é igual:

$$\phi = \frac{2\pi\Delta T}{T} \quad (1)$$

O deslocamento de fase  $\phi$  entre os detectores é uma função linear do diâmetro da gota  $D$ :

$$D = \frac{\lambda}{2\pi F} \phi \quad (2)$$

onde:  $D$  - o diâmetro da gota,  $\lambda$  - o comprimento de onda do laser e  $F$  - uma função da configuração óptica (as funções seno e cosseno dos ângulos  $\theta$ ,  $\psi$  e  $\phi$ ) e o índice de refração relativo entre a micro gota e o meio.

Vários detectores posicionados em diferentes ângulos de espalhamento são utilizados para amostrar porções espaciais ligeiramente diferentes do sinal da luz dispersa por partícula. Um sistema de dois detectores de deslocamento de fase transmite informações sobre o diâmetro das

partículas, índice de refração e características da forma geométrica. O PDA (ver Figura 15) tem um intervalo de tamanho dinâmico amplo, de 0,3 a 8,0  $\mu\text{m}$ , com precisão de 5%.

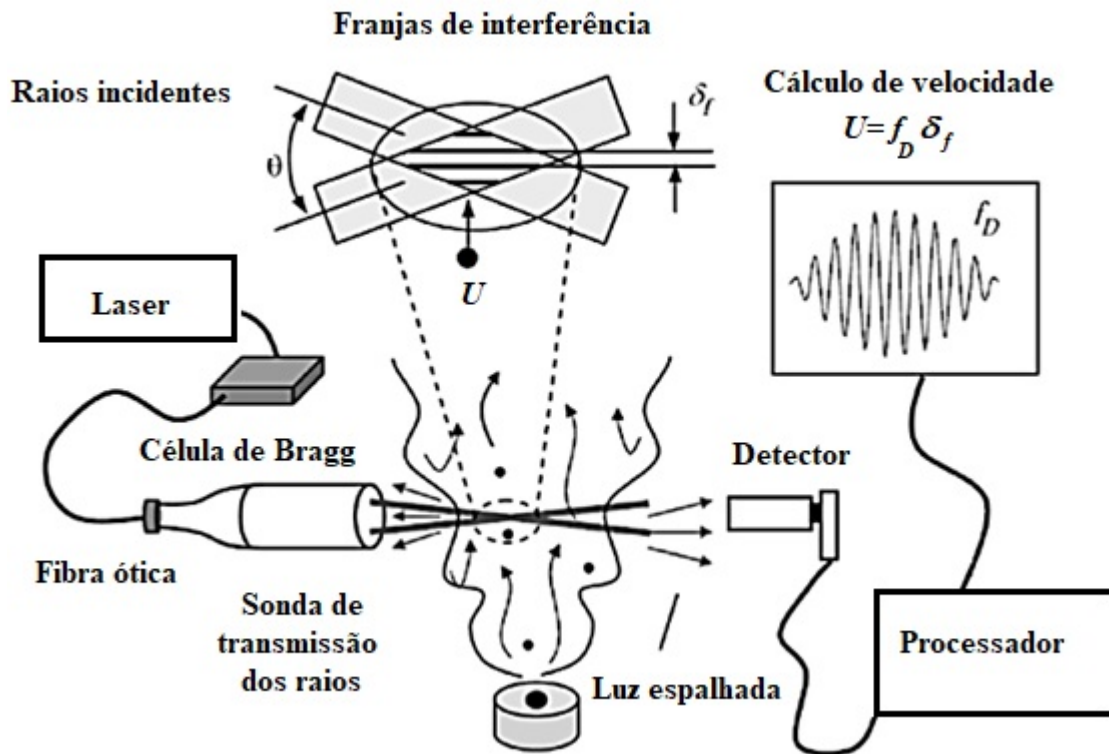


Figura 15 - Ilustração sobre o método de funcionamento da PDA.

Fonte: Adaptado DURST, 1981

A introdução de técnicas baseadas em laser permitiu a medição precisa do tamanho e da velocidade das gotas, mesmo em ambientes de difícil acesso. No entanto, os instrumentos baseados em laser foram originalmente projetados para dimensionamento de partículas sólidas e posteriormente foram adaptados para a medição de gotículas aerodispersas.

O grande progresso na precisão das medidas foi feito durante os últimos dez anos, principalmente devido a considerável evolução dos procedimentos computacionais relacionados ao processamento os dados coletados pelos sistemas.

## 4.5 ANÁLISE POR IMAGEM

### 4.5.1 Microscopia

É uma técnica de medida direta, utilizada frequentemente como método para realização de medidas relativas de tamanho, mas também utilizada para conhecimento morfológico das partículas, fornecendo uma quantidade maior de informação do que outras técnicas convencionais (KING, 1984).

A análise microscópica necessita de mais tempo do que outras técnicas, exigindo cuidadosa preparação a amostras. Este processo inclui as etapas: formação da imagem, aquisição e digitalização das mesmas, pré-processamento, segmentação, pós-processamento, realização das medidas (forma, tamanho, contagem ou outro parâmetro selecionado), análise e apresentação dos dados.

A determinação do sistema mais adequado depende principalmente da faixa de tamanho de interesse: Microscopia eletrônica de transmissão e Microscopia de força atômica são utilizados para medidas da ordem de nanômetros até dezenas de micra. Microscopia eletrônica é utilizada para medidas efetivas de partículas sub microscópicas até centenas de micra. Microscopia ótica é mais indicada para medidas na faixa de micro até milímetro. A Microscopia Eletrônica de Varredura conta ainda com o recurso de poder analisar a composição elementar de cada partícula, o que é importante em um grande número de aplicações (KNÖSHE, 1997).

A Figura 16 mostra um desenho esquemático com as principais partes óticas do microscópio de luz e do microscópio eletrônico. Esses tipos de microscopia possuem os seguintes elementos em comum: iluminação (uma lâmpada ou um canhão de elétrons); lente condensadora, que direciona o feixe; a amostra, que é o objeto de análise colocado na posição correta em relação ao feixe; lente objetiva; lente projetora; observação e registros de imagens.

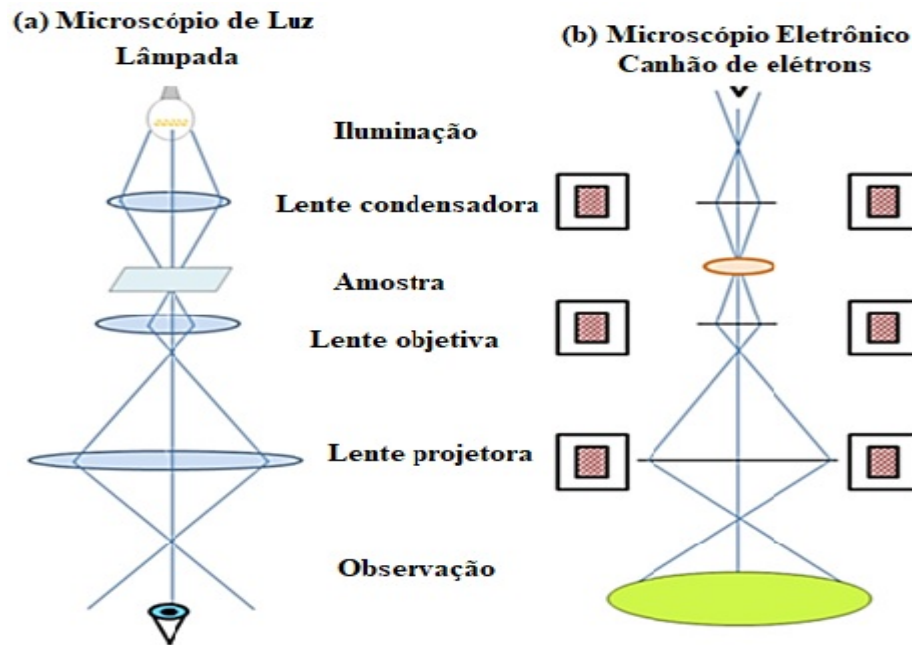


Figura 16 - Esquema mostrando as principais partes óticas do microscópio de luz e do microscópio eletrônico, em modo de transmissão.

Fonte: Adaptado KESTENBACH, 1994.

Assim, a imagem digital por microscopia é obtida usando um algoritmo que faz uma análise automatizada para os estudos de escoamentos bifásicos. Essas imagens geradas determinam algumas propriedades associadas às gotículas ou partículas, como por exemplo, concentração, velocidade, tamanho, ou forma de uma região de interesse do fluxo (KASHDAN, SHIRIP-TON & WHYBREW, 2007).

#### 4.5.2. Velocimetria por imagem de partícula (PIV)

Conhecida pela sigla PIV, do inglês *Particle Image Velocimetry*. Esta técnica é baseada no processamento digital de imagens de partículas previamente distribuídas no fluido e iluminadas por plano de luz de laser pulsado. A técnica PIV vem experimentando um desenvolvimento acentuado nos últimos anos, acompanhando o desenvolvimento das tecnologias de câmeras digitais, de fontes de luz lasers pulsadas, e da capacidade de processamento dos computadores. A medição de campos instantâneos de velocidade permite a determinação de grandezas relevantes, como correlações espaciais e derivadas espaciais do campo de velocidade.

Na Figura 17, é apresentado um escoamento de fluido contendo partículas através de um duto de seção reta. Um plano de luz é formado a partir de um feixe proveniente de uma fonte laser pulsada. Um conjunto de lentes é usado na formação do plano a partir do feixe do laser. O plano de luz incide sobre uma seção do escoamento iluminando as partículas presentes na região do plano. Uma câmera fotográfica é posicionada ortogonalmente ao plano de iluminação. A captura das imagens das partículas é sincronizada com os pulsos do laser, cujo intervalo de tempo é conhecido e precisamente determinado pelo equipamento eletrônico que controla a fonte laser. Desta forma, obtém-se duas imagens consecutivas das partículas passando no plano iluminado (PRASSAD, 2000).

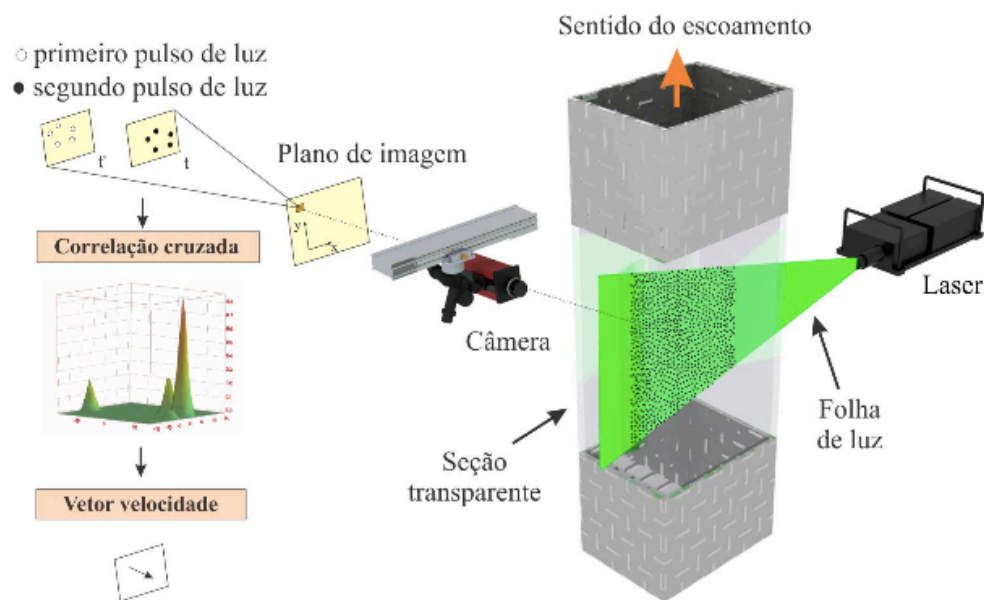


Figura 17 - Princípio de funcionamento da velocimetria por imagem de partícula (PIV)

Fonte: Adaptado AMARAL, 2013.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo é apresentado os procedimentos metodológicos que fundamentam a técnica proposta, Incidência Laminar Direta (ILD).

### 5.1 PROCESSAMENTO DE IMAGENS

#### 5.1.1 – Imagem digital

A imagem digital vem se tornando uma solução para as fotografias médicas em relação aos modelos tradicionais. A grande vantagem é a facilidade de operação dos equipamentos, o baixo preço e a pouca necessidade de luz artificial e além de tudo a facilidade de processamento das imagens e sua transmissão (TECHY, 2006). O uso atual de telefones celulares, câmeras digitais acopladas de alta definição são suficientes para o desenvolvimento de consultas e diagnósticos médicos a longa distância, remodelando a forma de atuação dos profissionais na área de saúde

Devido ao grande avanço tecnológico dos últimos tempos, verifica-se a extração de informações de imagens digitais como um auxiliar na solução de diversos problemas práticos, tais como contagem de glóbulos brancos em amostras de sangue, sensoriamento remoto via satélite, e outras. Para que seja possível a utilização de imagens digitais na solução desses problemas, elas devem ser adquiridas e digitalizadas (amostradas e quantizadas). Após a digitalização, podem ser feitas diversas transformações na imagem até conseguir o resultado desejado para solução do problema. Essas transformações podem ser agrupadas nos seguintes conjuntos: filtragem, análise, compressão e síntese de imagens.

##### *5.1.1.1 – Representação da imagem*

Uma imagem monocromática é uma função de intensidade de luz bidimensional  $f(x, y)$ , onde  $x$  e  $y$  denotam coordenadas espaciais e o valor de  $f$  no ponto  $(x, y)$  é proporcional ao



brilho (ou nível de cinza) da imagem neste ponto (Figura 18). Esta função também pode ser vista como uma superfície no espaço  $(x, y, z)$ , onde para cada ponto  $(x, y)$  plota-se na coordenada  $z$  o valor de  $f(x, y)$ .

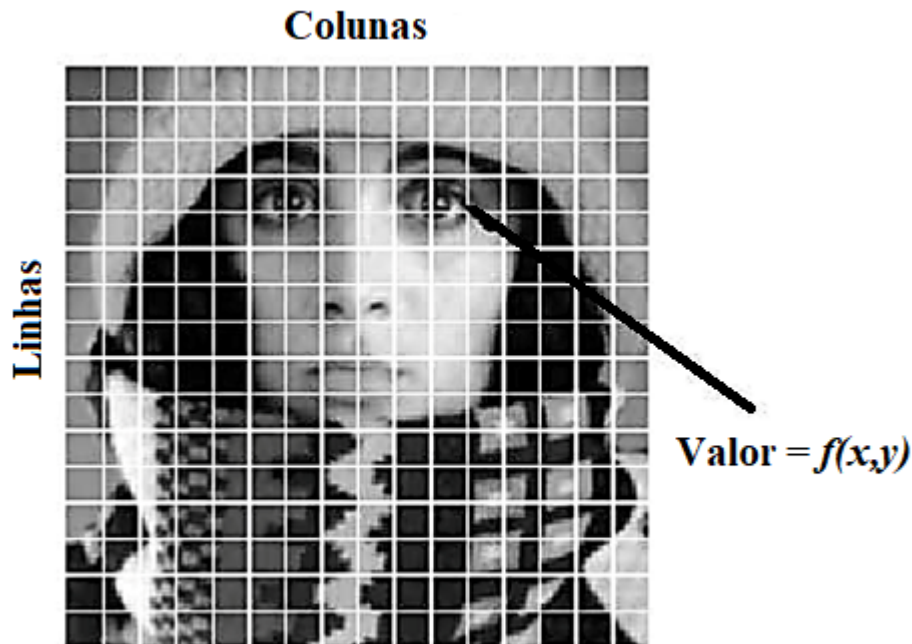


Figura 18 - Ilustração de uma representação de uma imagem de uma mulher  
Fonte: Adaptação de Gonzalez, 2002.

#### 5.1.1.2 – Amostragem e Quantização

Para gerar uma imagem digital  $f(x, y)$ , ela deve ser digitalizada ao longo de  $x$  e  $y$ , e na amplitude  $z = f(x, y)$ . Para tanto é feita uma amostragem de  $f(x, y)$  nas direções  $x$  e  $y$ , gerando uma matriz de  $N \times M$  amostradas, seguida de uma quantização do valor de  $f(x, y)$  em  $L$  níveis inteiros de cinza, que vão de 0 à 255. Nesta matriz, cada elemento  $p(x, y)$ ,  $x = 0, 1, \dots, M - 1$  e  $y = 0, 1, \dots, N - 1$ , é chamado *pixel* (*59Picture elements*). Dizemos então que a imagem tem dimensão  $M$  *pixels* na horizontal (eixo  $x$ ) e  $N$  *pixels* na vertical (eixo  $y$ ). O conceito de dimensão de um *pixel* ao longo do eixo  $x$ , ou do eixo  $y$ , está relacionado com o espaçamento físico entre as amostras. Cada *pixel* tem associado um valor  $L_{min} \leq p(x, y) \leq L_{max}$ , onde  $L = L_{max} - L_{min} + 1$ , com isso podemos assumir que  $L_{min} = 0$ .

O uso das imagens digitais no processamento de imagens envolve uma série de conceitos que incluem o estudo da estrutura do olho humano; o estudo de transformadas de imagens; técnicas de realce, como filtragem e utilização de mascaras, cujo propósito é processar a imagem de modo que o resultado seja mais apropriado para uma aplicação do que a imagem original.

### 5.2.1 – Processamento de imagens

Os elementos que compõem um sistema de processamento de imagem digital são: aquisição, armazenamento, processamento, exibição e comunicação.

As imagens podem ser adquiridas através de câmeras de vídeo, *scanners* de mesa, tomógrafos, satélites, etc. Estas imagens podem ser armazenadas em disco rígido ou em outros dispositivos de armazenamento, tais como, fitas magnéticas e discos óticos. A imagem armazenada pode ser processada para cumprir os mais variados objetivos: compressão, melhoramento, reconhecimento de padrões, etc. A imagem adquirida ou processada pode ser visualizada em diversos dispositivos de exibição: filmes fotográficos, impressora, tela de computador, etc. Estas imagens também podem ser transmitidas para outras localidades através de sistemas de comunicação.

Podemos entender uma imagem como uma forma compacta de representar muitas informações. Em um sistema de processamento de imagens estas informações podem passar por diversas formas de representação. Portanto, as etapas do processamento de imagens descrevem o fluxo destas informações como um dado objetivo definido pela aplicação (CASTLEMAN, 1996).

A Figura 19 ilustra este fluxo formal geral. Após a aquisição da imagem, a etapa a ser feita é o pré-processamento que consiste na maior parte de transformações lineares e não lineares aplicadas à imagem visando várias metas: melhoramento de contraste, remoção de ruído, regiões de interesse, e codificação das informações para transmissão da imagem, amostragem dos *pixels* em uma nova escala, treinamento e extração de características de imagem para segmentação, etc.

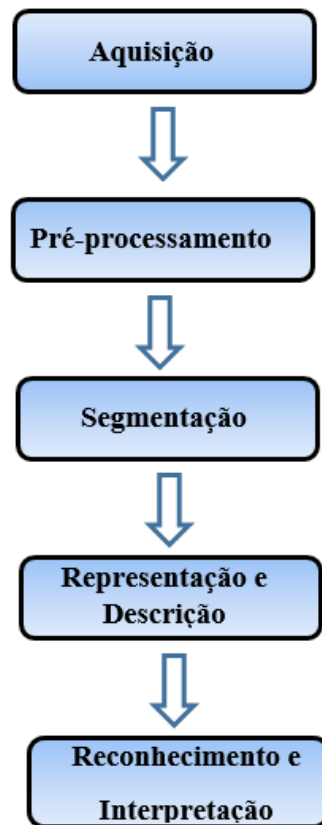


Figura 19 - Etapas do Processamento de Imagens  
Fonte: Adaptado de CASTLEMAN, 1996.

As informações de interesse podem também ser extraídas das imagens e representadas de uma outra forma. Para tanto, a segmentação de imagens particiona a imagem em regiões disjuntas com algum significado para a aplicação. Por exemplo, podemos querer separar um objeto de interesse do resto dos *pixels* da imagem particionando a em duas regiões. A segmentação será a etapa que iremos abordar. Em geral a segmentação é uma das mais difíceis tarefas em processamento de imagem. Esse passo no processamento determina o eventual sucesso ou falha de toda a análise (GONZALEZ, 2002).

#### 5.2.1.1 – Segmentação da imagem

A segmentação consiste da subdivisão de uma imagem em suas partes constituintes ou objetos, onde um objeto neste contexto refere-se a uma componente convexa. Após a segmentação, cada objeto é descrito com relação a suas propriedades geométricas e topológicas. Baseando-se

nesta descrição, o reconhecimento de cada objeto resulta em uma imagem rotulada, onde *pixels* que pertencem a objetos diferentes têm associados rótulos distintos. A interpretação semântica de um conjunto de objetos rotulados no domínio de uma aplicação finaliza o processo de análise dando lugar a uma ação. Por exemplo, um sistema pode reconhecer dígitos em uma imagem de código de barras e interpretá-los como o número de acesso a um dado produto em um supermercado. A ação neste caso pode ser a contabilização do valor do produto na compra. A segmentação é uma das principais e mais estudadas operações em processamento de imagens. Assim, a segmentação também pode ser modelada como um problema de otimização combinatória, no qual procura-se uma região ótima de acordo com algum critério de similaridade entre os elementos de uma mesma região.

Nesta tese é estudado a segmentação de imagens que desempenha um papel crucial nos sistemas automáticos visuais, isto porque a percepção das partes interessantes de uma cena é uma etapa preliminar para o reconhecimento e a interpretação da imagem.

## 5.2 MATERIAIS

A seguir são listados os materiais utilizados no desenvolvimento das atividades experimentais buscando atingir os objetivos propostos.

- Nebulizadores: Foram adquiridos 6 (seis) nebulizadores de uso doméstico comercializados no mercado brasileiro de forma aleatória, 4 (quatro) pneumáticos e 2 (dois) ultrassônicos, de diferentes marcas, para se estudar o comportamento de cada um, relacionado à entrega de gotículas em suspensão aerodinâmica no processo de nebulização. O caráter aleatório da escolha dos nebulizadores aconteceu para tornar o processo o mais isento possível, procurando evitar um viés ou qualquer forma de benefício direcionado a uma determinada marca. O maior número de nebulizadores pneumáticos (04) se deu a partir do custo de aquisição dos mesmos em relação aos nebulizadores ultrassônicos (02).

- Lâminas de vidro STARFROST: Estas lâminas, são confeccionadas com vidro de alta qualidade, sendo preparadas para atender a diferentes segmentos, como, por exemplo, hospitais de ponta especializados em tratamento de câncer e para a imuno-histoquímica <sup>5</sup>(IHQ). Cada uma destas lâminas possui uma superfície hidrofóbica, e é dotada de uma área de 20 mm. Outros pontos positivos das lâminas são a sua leveza e robustez, sendo um produto capaz de alinhar segurança com simples manuseio, tornando os processos de corte mais dinâmicos e eficazes.
- Esferas de poliamida 20 µm de diâmetro: Estas esferas, bem como os plásticos em geral, são insolúveis nos ácidos minerais diluídos e na maioria dos ácidos orgânicos e bases fortes. As esferas de nylon mostram-se resistentes aos alcalinos, a gasolina e gorduras, as soluções salinas inorgânicas, aos fluídos de transmissão, ao metanol e alguns outros com resistência de até temperaturas de 150°C.
- Soro fisiológico: Constitui uma solução isotônica em relação aos líquidos corporais contendo 0,9%, em massa de NaCl em água destilada constitui uma solução isotônica em relação aos líquidos corporais contendo 0,9%, em massa de NaCl em água destilada, com pH em torno de 6,0. Esta solução estéril é normalmente usada para infusão intravenosa (devido sua isotonicidade<sup>6</sup> em relação ao sangue humano), lavagem de lentes de contato e irrigação nasal.
- *Stage Micrometer Edmund Optics 30-101*. A medição precisa de objetos microscópicos requer o uso de um retículo ocular. Ele é constituído de um disco de vidro circular com uma escala de precisão na sua superfície. O retículo da ocular é inserido na ocular do microscópio e deve estar em foco. O retículo da ocular pode ser girado 360 graus no tubo ocular para que a escala de medição possa ser alinhada ou sobreposta à imagem da amostra. O retículo utilizado possui 0,1 mm de menor divisão de escala.

---

<sup>5</sup> Imuno-histoquímica ou IHQ é o processo de detecção da expressão de proteínas localizadas nas células dos tecidos utilizando o princípio antígeno/anticorpo. A Imuno-histoquímica é largamente utilizada no diagnóstico e prognóstico do câncer.

<sup>6</sup> Capacidade da célula em manter a velocidade entre as substâncias que entram e saem do seu interior com o meio

### 5.3 EQUIPAMENTOS

Equipamentos utilizados na obtenção das imagens:

- Microscópio invertido tri ocular CARL ZEISS™ AXIOVERT A1.

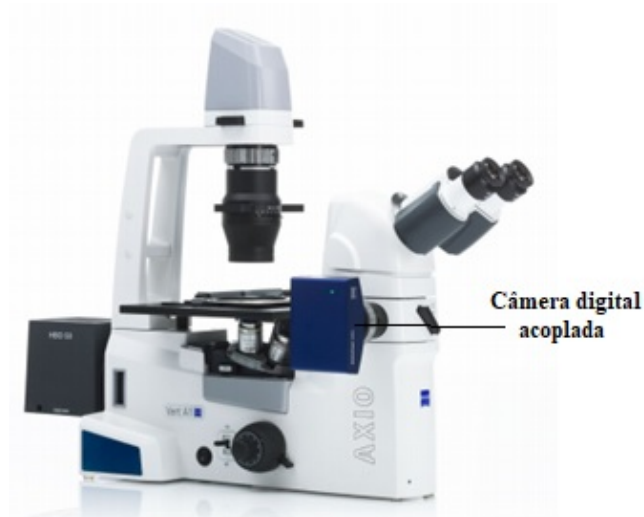


Figura 20 - Microscópio invertido tri ocular CARL ZEISS™ AXIOVERT A1.

Fonte: adaptado do Catálogo CARL ZEISS™ AXIOVERT A1.

- Câmera digital de alta velocidade FASTEC HISPEC 4. A câmera FASTEC HISPEC 4 fornece imagens de excelente qualidade com sua resolução de 1696 x 1710 pixels. E é perfeita para uma grande variedade de aplicações de movimento de alta velocidade com a capacidade de capturar imagens a mais de 1.400 *fps*.



Figura 21 - Câmera FASTEC HISPEC 4.

Fonte: Adaptado do Catálogo FASTEC HISPEC 4.

## 5.4 METODOLOGIA

O uso do micrômetro denominado *Stage Micrometer Edmund Optics 30-101* usado para quantificação das medidas foi acoplado na ocular do microscópio. A calibração do sistema foi realizada usando microesferas de poliamida de diâmetro conhecido de 20,0  $\mu\text{m}$ . O protocolo utilizado para a calibração aconteceu da seguinte maneira.

Uma amostra constituída de microesferas de poliamida foi colocada sobre a lâmina do microscópio. Em seguida a imagem foi capturada pela câmera digital, e posteriormente processada utilizando um programa computacional em ambiente MATLAB<sup>®</sup>. Realizou-se a medida dos diâmetros de 10 microesferas de poliamida consideradas padrão com diâmetro de 20  $\mu\text{m}$  e Desvio Padrão( $\sigma$ )de  $\pm 0,09 \mu\text{m}$ . Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Diâmetros das esferas de poliamida, Diâmetro médio ( $D_m$ ), Desvio Padrão ( $\sigma$ ) e Variação percentual ( $V_p$ ).

<b>Diâmetro medido [<math>\mu\text{m}</math>]</b>		
17,47		
18,34		
18,05		
18,32		
18,43		
18,21		
18,43		
18,21		
18,07		
18,10		
<b><math>D_m</math> [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b><math>\sigma</math> [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b><math>V_p</math> [%]</b>
18,16	$\pm 0,09$	9,2

Fonte: Autoria Própria

Utilizou-se o soro fisiológico para constituir o veículo aquoso dos nebulizadores, com uma viscosidade estimada de 0,90 m.Pa.s, após o suprimento do veículo aquoso no reservatório do nebulizador, iniciou-se o processo de nebulização.

A obtenção das imagens foi realizada incidindo diretamente o aerossol gerado em uma lâmina de vidro acoplada ao microscópio à uma distância fixa de 0,1 m. O procedimento experimental foi realizado no mesmo dia, a uma temperatura ambiente controlada de 22° C, pressão atmosférica de 102,1kPa, com umidade relativa do ar em torno de 68%.

As imagens das gotículas rasantes à lâmina foram capturadas e armazenadas em uma unidade de memória. As imagens foram adquiridas a uma taxa de 200 (*fps*) no tempo total de aquisição de 2 s.

Para cada nebulizador pesquisado foram adquiridas 400 imagens. As imagens foram processadas por meio de um protocolo estabelecido em MATLAB® versão 2015b desenvolvido por Rafael Fabrício Alves lotado Laboratório de Ciências Térmicas da UTFPR (LACIT), que identificava e determinava o diâmetro de cada micro gota.

O tratamento de imagens se dá através da comparação com uma imagem padrão, que representa a região analisada sem gotículas, transformando as imagens em escalas de cinza fornecidas pela câmera, em binárias, destacando as regiões diferentes da imagem padrão.

As regiões encontradas no processamento das imagens são analisadas individualmente para verificar, através do seu formato, se são correspondentes às gotículas. Nesta etapa, são eliminadas as regiões que correspondem a ruídos na imagem e as gotículas sobrepostas ou parcialmente cobertas pelo *Stage Micrometer*.

O primeiro passo no processamento consiste em segmentar as imagens. A ideia é buscar diferenciar na imagem todas as regiões que representam gotículas do restante da imagem.

Essa segmentação é feita utilizando o software MATLAB através da comparação da imagem que se deseja processar com uma imagem de referência (imagem da mesma região filmada durante o experimento, porém sem a presença de micro gotas). São percorridos todos os pixels da imagem fazendo-se uma comparação no nível de cinzas (escala que vai de 0 a 255 e denota o nível de cores de uma imagem, sendo que 0 representa a cor totalmente preta e 255 a cor branca, com valores intermediários representando diferentes níveis de cinza) dos pixels correspondentes na imagem processada e de referência. Caso os pixels correspondentes das imagens processadas e de referência sejam considerados semelhantes, ou seja, apresentem diferenças nos valores de escala de cinza dentro de uma faixa predeterminada (no presente processamento foram considerados semelhantes os pixels que tem uma diferença em seu nível de cinza de até 25), o pixel é entendido como “fundo” da imagem (ou seja, uma região onde não há microbolhas) e na imagem processada



esse pixel é definido como branco (valor igual a 255). Porém, se os pixels correspondentes forem considerados diferentes (diferença de níveis de cinza maior que 25), o pixel é entendido como fazendo parte de uma gotícula, e então na imagem processada o pixel correspondente é definido como preto (valor igual a 0).

Com esse processamento inicial é obtida uma imagem em que o fundo é branco e as gotículas são pretas (imagem binarizada, somente com valores 255 ou 0). Porém, até essa etapa, normalmente foram identificadas somente as regiões de contorno das gotículas, deixando em seu centro uma pequena região ainda identificada como fundo. Nesta etapa todas as regiões que estão cercadas por preto (regiões que teoricamente estão em meio às interfaces encontradas de uma gotícula, e, portanto, também fazem parte da gotícula) são preenchidas também com preto. Esse procedimento é realizado utilizando a função *“imfill”*, uma função da biblioteca de processamento de imagens própria do MATLAB. Com isso, tem-se uma imagem em que as gotículas estão representadas todas em preto e o fundo da imagem todo em branco.

Na próxima etapa são identificadas separadamente cada uma das regiões em preto na imagem (com valores 0), que representam cada uma das gotículas. Então, é calculada a área, em pixels, de cada uma dessas regiões (o que é feito contando-se todos os pixels pretos de uma determinada região). Esse procedimento é feito com o auxílio da função *“regionprops”*. Cada gotícula identificada tem seu diâmetro em pixels ( $D_P$ ) determinado, tendo como base a área em pixels ( $A_P$ ) que ocupa (Equação 3).

$$D_P = \sqrt{4A_P/\pi} \quad (3)$$

Obs.: São desconsideradas as áreas consideradas muito pequenas, pois teoricamente representam possíveis ruídos do processamento de imagem.

Os diâmetros encontrados até o momento ainda estão em pixels como unidade, então torna-se necessário passa-los para uma unidade de comprimento (micrômetros por exemplo). Isso é feito através de uma medida de referência da imagem. Um comprimento real tomado como padrão na imagem é então medido em pixels, o que permite fazer a transformação para todos os diâmetros calculados.

Nesse ponto do processamento tem-se a distribuição de todos os diâmetros das gotículas que aparecem na imagem. O que é feito na sequência é criar histogramas (com a função *“hist”*) para representar da maneira desejada a distribuição dos diâmetros encontrados na imagem.

O processo é então repetido para todas as imagens, criando um histograma de diâmetros para cada uma das imagens. Por fim, é criado um histograma adicional considerando agora todas as gotículas encontradas em todas as imagens.

O detalhamento dos protocolos computacionais utilizados na aquisição e tratamento de dados encontra-se nos anexos A, B e C.

A Figura 22 ilustra o procedimento da incidência direta do fluxo de spray na lâmina e o posicionamento do sistema de captura digital de imagem representado pela câmera de alta velocidade e da objetiva do microscópio.

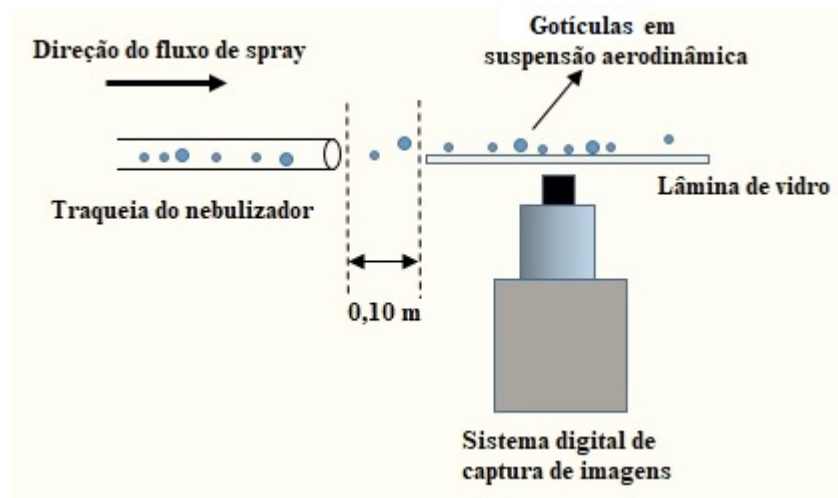


Figura 22 - Incidência direta do fluxo de spray na lâmina e o posicionamento do sistema de captura digital de imagem.  
Fonte: Autoria própria.

A Figura 23 apresenta o esquema geral da técnica proposta para a quantificação do diâmetro das gotículas.

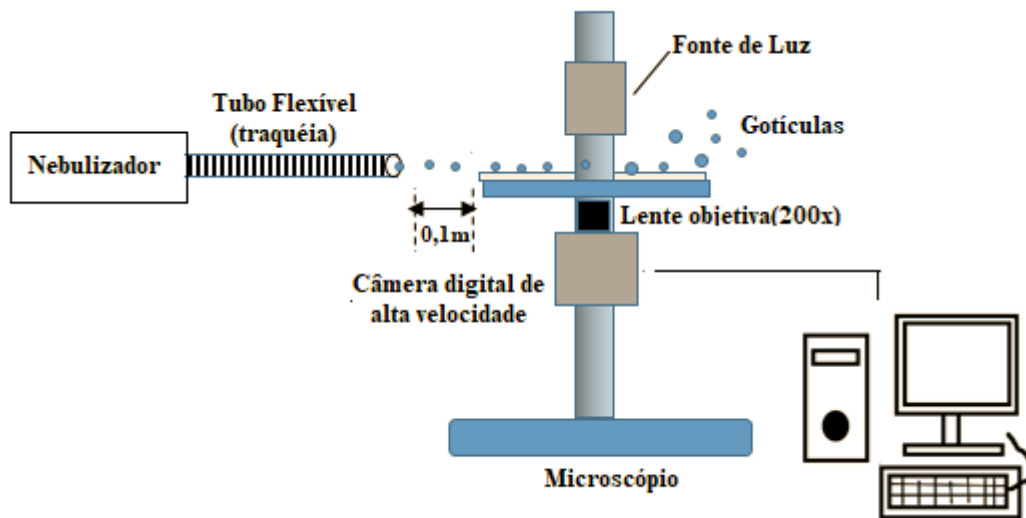


Figura 23 - Esquema operacional da técnica de Incidência Laminar Direta (ILD), mostrando o posicionamento dos equipamentos.

Fonte: Autoria própria.

De posse das imagens tornou-se possível relacionar o tamanho das gotículas para os diferentes modelos de nebulizadores, assim como determinar a distribuição média da população das gotículas. A Figura 24 representa uma imagem obtida da população de gotículas rasantes à superfície da lâmina, na ausência gotículas condensadas sobre a sua superfície. com um aumento de 200X, à taxa de aquisição de 200 (frames por segundo), na temperatura de 22o C, pressão atmosférica de 102,1 kPa com umidade relativa do ar em torno de 68%.

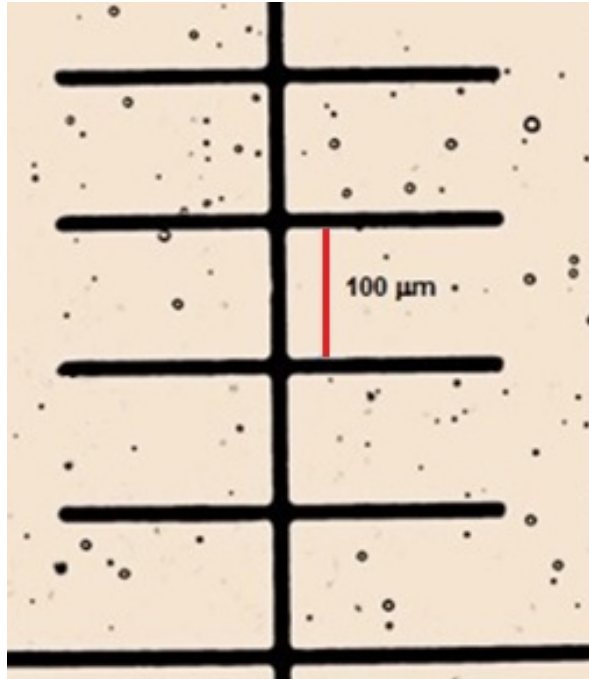


Figura 24 - Imagem das gotículas em suspensão aerodinâmica adquirida pelo dispositivo experimental.  
Fonte: Autoria própria.

## 6. RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos com o uso da técnica de ILD para a caracterização das gotículas respiráveis em suspensão aerodinâmica produzidas pela amostra de nebulizadores.

### 6.1 CONTAGEM MÉDIA DO DIÂMETRO AERODINÂMICO (CMAD)

Os nebulizadores comercialmente pesquisados utilizam como padrão de caracterização das gotículas o valor do Diâmetro Mássico Aerodinâmico Médio (MMAD), presente nos manuais. Esta variável representa o valor médio do tamanho aerodinâmico das gotículas geradas por cada um dos nebulizadores pesquisados, uma vez que leva em consideração o tamanho do diâmetro mássico de cada gota.

No desenvolvimento deste trabalho, foi utilizado o CMAD (Contagem Mediana do Diâmetro Aerodinâmico) para caracterizar o tamanho das gotículas em dispersão aerodinâmica produzidas pelos nebulizadores ora estudados. Este parâmetro representa a mediana das gotículas, i.e., caracteriza a quantidade de 50% das gotículas que estão acima da média e os 50% das gotículas que estão abaixo da média.

Para cada um dos nebulizadores pesquisados, foi feita uma análise estatística da quantidade de gotículas geradas em função do diâmetro e elaborado um histograma característico relacionado o diâmetro das gotículas aero dispersas, enfatizando a faixa compreendida entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$  que corresponde a faixa ideal.

A Tabela 4 apresenta as informações sobre o diâmetro das gotículas veiculadas nos manuais de fábrica, percentual das gotículas situadas na faixa ideal, e diâmetro médio característico das gotículas em suspensão para cada nebulizador (amostra) utilizando o parâmetro (CMAD) através da técnica ILD.

Tabela 4. a) Informações sobre o diâmetro das gotículas fornecidas pelos manuais que acompanham os equipamentos; (b) Percentual de gotículas na faixa ideal (c) diâmetro médio característico das gotículas em suspensão para cada nebulizador (amostra) utilizando o parâmetro (CMAD) através da técnica ILD.

Nebulizador	(a) Manual de instruções[ $\mu\text{m}$ ]	(b) Percentual de gotículas na faixa ideal	(c) Parâmetro CMAD [ $\mu\text{m}$ ] técnica ILD
A	4,0	43,95	5,5
B	3,8	41,66	5,5
C	4,0	43,38	5,4
D	<3,0	8,13	8,8
E	<5,0	34,48	5,9
F	0,5 a 10,0	58,46	4,5

Fonte: Autoria Própria

Pode-se observar na Tabela 4 que as informações veiculadas nos manuais dos fabricantes dos nebulizadores pesquisados, trazem apenas os valores do parâmetro MMAD (Diâmetro Aerodinâmico Médio de Massa) como referência, sem qualquer informação sobre a metodologia utilizada na determinação do referido valor. Em contrapartida, a tabela mostra a categorização das gotículas por faixas de diâmetros utilizando o parâmetro CMAD (Contagem do Diâmetro Médio Aerodinâmico) mostrando quantitativamente a população de gotículas situadas na faixa ideal (1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$ ).

## 6.2 HISTOGRAMAS DOS NEBULIZADORES

Nas Figuras de 25 a 30 são apresentados os histogramas da distribuição das gotículas produzidas por cada um dos nebulizadores utilizados, a partir do registro de imagens capturadas no processo nebulização no tempo de 2,0 s. Em cada um dos histogramas é enfatizada a faixa correspondente das partículas respiráveis (faixas da cor verde), ou seja, gotículas com diâmetros compreendidos entre 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$ .

A Figura 25 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador A. A mediana apresentou um valor de 6,4  $\mu\text{m}$  com desvio padrão em torno ( $\sigma$ ) de  $\pm 3,2 \mu\text{m}$ .

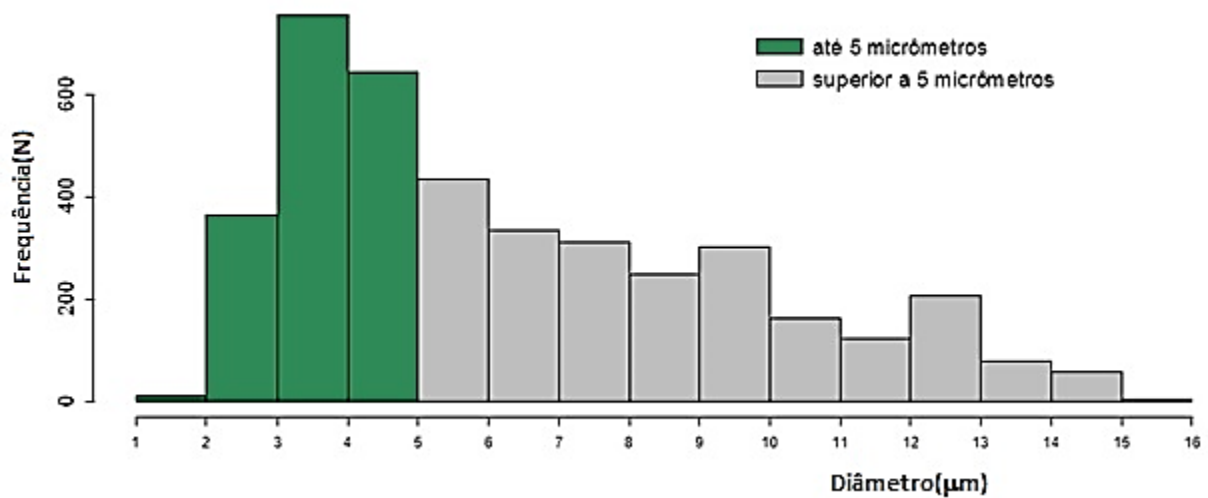


Figura 25 - histograma que expressa faixa de partículas respiráveis do nebulizador A.

Fonte: Autoria Própria

A Figura 26 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador B. A mediana apresentou um valor de 5,8 μm com desvio padrão ( $\sigma$ ) em torno de  $\pm 2,0$  μm.

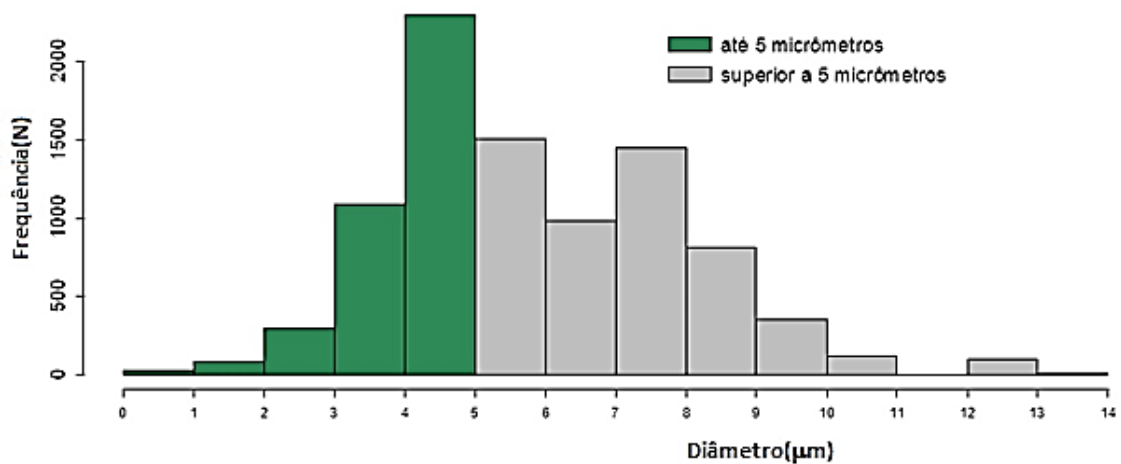


Figura 26 - histograma de demonstra a faixa de partículas respiráveis do nebulizador B.

Fonte: Autoria Própria

A Figura 27 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador C. A mediana apresentou um valor de 5,7 μm com desvio padrão em torno de ( $\sigma$ ) de  $\pm 2,2$  μm.

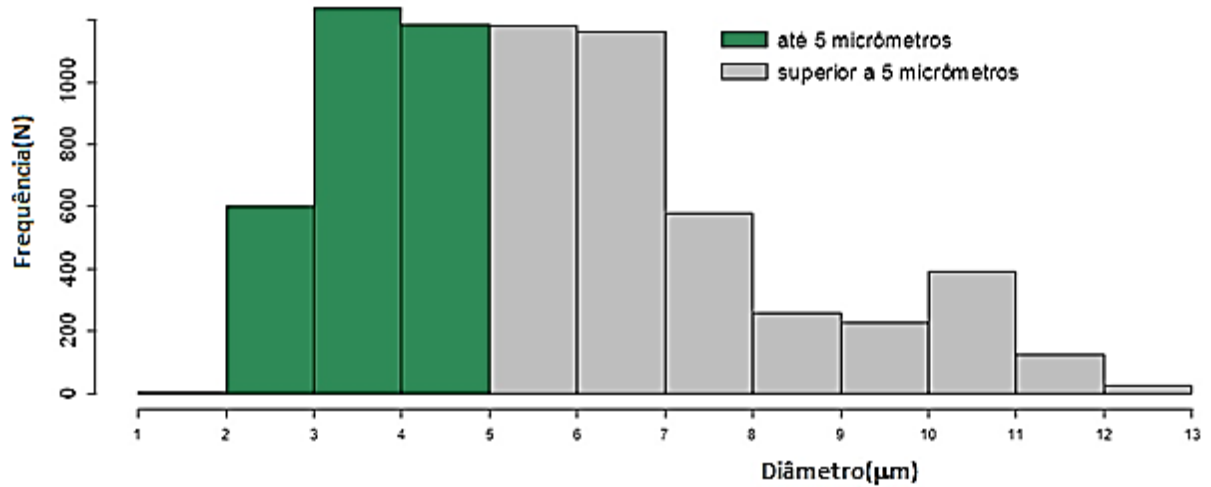


Figura 27 - Histograma de demonstrar a faixa de partículas respiráveis do nebulizador C.

Fonte: Autoria Própria.

A Figura 28 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador D. A mediana apresentou um valor de 8,9 μm com desvio padrão em torno de ( $\sigma$ ) de  $\pm 3,2$  μm.

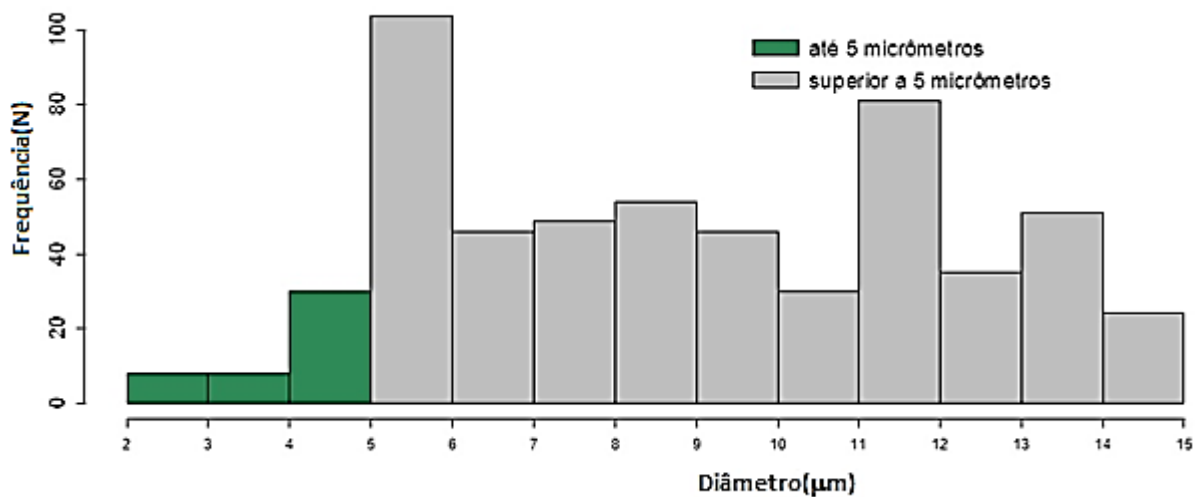


Figura 28 - Histograma de demonstrar a faixa de gotículas respiráveis do nebulizador D

Fonte: Autoria Própria



A Figura 29 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador E. A mediana apresentou um valor de 6,9  $\mu\text{m}$  com desvio padrão em torno de ( $\sigma$ ) de  $\pm 3,1 \mu\text{m}$ .

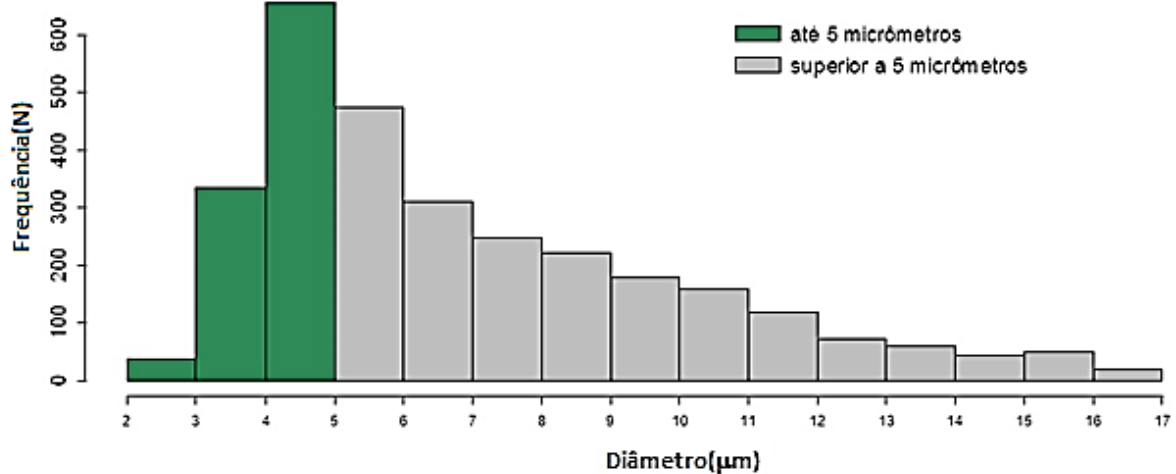


Figura 29 - Histograma que demonstra as faixas das gotículas respiráveis do nebulizador E

Fonte: Autoria Própria.

A Figura 30 apresenta o histograma da distribuição das gotículas produzidas pelo nebulizador E. A mediana apresentou um valor de 4,9  $\mu\text{m}$ , com desvio padrão em torno de ( $\sigma$ ) de  $\pm 2,0 \mu\text{m}$ .

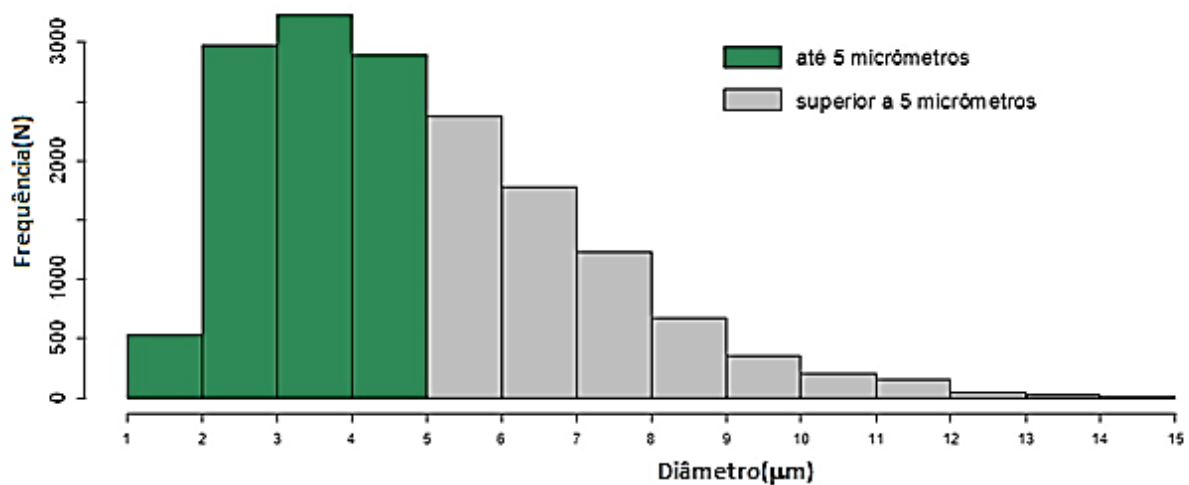


Figura 30 - Histograma que demonstra a faixa de gotículas respiráveis do nebulizador F

Fonte: Autoria Própria.

Analisando os histogramas pode-se perceber o caráter polidisperso das gotículas geradas pelos nebulizadores tomados como amostra, e que cada equipamento tem uma característica própria de produção de gotículas na faixa ideal (1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$ ). Isto representa um indicativo importante para a escolha do equipamento pois como já foi tratado anteriormente é nesta faixa de diâmetros que acontece uma melhor resposta ao tratamento devido a uma maior absorção efetiva do fármaco pelos alvéolos pulmonares. A análise dos histogramas pura e simples pode representar uma maneira inicial de caracterização dos nebulizadores tomando por base a capacidade de cada um em entregar gotículas na faixa ideal.

### 6.3 DISTRIBUIÇÕES DE FREQUÊNCIA DO DIÂMETRO DAS GOTÍCULAS GERADAS PELOS NEBULIZADORES

O histograma com as densidades de frequências é útil nos casos em que pretendesse visualizar o ajuste das curvas de densidade das distribuições. Cada valor de densidade de frequência (no eixo vertical) é igual à frequência absoluta dos valores na classe correspondente (no eixo horizontal), dividido pelo comprimento desta classe. A Distribuição Normal é utilizada largamente em inúmeras aplicações com experimentos e fenômenos físicos tendo propriedade de simetria em torno da média. Embora seu modelo teórico permita valores positivos e negativos do diâmetro das gotículas, esta distribuição pode ser utilizada na prática porque valores baixos de desvio padrão resultam em probabilidades quase nulas de se obter valores negativos. As Distribuições Log Normal, Gamma e Normal Inversa permitem apenas valores positivos, logo há interesse em utilizar estas distribuições nos experimentos que resultam em valores somente positivos (como diâmetros das gotículas). Um outro parâmetro é o critério AIC (*Akaike Information Criterion*) de bondade de ajuste de um conjunto de valores a uma distribuição específica de probabilidade: quanto menor o valor de AIC, melhor é o ajuste do modelo. Este critério verifica a bondade do ajuste levando em conta o número de parâmetros no modelo.

As Figuras de 31 a 36 apresentam os histogramas com as densidades de frequência, associados as curvas das distribuições de frequência: Normal, Log-Normal, Gamma e Normal Inversa para cada um dos nebulizadores pesquisados. Estes dados tem uma grande importância para a caracterização do comportamento de cada nebulizador, além do cálculo do importante parâmetro AIC que caracteriza quantitativamente a correlação entre os dados.

O gráfico representado pela Figura 31 apresenta o comportamento do nebulizador A em função das distribuições testadas.

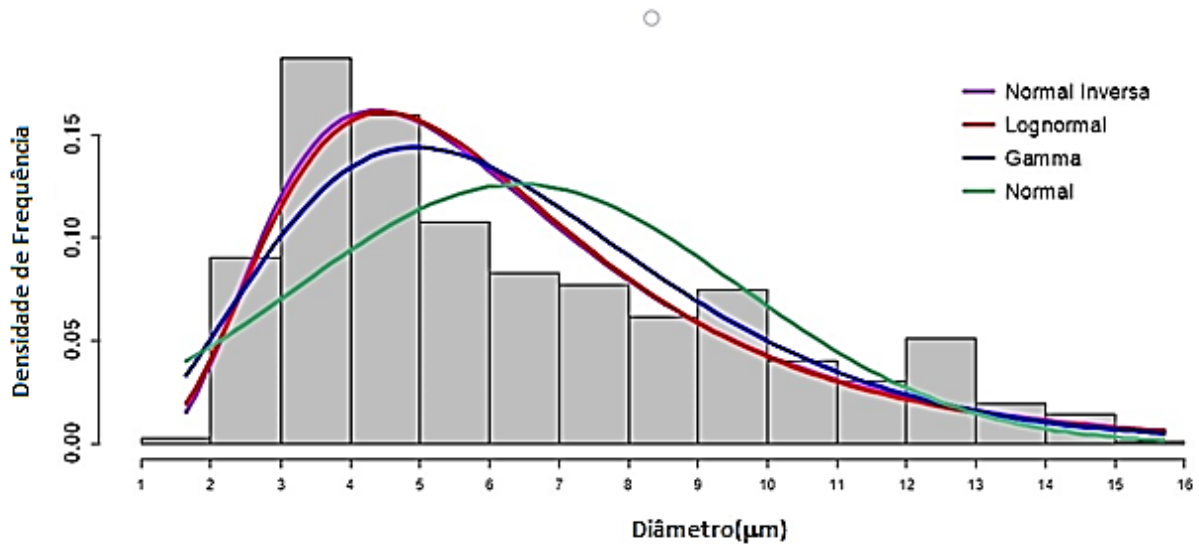


Figura 31 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas para o nebulizador A

Fonte: Autoria Própria

Analisando o gráfico representado pela Figura 29, pode-se concluir que a predominância da densidade frequência na região compreendida entre 2,0 e 5,0  $\mu\text{m}$ , é relevante para o nebulizador A. Nesta faixa há uma grande entrega de gotículas respiráveis (i.e. 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$ ). Verifica-se que as curvas de densidade Normal Inversa e Log Normal são quase idênticas - elas capturam melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas (de 3 a 4  $\mu\text{m}$ ).

O gráfico representado pela Figura 32 apresenta o comportamento do nebulizador B em função das distribuições testadas.

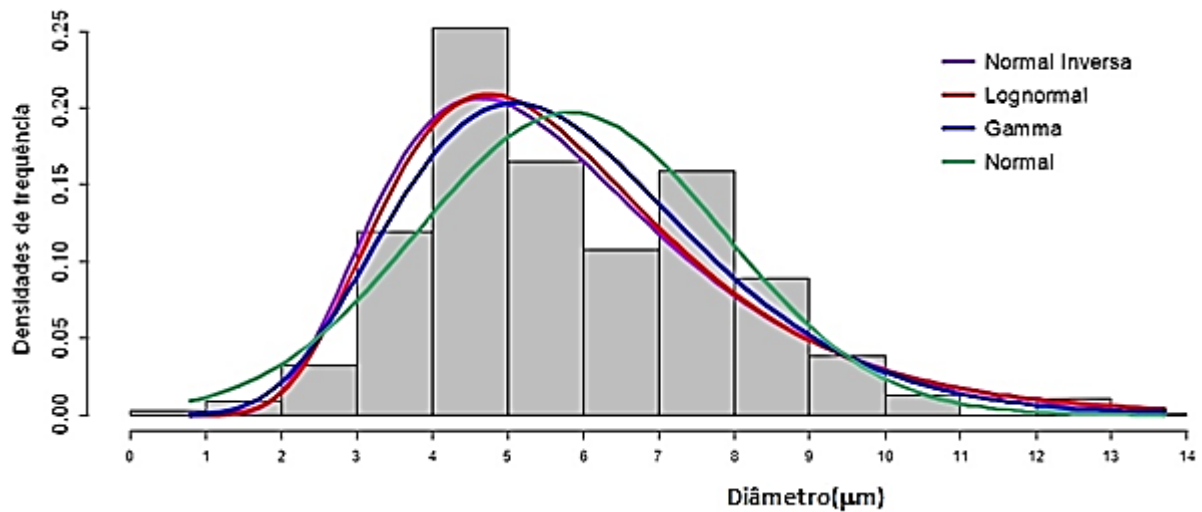


Figura 32 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas do nebulizador B

Fonte: Autoria própria.

Analisando o gráfico representado pela Figura 32 pode-se concluir que há uma distribuição suave da densidade de frequência na região compreendida entre 2 e 7  $\mu\text{m}$ , para o nebulizador B. Há um pico de concentração maior da população de gotículas entre 4,0 e 5,0  $\mu\text{m}$ . Verifica-se que as curvas de densidade Gamma e Normal têm formas semelhantes, sendo que o valor da moda da Gamma é inferior ao respectivo da Normal – permitindo captar melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas (de 4 a 5  $\mu\text{m}$ ).

O gráfico representado pela Figura 33 apresenta o comportamento do nebulizador C em função das distribuições testadas.

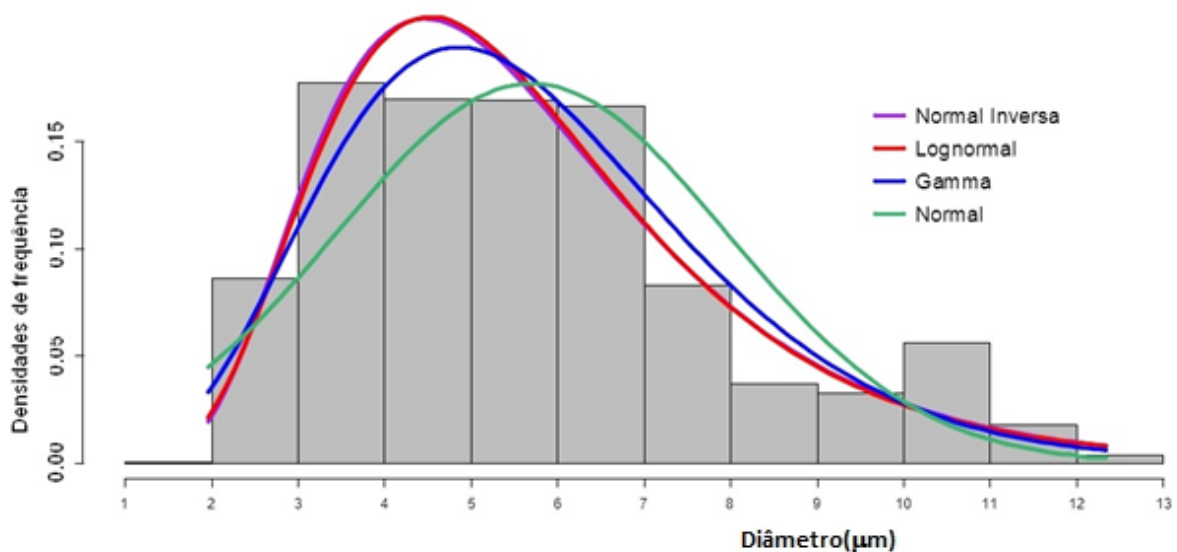


Figura 33 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas do nebulizador C

Fonte: Autoria Própria.

Analisando o gráfico representado pela Figura 33, conclui-se que há uma distribuição suave da Densidade de Frequência na região compreendida entre 3,0 e 7,0  $\mu\text{m}$ , para o nebulizador C. Verifica-se que a curvas de densidade Normal Inversa e Log Normal são quase idênticas - elas captam melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas (de 3,0 a 4,0  $\mu\text{m}$ ), além de se ajustar melhor aos valores próximos de 1,0  $\mu\text{m}$  (à esquerda do gráfico), mesmo sendo estes valores menos frequentes.

O gráfico representado pela Figura 34 apresenta o comportamento do nebulizador D em função das distribuições testadas.

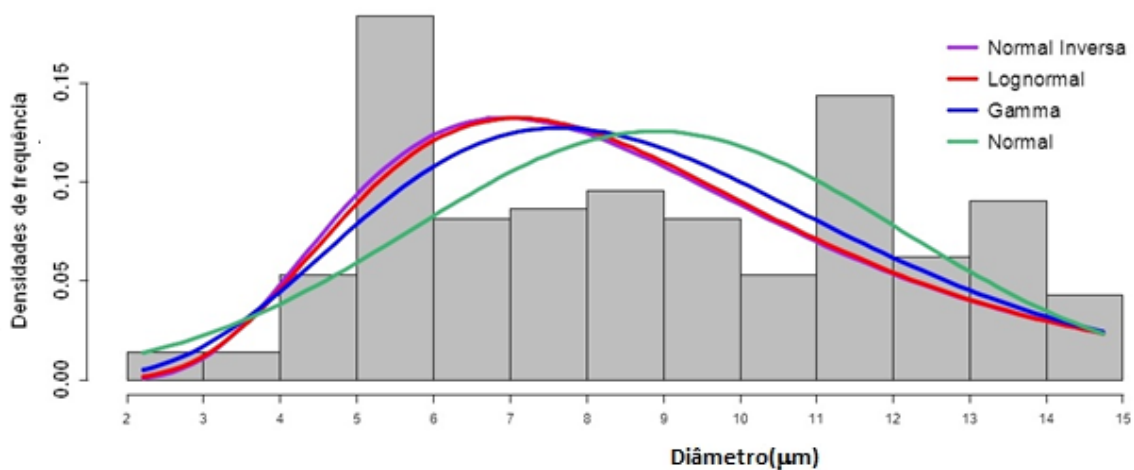


Figura 34 - Histograma com as curvas de densidade ajustadas para o nebulizador D

Fonte: Autoria Própria.

Analisando o gráfico representado pela Figura 34 observa-se uma distribuição suave da frequência na região compreendida entre 4,0 e 10,0  $\mu\text{m}$ , com um pico entre 5,0 a 6,0  $\mu\text{m}$  para o nebulizador D. Verifica-se ainda, que a curvas de densidade Gamma e Normal têm formas semelhantes, sendo que o valor da moda da Gamma é inferior ao respectivo da Normal – ela capta melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas (de 5,0 a 6,0  $\mu\text{m}$ ), além de se ajustar melhor aos valores próximos de 2,0  $\mu\text{m}$  (à esquerda do gráfico), mesmo sendo estes valores menos frequentes.

O gráfico representado pela Figura 35 apresenta o comportamento do nebulizador E em função das distribuições testadas.

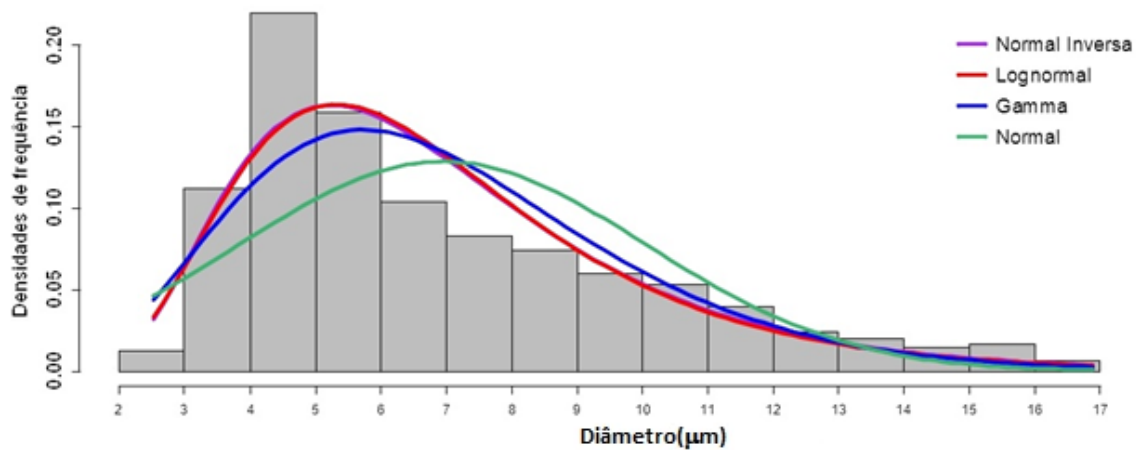


Figura 35 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas para o nebulizador E

Fonte: Autoria Própria.

Analisando o gráfico representado pela Figura 35 observa-se é que há uma concentração maior da distribuição da densidade de frequência na região compreendida entre 3,0 e 9,0  $\mu\text{m}$ , com um pico entre 4,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  para o nebulizador E. Verifica-se que a curvas de densidade Normal Inversa e Log Normal são quase idênticas - elas captam melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas de 4,0 a 5,0  $\mu\text{m}$ .

O gráfico representado pela Figura 36 apresenta o comportamento do nebulizador F em função das distribuições testadas.

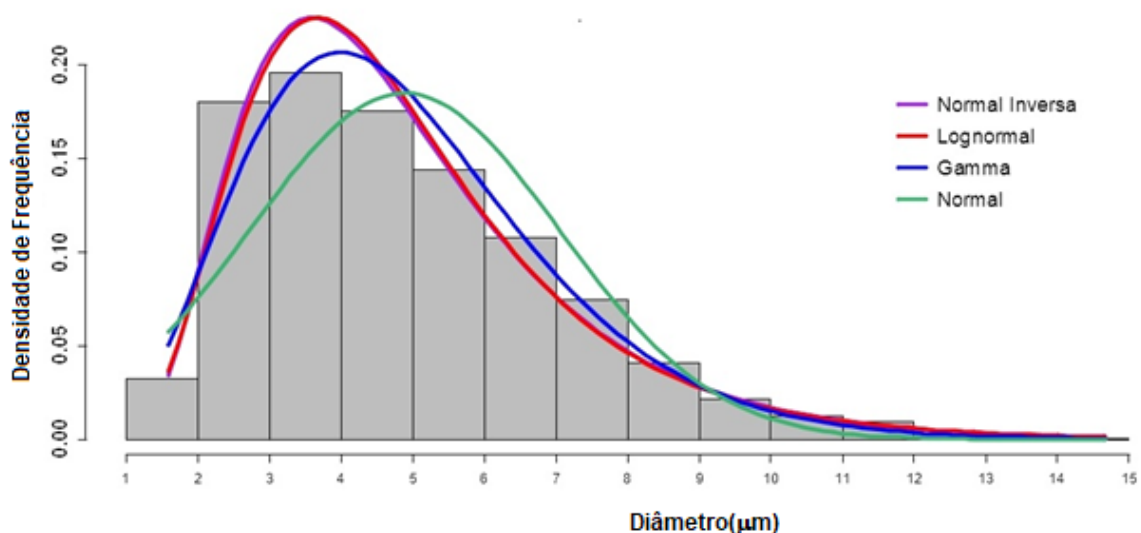


Figura 36 - Histograma com as curvas de densidades ajustadas para o nebulizador F

Fonte: Autoria Própria.

Analisando o gráfico representado pela Figura 36 observa-se um pico entre 3,0 a 4,0  $\mu\text{m}$  para o nebulizador F. Verifica-se que as curvas de densidade Normal Inversa e Log Normal são quase idênticas - elas captam melhor a classe modal dos diâmetros das microbolhas (de 3,0 a 4,0  $\mu\text{m}$ ), além de se ajustar melhor aos valores próximos de 1,0  $\mu\text{m}$  (à esquerda do gráfico).

A partir dos aspectos apresentados nos gráficos supracitados das distribuições ajustadas, podemos verificar um resumo dos parâmetros estatísticos para cada nebulizador estudado. Essa análise mostra uma predominância da distribuição Log Normal, em acordo com a literatura sobre a distribuição que melhor ajusta os dados de tamanho de micro gotas. Na Tabela 5, apresenta a Média, Mediana, Desvio Padrão, AIC e Distribuição Ajustada dos dados.

Tabela 5. Estatística descritiva com distribuições ajustadas e critério de Akaike (AIC), além dos valores relativos à Média, Mediana, e Desvio Padrão.

Nebulizador	Média	Mediana	Desvio Padrão ( $\sigma$ )	AIC	Distribuição Ajustada
A	6,43	5,51	3,17	19760	Log Normal
B	5,82	5,48	2,02	38400	Gamma
C	5,69	5,37	2,25	29949	Log Normal
D	8,90	8,76	3,18	2920	Gamma
E	6,94	5,95	3,09	14293	Log Normal
F	4,88	4,51	2,15	68672	Log Normal

Fonte: Autoria Própria

#### 6.4 ANÁLISE TEMPORAL DA EVOLUÇÃO DAS GOTÍCULAS

Para uma ação mais eficaz dos fármacos administrados pelas vias respiratórias, é importante ressaltar a necessidade de que as partículas inaláveis (gotículas) possuam diâmetros na faixa de 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  e permaneçam estáveis no tempo decorrido de uma inspiração completa, que corresponde a um ciclo de 2 s.

Geralmente considera-se que 2,0 s são necessários para a inspiração tranquila normal. Desse modo as partículas respiráveis devem no mínimo permanecer estabilizadas no período de 2,0 s para que a absorção do fármaco agregado à micro gota se torne eficiente através do trato respiratório (GUYTON & HALL, 2006)

A Figura 37 mostra a evolução temporal do diâmetro aerodinâmico das gotículas geradas pelo nebulizador F. Observa-se que não há uma mudança perceptível do tamanho das gotículas em relação ao tempo de 2s, para uma mesma temperatura, pressão e concentração de soluto.

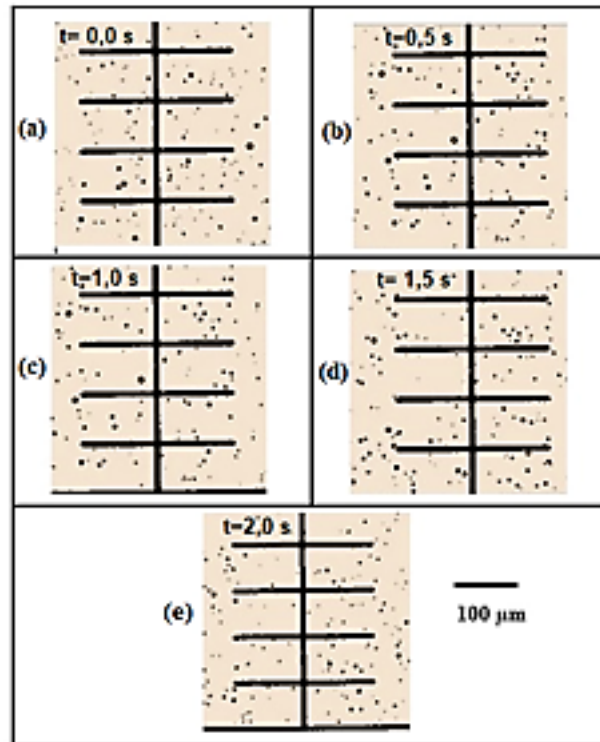


Figura 37 - Evolução do diâmetro aerodinâmico das gotículas no intervalo de tempo de 2,0 s para o nebulizador F. (a) população inicial de gotículas no instante inicial. (b) população das gotículas no instante 0,5s. (c) população das gotículas no instante 1,0s d) população das gotículas no instante 1,5s. (e) população das gotículas no instante 2,0s. Fonte: Autoria própria

Para avaliar a evolução temporal do diâmetro aerodinâmico das gotículas geradas no processo de nebulização, foi quantificado o parâmetro CMAD a cada 0,5 s utilizando o mesmo procedimento computacional utilizado na quantificação dos diâmetros das gotículas. Em seguida, encontrou-se o CMAD médio, e o desvio padrão ( $\sigma$ ).



Tabela 6. Evolução do diâmetro das gotículas geradas pelo nebulizador F no intervalo de tempo de 2,0s. A variação do parâmetro CMAD neste intervalo de tempo não sofre alteração significativa, demonstrando que as gotículas permanecem com as características físicas e morfológicas quase inalteradas.

Tempo(s)	CMAD ( $\mu\text{m}$ )
0,0	4,5
0,5	4,7
1,0	4,3
1,5	4,4
2,0	4,9
<b>CMAD<sub>M</sub> = 4,7 <math>\mu\text{m}</math></b>	
<b>Desvio padrão</b> $\sigma = \pm 0,1 \mu\text{m}$	

Fonte: Autoria Própria

Observando a Tabela 6 pode-se concluir que não há uma variação significativa do valor do diâmetro das gotículas no tempo de 2,0 s. O CMAD médio dos diâmetros no tempo de 2,0 segundos foi de 4,7  $\mu\text{m}$  com um Desvio Padrão ( $\sigma$ ) de  $\pm 0,1 \mu\text{m}$ , mostrando que a população de gotículas não sofre variações morfológicas significativas neste intervalo de tempo.

## 6.5 VAZÃO DO EXCIPIENTE LÍQUIDO DOS NEBULIZADORES.

No intuito de obter uma caracterização mais abrangente dos nebulizadores, foram realizados procedimentos para se determinar a vazão do excipiente líquido de cada nebulizador constituinte da amostra.

Uma quantidade de soro fisiológico a 0,9% equivalente a 3,0 ml ( $V_L$ ) foi colocada no reservatório do nebulizador. Em seguida foi medido o tempo de uma nebulização completa ( $T$ ). Realizou-se este procedimento por três vezes e tirou-se a média dos tempos ( $T_m$ ). De posse dos dados

foi calculada a vazão do nebulizador em questão, utilizando a equação 5, dividindo o volume do excipiente líquido inicial pelo tempo médio decorrido de uma nebulização completa, ou seja

$$Q_L = \frac{V_L}{T_m} \quad (5)$$

A unidade de volume empregada foi mililitro (mL), o tempo medido em minutos (min) com a vazão ( $Q_L$ ) expressa em mililitro por minuto (mL/min). O mesmo procedimento foi feito para os demais nebulizadores pesquisados. Na Tabela 7 são apresentados os valores das vazões dos nebulizadores pesquisados obtidas experimentalmente, e na Tabela 8 uma comparação com vazões veiculadas nos manuais que acompanham os nebulizadores.

Tabela 7. Vazões de cada nebulizador obtidas experimentalmente, com as respectivas médias e os desvios padrão ( $\sigma$ ).

<b>Nebulizadores</b>	<b>Vazão média(<math>Q_m</math>) [ml/min]</b>	<b>Desvio Padrão(<math>\sigma</math>) [ml/min]</b>
A	0,35	$\pm 0,05$
B	0,19	$\pm 0,07$
C	0,31	$\pm 0,05$
D	0,16	$\pm 0,05$
E	0,27	$\pm 0,11$
F	0,32	$\pm 0,11$

Fonte: Autoria Própria

Tabela 8. Comparação das vazões obtidas experimentalmente com as veiculadas nos manuais que acompanham os nebulizadores.

<b>Nebulizadores</b>	<b>Vazão (Manual) [ml/min]</b>	<b>Vazão medida [ml/min]</b>	<b>Variação percentual entre as Vazões [%]</b>
A	0,33	0,35	5,71
B	0,20	0,19	5,26
C	0,30	0,31	3,23
D	0,15	0,16	6,25
E	0,25	0,27	7,41
F	0,30	0,32	6,25

Fonte: Autoria Própria

Os resultados apontam que não houve mudanças significativas em relação às vazões veiculadas nos manuais que acompanham os nebulizadores. Esta constatação sinaliza a veracidade das informações, o que assegura a confiabilidade do processo de nebulização.

## 7. CONCLUSÃO

Neste capítulo serão discutidos os resultados experimentais encontrados com a utilização da técnica da ILD na caracterização do diâmetro das gotículas aero dispersas produzidas pelos nebulizadores.

### 7.1 A TÉCNICA INCIDÊNCIA LAMINAR DIRETA (ILD) NA CARACTERIZAÇÃO DO DIÂMETRO DAS GOTÍCULAS AERO DISPERSAS.

A microscopia é considerada um método absoluto de análise do tamanho de partícula, uma vez que é o método em que as partículas individuais são observadas e medidas (ALLEN, 2003). As outras técnicas de análise como LD e CI, como descritos no capítulo 4, são calibradas utilizando microscópios ópticos e lasers de alta intensidade (O'CALLAGHAN & BARRY, 2000). Portanto, a microscopia óptica é mais adequada quando se está trabalhando com partículas aero dispersas com diâmetros compreendidos entre 0,8 -150,0  $\mu\text{m}$  dependendo do comprimento de onda da fonte de luz, embora um limite inferior prático de 3,0  $\mu\text{m}$  é frequentemente citado (ALLEN, 2003). Portanto, pode-se concluir, que o processamento digital de imagens de microscopia em aerossol produzido por nebulizadores fornece um resultado bastante confiável. Com base nesta constatação, procurou-se aplicar a técnica de medição por microscopia como uma fonte direta de medida associada ao processamento de digital imagens, que traduz a técnica ILD.

Analisando os resultados experimentais constatou-se que:

- Os histogramas apresentados juntamente com a terceira coluna da Tabela 4, mostra que cada nebulizador tem um comportamento diverso em relação à entrega de gotículas na região ideal, além de apresentarem valores diferentes do parâmetro (CMAD). Isto pode estar associado ao projeto do equipamento ou de anomalias técnicas passíveis de serem contornados pelos fabricantes.
- A Figura 37 mostra a evolução temporal da população das gotículas no tempo de 2,0 s geradas pelo nebulizador F. Pode-se constatar que não há mudança aparente relacionada à morfologia

e o tamanho das gotículas. O cálculo do CMAD instantâneo para cada uma das imagens corrobora a afirmação (ver Tabela 6). O desvio padrão ( $\sigma$ ) de medida ficou avaliado em  $\pm 0,1 \mu\text{m}$ .

- A técnica ILD representa uma alternativa bastante viável para a caracterização de gotículas aero dispersas, pois sua operacionalização não necessita de equipamentos sofisticados e onerosos, o que a torna bastante competitiva em relação as outras técnicas de medida.
- Uma outra constatação apresentada pelos histogramas é que a entrega de gotículas na faixa ideal varia de nebulizador para nebulizador. Esta constatação sinaliza que a escolha de um determinado equipamento pode apresentar uma vantagem em relação ao outro no que diz respeito a sua resposta terapêutica, haja visto que esta resposta depende da proporção de gotículas na faixa respirável, i.e., entre 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  (onde ocorre a máxima deposição pulmonar). Esta constatação pode servir de base para elaboração de um protocolo de avaliação mais fidedigna da qualidade dos nebulizadores disponíveis no mercado brasileiro pelos órgãos reguladores oficiais.
- A distribuição de densidade de frequência do diâmetro das gotículas associada a cada um dos nebulizadores pesquisados, mostra o alto grau de dispersão da população de gotículas em suspensão aerodinâmica. Este fato é comprovado pelos valores elevados dos desvios padrão ( $\sigma$ ) associado a cada distribuição. A metodologia proposta com a caracterização das gotículas geradas por faixas de tamanho, introduz uma nova maneira de avaliar o comportamento dos nebulizadores tendo por referência a região ideal, i.e., de 1,0 - 5,0  $\mu\text{m}$ .
- De um modo geral, as medidas das vazões dos nebulizadores pesquisados, não diferiram significativamente dos valores apresentados nos manuais de fábrica. A maior diferença entre as vazões aconteceu para o nebulizador E, com uma variação percentual de 7,41 % (ver Tabela 8).
- A Tabela 5 apresenta o comportamento dos nebulizadores em relação aos dados estatísticos: Média, Mediana, Moda, Desvio Padrão e o valor do AIC, este último representa a correlação entre os dados, quanto menor o valor deste parâmetro melhor é a correlação existente, portanto foi realizado o cálculo do AIC para as seguintes distribuições ajustadas: Normal, Log Normal, Gamma e Normal Inversa. Pode-se constar que cada nebulizador há uma distribuição que melhor se ajusta aos dados, (ver Tabela 7). Verifica-se que há uma predominância da distribuição Log Normal conforme descrito na literatura pertinente ao estudo das gotículas aero dispersas.

- Os histogramas de distribuição percentual das gotículas produzidas por cada um dos nebulizadores pesquisados proporcionam uma caracterização mais abrangente da população das gotículas aerodispersas. A população de gotículas respiráveis com diâmetros compreendidos entre 1,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  é enfatizada nas colunas em verde.

Baseado nos argumentos apresentados, ressalta-se a importância de caracterizar mais detalhadamente a população de gotículas produzidas pelos nebulizadores no processo de nebulização. As gotículas consideradas respiráveis, ou seja, com diâmetros compreendidos entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$ , desempenham um papel crucial no tratamento das doenças do trato respiratório pois é nesta faixa que acontece a absorção máxima de fármacos pelos brônquios e bronquíolos, proporcionando assim uma melhora da resposta terapêutica.

O uso da técnica ILD representa uma alternativa importante para a caracterização dos diâmetros das gotículas aero dispersas, devido a sua simplicidade, e baixo custo operacional.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação ora apresentada tratou de caracterizar os diâmetros de gotículas respiráveis produzidas no processo de nebulização tomando por base uma amostra de nebulizadores comercializados no mercado brasileiro, utilizando a técnica de Incidência Laminar Direta (ILD).

Dado o objetivo principal da investigação que foi a caracterização das gotículas em função do diâmetro, para categorizar as partículas respiráveis, apresenta-se a seguir uma retomada do que foi apresentado ao longo do trabalho.

A quantificação dos diâmetros das gotículas produzidas pelos nebulizadores tomados como amostra utilizando a técnica ILD levou a elaboração dos histogramas característicos de cada nebulizador pesquisado, relacionando a frequência de eventos em função do diâmetro das gotículas. Nos histogramas apresentados foi enfatizado a faixa ideal que corresponde as gotículas respiráveis, isto é, aquelas de diâmetros compreendidos entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$  (colunas em verde). Aliado a isso, foram também elaborados os gráficos dos histogramas associados as curvas de distribuição Normal, Log Normal, Gamma e Normal Inversa para avaliar o tipo de distribuição mais adequada de acordo com a base de dados. Concluiu-se que a distribuição que mais se aproxima é a Log Normal estando de acordo com a literatura que trata do tema em estudo. Foi também comprovado o caráter polidisperso da população das gotículas geradas pelos nebulizadores atestado pelo elevado Desvio Padrão ( $\sigma$ ) dos diâmetros relacionado à média.

A escolha do CDMA em vez do MMAD, surgiu da necessidade do uso de um parâmetro alternativo para quantificar a população de gotículas respiráveis, o CDMA possibilitou esse empreendimento pois ele trabalha com a representação da mediana das gotículas, e não um valor absoluto do diâmetro mássico médio da população de gotículas representadas pelo MMAD.

A técnica Incidência Laminar Direta (ILD) mostrou-se eficiente para a caracterização das gotículas aero dispersas, aliando os procedimentos óticos voltados para a aquisição das imagens, às técnicas computacionais de processamento. Além disso, ela se mostrou operacionalmente viável pelo seu caráter simples e acessível pela utilização materiais e equipamentos de custo reduzido comparado com as outras técnicas já citadas.

A questão levantada no início do trabalho no que diz respeito a qualificação da eficiência dos nebulizadores em entregar gotículas com diâmetros compreendidos entre 1,0 e 5,0  $\mu\text{m}$ , que corresponde a faixa de gotículas respiráveis, foi respondida de acordo com os resultados experimentais alcançados. Este parâmetro é de fundamental importância, pois propicia uma diferenciação dos nebulizadores de acordo com a sua capacidade de entrega de gotículas na faixa supra

citada, o que propicia uma melhor resposta terapêutica durante o tratamento inalatório. Destaca-se ainda que os manuais que acompanham os nebulizadores só trazem informações do parâmetro Diâmetro Aerodinâmico de Massa Médio (MMAD) não trazendo nenhuma outra informação adicional. Assim, a introdução desse novo parâmetro, propiciará a elaboração de novos protocolos de qualificação dos nebulizadores com ênfase na capacidade de cada um entregar gotículas dentro da faixa ideal (gotículas respiráveis).



## 9. TRABALHOS FUTUROS

Neste trabalho foi apresentado o procedimento técnico denominado Incidência Laminar Direta (ILD), para a caracterização do diâmetro das gotículas aero dispersas produzidas por nebulizadores com ênfase na faixa de micro gotas respiráveis. Devido a diferença comportamental dos nebulizadores em entregar micro gotas na faixa supracitada (diâmetros compreendidos entre 1 e 5  $\mu\text{m}$ ), o que é perfeitamente possível de se entender, devido as diferenças de concepção de projeto, tornando premente a elaboração de um protocolo de avaliação mais detalhado da qualidade dos nebulizadores comercializados no mercado brasileiro pelos órgãos reguladores oficiais. A elaboração do referido protocolo faz parte do desdobramento futuro desse trabalho, procurando assim dar mais subsídios aos profissionais de saúde em escolher aquele equipamento que proporcione uma melhor resposta terapêutica durante o tratamento inalatório.

Um outro aspecto que deve ser investigado é o comportamento funcional dos nebulizadores em relação ao tempo de uso, levando-se em consideração a fadiga dos materiais, o manuseio, e o procedimento de limpeza. Além disso, pretende-se também estudar a possibilidade de anexação de marcadores biológicos nas gotículas no processo de nebulização, buscando assim o mapeamento da absorção dinâmica de fármacos através do trato respiratório.

## 10. PUBLICAÇÕES

ARAÚJO, L. M. P.; ABATTI, P.J.; ARAÚJO FILHO, W.D; ALVES, R. F. **Performance evaluation of nebulizers based on aerodynamic droplet diameter characterization using the Direct Laminar Incidence (DLI)**. RESEARCH ON BIOMEDICAL ENGINEERING, v. 33, p. 105-112, 2017.



Volume 33, Number 2, p. 105-112, 2017

Original Article

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2446-4740.05316>

### Performance evaluation of nebulizers based on aerodynamic droplet diameter characterization using the Direct Laminar Incidence (DLI)

Luciana Martins Pereira de Araújo<sup>1\*</sup>, Paulo José Abatti<sup>1</sup>, Walter Duarte de Araújo Filho<sup>2</sup>, Rafael Fabrício Alves<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduate Program on Electrical Engineering and Industrial Informatics, Federal University of Technology - Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

<sup>2</sup> Department of Exact and Earth Sciences, Bahia State University, Salvador, BA, Brazil.

<sup>3</sup> Laboratory of Thermal Sciences, Federal University of Technology - Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

**Abstract** **Introduction:** Optical microscope images can be useful to evaluate nebulizers considering the size of droplets produced by these devices. From this perspective, the proposed method was compared to the classic concept of Mass Median Aerodynamic Diameter (MMAD) for the ideal droplet size between 0.5-5.5  $\mu\text{m}$ . **Methods:** We tested a sample of five home nebulizers sold on the Brazilian market. A high-speed camera coupled to a microscope obtained images of the droplets during the nebulization process, which allowed us to characterize the diameter of the aero-dispersed droplets. The Count Median Aerodynamic Diameter (CMAD) was used as measurement parameter. **Results:** The images obtained during the nebulization process with the five different nebulizers provided data to determine the frequency distribution of the aero-dispersed droplet population. Successive images were obtained in the range of 2.0s to evaluate the dynamic behavior of the droplets. The generated data also allowed the elaboration of histograms emphasizing the ideal diameter range of droplets between 0.5 and 5.5  $\mu\text{m}$ . **Conclusion:** The Direct Laminar Incidence (DLI) model using digital image processing technique allowed the characterization of respirable particles. This model proposes the creation of a range of optimum absorption of the droplets by the respiratory tract. Although there is a technical limitation in the direct acquisition of images due to the depth of focus, presenting an error of 9.3%, the described method provides consistent results when compared to other droplets characterization techniques. Thus, the authors believe that Direct Laminar Incidence (DLI) is a viable method to assess the performance of nebulizers despite the requirement of adjustments and possible improvements required to minimize measurement errors.

**Keywords** Droplets, Nebulizers, Direct laminar incidence.

ARAUJO FILHO, W. D.; ARAUJO, L. M. P. **Monodisperse Microbubbles as Drug Carrier Units Having the Olive Oil as the Coating Layer from Devices Manufactured by 3D Printing.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, v. 3, p.00059-00064, 2017.

## Monodisperse microbubbles as drug carrier units having the olive oil as the coating layer from devices manufactured by 3d printing

### Abstract

The use of microbubbles as drug delivery units has attracted much interest since it has been envisaged that a biologically active compound may be brought to localized regions of the body for the treatment of various types of diseases, such as cancer. The microbubbles are brought to the chosen site through the bloodstream, monitored by a transducer which also blows them using ultrasonic pulses, thereby releasing the drug or active principle at the desired location. Such a procedure avoids or minimizes the side effects resulting from conventional treatment, providing a better quality of life to the patient during treatment. This work deals with the generation and monodisperse microbubbles, that is, with a high degree of homogeneity in relation to the physical and morphological characteristics: shape and size. The device was able to generate microbubbles with a mean diameter of 18.76 $\mu$ m with a rate of variation of 1.03 % which characterizes a monodisperse population. The microbubbles generated have the coating layer of lipid nature consisting of olive oil and an associated surfactant, Polysorbate-80, which, due to its amphiphilic properties, forms the bilayer structure of the microbubble. The next step is to attach biologically active compounds extracted from plants from the Brazilian northeastern semi-arid to the microbubbles and initially test in vitro the behavior of tumor cells after the release of the drug through ultrasonic pulses.

**Keywords:** microbubbles, ultrasound, 3D printing

Volume 3 Issue 2 - 2017

Walter Duarte De Araújo Filho,<sup>1</sup> Luciana Martins Pereira De Araújo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Exact and Earth Sciences-Laboratory of Physics (Micro fluidic sector), State University of Bahia, Brazil

<sup>2</sup>CPGEI, Federal Technological University of Paraná (UTFPR), Brazil

**Correspondence:** Walter Duarte De Araújo Filho, Department of Exact and Earth Sciences-Laboratory of Physics (Micro fluidic sector), State University of Bahia, Street Silveira Martins, 2255, Zip zone: 40150-000, Salvador-Bahia, Brazil, Fax +557131172312, Tel +5571992645841, Email wfilho@uneb.br

**Received:** September 01, 2017 | **Published:** September 20, 2017

ARAUJO FILHO, W. D.; ARAUJO, L. M. P. **Low cost device for manufacturing borosilicate micropipettes.** INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT RESEARCH, v. 09, p. 57003, 2017.



ISSN: 0975-833X

Available online at <http://www.journalcra.com>


---

**INTERNATIONAL JOURNAL  
OF CURRENT RESEARCH**


---

*International Journal of Current Research*  
 Vol. 9, Issue, 09, pp.57002-57005, September, 2017
**RESEARCH ARTICLE****LOW COAST DEVICE FOR MANUFACTURING BOROSILICATE MICROPIPETTES**\*<sup>1</sup>Walter Duarte de Araújo Filho and <sup>2</sup>Luciana Martins Pereira de Araújo<sup>1</sup>Department of Exact and Earth Sciences-Laboratory of Physics (Micro fluidic sector), State University of Bahia, Brazil<sup>2</sup>CPGEL, Federal Technological University of Paraná (UTFPR), Brazil**ARTICLE INFO****Article History:**Received 13<sup>th</sup> June, 2017

Received in revised form

14<sup>th</sup> July, 2017Accepted 23<sup>rd</sup> August, 2017Published online 29<sup>th</sup> September, 2017**Key words:**Micropipettes,  
Capillary tubes,  
Low coast.**ABSTRACT**

The manufacture of borosilicate micropipettes is a process based on the heating of a glass tube through a flame or electrical resistance associated with a longitudinal traction of the tube. The heating of the glass makes it malleable which causes it to suffer a linear deformation and consequent reduction of the cross section, allowing the production of micropipettes of internal diameters tip (ID), less than 10µm. borosilicate micropipettes are used in various applications to inject micro-fluids or substances into microstructures. They are used in experiments that involve great precision and rigor and use microscopic amounts of substances notably in Analytical Chemistry and Microbiology. In Microbiology it can be used in IVF (In Vitro Fertilization), i.e., fertilization of the ovum occurs outside the female organism. Particularly in this area, the use of these devices has a high cost due to the high degree of precision and control of the internal dimensions of the part of the micropipettes that encounters the structures, in the specific case the ovule. In this case, the end of the micro capillary (tip or needle) must have rather small dimensions of the order of micrometers. The regular cost of each of these micropipettes is in the range of US\$ 25.00 to US\$ 30.00, which is a factor that costs the cost of the medical procedure highlighted. Aiming to reduce the burden of this operation, a process of manufacturing borosilicate micropipettes with the above characteristics was developed, at a maximum cost of US \$ 0.17, that is, almost two hundred times smaller than the initial cost of a known micropipette. In this article, we will make a brief reference of the manufacturing process and the preliminary results achieved.

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN T. **Powder Sampling and Particle Size Determination**. Elsevier Press, Amsterdam, Netherland. 2003.

ALLEN, T. **Particle Size Measurement - Powder Sampling and Particle Size Measurement**. Volume I, 5th edition, Chapman & Hall, London, 1997.

ALLEN, T. **Particle Size Measurement**. 4th edition, Chapman & Hall, London, 1990.

ALVINE G.F.; RODGERS P.; FITZSIMMONS K.M.; **Disposable jet nebulizers**. How reliable are they. Chest 1992; 101:316-319.

AMARAL, R. L. **Efeito da autocalibração volumétrica para PIV tomográfica no campo de velocidade em uma seção de um riser de um leito fluidizado circulante**. Dissertação de Mestrado. FEQ -UNICAMP. Campinas-SP, 2013a.

AMARAL, R. L. **Efeito da autocalibração volumétrica para PIV tomográfica no campo de velocidade em uma seção de um riser de um leito fluidizado circulante. Apresentação**. FEQ-UNICAMP. Campinas-SP, 2013b.

AMIRAVI, BALANOV I, GORENBERG M, GROSHAR D, LUDER AS. **Nebulizer hood compared to mask in wheezy infants: aerosol therapy without tears!** Arch Dis Child 2003;88:719-723.

ANCOCHEA J, ALFAGEME I. **Terapias respiratorias**. Arch Bronconeumol. 2009;45:2–28.

ANDERSON, P.J., **History of Aerosol Therapy: Liquid Nebulization to MDIs to DPIs**. Respiratory Care. 2005; 50(9):1139.

ANDREW, R.C., **The use of laser diffraction for the evaluation of the aerosol clouds generated by medical nebulizers**. International Journal of Pharmaceutics 115; 1995. 69-78.

ARI A, HESS D, MYERS TR, RAU JL. **A guide to aerosol delivery devices for respiratory therapists**. 2nd ed. Dallas, Texas: American Association for Respiratory Care; 2009.

BENNET WD. **Aerosolized drug delivery: fractional deposition of inhaled particles**. J Aerosol Med 1991;4:223- 229.

BEUSELINCK, L.; GOVERS, G.; POESEN, J.; DEGRAER, G.; FROYEN. **Grain-size analysis by laser diffractometry: comparison with the sieve-pipette method**. Catena. n° 32, 1998. pp. 193-208.

BLACK D.L., MCQUAY M.Q., BONIN M.P., **Laser-based techniques for particle-size measurement: a review of sizing methods and their industrial applications**, Progress in Energy and Combustion Science, 22 (1996), 267-306

BOE, J; DENNIS J,H; O'DRISCOLL BR, BAUER TT, CARONE M, DAUTZENBERG B, et al.; **European Respiratory Society Guidelines Task Force on the use of nebulizers. European Respiratory Society Guidelines on the use of nebulizers.** Eur Respir J. 2001;18:228–42.

BRASIL. **Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde- -DATASUS** [homepage on the Internet]. Brasília: DATASUS [cited 2018 Jun 07]. Available from: <http://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude/tabnet>

BRASIL. **Ministério da Saúde. Portal da Saúde** [homepage on the Internet]. Brasília: Ministério da Saúde [cited 2016 Jul 20]. Programa Farmácia Popular do Brasil. Available from: <http://portal-saude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/sctie/farmacia-popular>.

BROGDEN, RN, MCTAVISH, D. **Budesonide: an updated review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in asthma and rhinitis.** Drugs. 1992;3:375–407.

BS 3406. **Methods for Determination of Particle Size Distribution.** Part 4: Guide to Microscope and Image Analysis Methods. British Standard, 1993.

CAHOON, E.M.; ALMIRALL, J.R.; **Quantitative Analysis of Liquids from Aerosols and Micro drops Using Laser Induced Breakdown Spectroscopy,** Analytical Chemistry. 2012,84, 2239–2244.

CASTLEMAN, K. R. **Digital Image Processing.** Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, 1996.

CARVALHO, T. C.; PETERS, J. I.; WILLIAMS III, R. O. **Influence of particle size on regional lung deposition – What evidence is there?** International Journal of Pharmaceutics, v. 406, p. 110, 2011.

CHAN HK. **Inhalation drug delivery devices and emerging technologies.** Expert Opin Ther Patents. 2003;13:1333–43

CHAN, T.L. AND LIPPMANN, M. **Experimental Measurements and Empirical Modelling of the Regional Deposition of Inhaled Particles in Humans.** *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 41: 399–409, 1980.

COATES A.L et al., **The choice of jet nebulizer, nebulizing flow, and addition of albuterol affects the output of tobramycin aerosols.** Chest 1997; 111:1206–12.

COLLIS G.G.; COLE C.H.; LE SOUEF P.N.; **Dilution of nebulized aerosols by air entrainment in children.** Lancet 1990; 336:341–3.

CONSTANTINO, H. ET AL. **Intranasal delivery: Piscochemical and therapeutic aspects.** International Journal of Pharmaceutics, 337, pp. 1-24, 2007.

CREMERS, D.A. AND L.J. RADZIEMSKI. 2006. **Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy.** John Wiley & Sons, Ltd.

DE BOER, et al., **Characterization of inhalation aerosols: a critical evaluation of cascade impactor analysis and laser diffraction technique.** *International Journal of Pharmaceutics*. 249, 219-231. 2002.

DESSY C, MONIOTTE S, GHISDAL P, HAVAUX X, NOIRHOMME P, BALLI-GAND JL. **Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization.** *Circulation*. 2004;110:948-54.

DEVADASON S.G., et al. **Comparison of drug delivery from conventional versus “Venturi” nebulizers.** *European Respiratory Journal*. 1997; 10:2479-83.

DHAND R. **Nebulizers that use a vibrating mesh or plate with multiple apertures to generate aerosol.** *Respir Care*. 2002;47:1406-16.

DOLOVICH M,B; DHAND R. **Aerosol drug delivery: developments in device design and clinical use.** *Lancet* 2011; 377: 1032-45.

DOLOVICH M. **Measurement of particle size characteristics of metered dose inhalers (MDI) aerosols.** *J Aerosol Med* 1991;4:251-263.

DOLOVICH MB, WOLFF RK, NEWHOUSE MT. **The effects of preferential deposition of histamine in the human airway.** *Am Rev Respir Dis*. 1978 Mar; 117(3):485-92.

DURST F, MELLING A, WHITELAW JH; **“Principles and practice of laser-Doppler anemometry,”** Academic Press (1981).

DYKEWICZ, M.S. et al. **Fluticasone propionate aqueous nasal spray improves nasal symptoms of seasonal allergic rhinitis when used as needed (prn).** *Ann Allergy Asthma Immunol*. 91(1): 44-48, 2003.

EDWARDS, D. A.; et al. **Large porous particles for pulmonary drug delivery.** *Science*, v. 276, n. 5320, p. 1868-1971, jun., 1997.

EGGERS, J.; KEMPKES, M.; MAZZOTTI.M. **Measurement of size and shape distributions of particles through image analysis.** *Chemical Engineering Science* 63 (2008) 5513 – 5521.

FAURISSON F., et al. **Comparative study of the performance and ergonomics of nebulizers in cystic fibrosis.** *Revue Maladies Respiratoires*. 1996; 13:155–62.

FILHO, W. R. et al. **Avaliação da influência da idade e do volume do espaçador na deposição pulmonar de aerossóis.** *Jornal de Pediatria*. 2004; 80(5):387-390.

FLUME P, KLEPSE ME. **The rationale for aerosolized antibiotics.** *Pharmacotherapy*. 2002 Mar; 22(3 Pt 2):71S-79S.

GARDENHIRE DS, BURNETT D, STRICKLAND S, MYERS TR, **A guide to aerosol delivery devices for respiratory therapists**, American Association for Respiratory Care. 4 ed. 2017.

GELLER DE. **New liquid aerosol generation devices: systems that force pressurized liquids through nozzles..** Respir Care. 2002 Dec; 47(12):1392-404; discussion 1404-5.

GESSLER T, SEEGER W, SCHMEHL TJ **Inhaled prostanoids in the therapy of pulmonary hypertension.** Aerosol Med Pulm Drug Deliv. 2008 Mar; 21(1):1-12.

GONZALEZ, R. C; WOODS, R. E. **Digital Image Processing.** Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, second ed., 2002.

GREENE, R. J.; HARRIS, N. D.; **Pathology and therapeutics for pharmacists: A basis for clinical pharmacy practice.** 3. ed. London: Pharmaceutical Press, 2008. 271-364 p.

GRONEBERG DA, NICKOLAUS M, SPRINGER J, DÖRING F, DANIEL H, FISCHER A. **Localization of the peptide transporter PEPT2 in the lung: implications for pulmonary oligopeptide uptake..** Am J Pathol. 2001 Feb; 158(2):707-14.

GRONEBERG DA, WITT C, WAGNER U, CHUNG KF, FISCHER A . **Fundamentals of pulmonary drug delivery.** Respir Med. 2003 Apr; 97(4):382-7.

GUYTON A. C.; Hall J. E. **Textbook of medical physiology.** Elsevier Inc. Philadelphia, Pennsylvania. (2006).

HARDY J.G.; NEWMAN S.P.; KNOCH M.; **Lung deposition from four nebulizers.** Respiratory Medicine (1993) 87,461-465.

HENRY RR, MUDALIAR SR, HOWLAND WC 3rd, CHU N, KIM D, AN B, REINHARDT RR. **Inhaled insulin using the AERx Insulin Diabetes Management System in healthy and asthmatic subjects..** Diabetes Care. 2003 Mar; 26(3):764-9.

HESS D. R. **Nebulizers: Principles and Performance.** Respiratory Care (2000) Vol 45 No 6 609.

HICKEY AJ, editor. **Inhalation aerosols: physical and biological basis for therapy.** New York: Marcel Decker; 1996: 313–335.

HINDS W.C. **Hinds Aerosol Technology.** Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles. New York, Wiley-Inter science, 1982, 442 p.

HINDS WC. **Aerosol technology.** New York: Wiley, 1983.

HO, K.K.L.; KELLAWAY, I.W.; TREDREE, R.L.; **Particle size analysis of nebulized aerosols using Fraunhofer laser diffraction and inertial impaction methods.** Journal of Pharmacy and Pharmacology, 38 (1986) Suppl, 26P.

HUNTZINGER A. ACCP and ACAAI Release **Guidelines on Inhaled Aerosol Therapy for Patients with Pulmonary Disease.** Am Fam Physician 2005; 72(5): 945-52.



HYBL J.D. et al. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Detection and Classification of Biological Aerosols**. Applied Spectroscopy. (2003). Volume 57, Number 10, 2003.

ICRP (1994) **Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection**. ICRP Publication 66. Annals of the ICRP 24(1-3). Elsevier Science Ltd., Oxford.

ILOWITE J.S.; GORVOY J.D.; SMALDONE G.C.; **Quantitative deposition of aerosolized gentamicin in cystic fibrosis**. The American review of respiratory disease. 1987; 136: 1445–9.

JILLAVENKATESA, A., DAPKUNAS, S.J., LIN-SIEN, H.L., 2001, “**Particle Size Characterization**”, National Institute of Standards and Technology Recommended Practice Guide. Special Publication 960-1. pp. 93 – 120.

JONES, M.; MARRON, J.; SHEATHER, S. **A brief survey of bandwidth selection for density estimation**. Journal of the American Statistical Association, [S.l.], p.401–407, 1996.

KASHDAN, T.J; SHRIMPTON, S.J; WHYBREW, A. **A digital Image Analysis Technique for Quantitative Characterization of High-Speed Sprays**. Optics and Lasers in Engineering 45 (2007) 106–115.

KASHDAN, T.J; SHRIMPTON, S.J; WHYBREW, A. **Two-Phase Flow Characterization by Automated Digital Image Analysis**. Part 2: Application of PDIA for Sizing Sprays. Particle & Particle. Systems Characterization. 21 (2004) 15 – 23.

KESTENBACH, H. J.; BOTA FILHO W. J. **Microscopia eletrônica de transmissão e varredura**. São Paulo: ABM, 1994.

KING, R. P. **Measurement of Particle Size Distribution by Image Analyser**, Powder Technol., v.39, p.279-289,1984.

KIPPAX, P. “**Measuring Particle Size Using Modern Laser Diffraction Techniques**”, Paint & Coatings Industry Magazine, v. 21, n. 8, pp. 42-47, 2005.

KNÖSHE, C.; FRIEDRICH, H.; STINTZ, M. **Determination of Particle Size Distribution and Electrokinetic Properties with the AcoustoSizer in Comparison with Other Methods**, Part. Part Syst. Charact. v.14, p.175-180, 1997.

KWONG, W.TJ. H.O L.S.; COATES L. A.; **Comparison of Nebulized Particle Size Distribution with Malvern Laser Diffraction Analyzer versus Andersen Cascade Impactor and Low-Flow Marple Personal Cascade Impactor**. Journal of Aerosol Medicine. Winter 2000, 13(4): 303-314.

LABIRIS, N. R.; DOLOVICH, M. B.; **Pulmonary drug delivery**. Part I: Physiological factors affecting therapeutics effectiveness of aerosolized medications. British Journal of Clinical Pharmacology, v. 56, n. 6, p. 588-599, dez, 2003.

LANGTON, M; HERMANSSON, AM. **Image analysis determination of particle size distribution.** Food Hydrocolloids Vol.7 no.1 pp.11-22, 1993.

LEUNG K, LOUCA E, COATES AL. **Comparison of breath-enhanced to breath-actuated nebulizers for rate, consistency, and efficiency.** Chest. 2004;126:1619-27.

LIPPMANN, M. AND ALBERT, R. E. **The effect of particle size on the regional deposition of inhaled aerosols in the human respiratory tract.** American Industrial Hygiene Association Journal,30,257, 1969.

LOFFERT D.T.; IKLE D.; NELSON H.S.; **A comparison of commercial jet nebulizers.** Chest 1994; 106:1788-1793.

LOUGHEED M.D, et al. Canadian Thoracic Society Asthma Management Continuum – 2010 **Consensus Summary for children six years of age and over, and adults.** Canadian Respiratory Journal. 2010; 17(1):15-24.

MATLAB. *version 8.6.0 (R2015b).* **The MathWorks Inc.**, Natick, Massachusetts (2015).

MATTHYS H. **Nebulizer Possibilities and Limitations.** Journal of Aerosol Medicine Volume 4, Number 3, 1991 Mary Ann Liebert, Inc., Publishers.

MCCAIVE, I.N.; SYVITSKI, J.P.M. **Principles and methods of geological particle size analysis.** In: Principles, Methods, and Application of Particle Size Analysis. SYVITSKI, J.P.M. (ed.). Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press, 1991. pp. 3-21.

MISIOLEK, A.W. PALLESCHI, V., and SCHECHTER, I. eds, **Laser Induced Breakdown Spectroscopy,** Cambridge University Press, Cambridge, 2006.

MITCHELL J.P. **Particle Size Analysis of Aerosols from Medical Inhalers.** KONA No 22 (2004).

MUCHÃO FP, PERÍN SL, RODRIGUES JC, LEONE C, SILVA F LV. **Avaliação sobre o uso de inaladores dosimetrados entre profissionais de saúde de um hospital pediátrico.** J Bras Pneumol. 2008; 34:4-12.

MUERS M,F. **Overview of nebuliser treatment.** Thorax. 1997;52 Supl 2:25–30.

NEWMAN S. **Aerosol deposition considerations in inhalation therapy.** Chest Journal. 1985; 88:152-60.

NEWMAN S.P et al., **Terbutaline sulphate Turbuhaler:** effect of inhaled flow rate on drug deposition and efficacy. International Journal of Pharmacokinetics 1991; 74:209-13.

O'CALLAGHAN C, Barry PW. **The science of nebulised drug delivery.** Thorax. 1997;52:31–44.

O'CONNOR; **Inhaler devices**: compliance with steroid therapy. *Nursing Standard* 2001; 15(48): 40-42. Medline.

O'DONOHUE W; **National Association for Medical Direction of Respiratory Care Consensus Group. Guidelines for the use of nebulizers in the home and domiciliary sites.** *Chest.* 1996;109:814-20.

OLIVEIRA, A.G., **Caracterização da Distribuição do Tamanho de Gotas em Emulsões Água e Óleo Utilizando Diferentes Técnicas de Medição**, Dissertação de MSc., 2010, UNIFEI, Itajubá, MG, Brasil.

PANDEY R.; KHULLER G, K. **Antitubercular inhaled therapy: opportunities, progress and challenges**, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55(4):430-435, 2005.

PATTON, J. S.; BYRON, P. R.; **Inhaling medicines**: delivering drugs to the body through the lungs. *Nature Reviews Drug Discovery.* v. 6, n. 1, p. 67-74, 2007.

PEREIRA LFF, ROSSI JA. **Manual de orientação do tratamento da asma.** *J Pneumol* 1993;19:185-201.

PETERSON, H. T., JR. **The regional deposition of inhaled aerosols in man.** In *Inhaled Particles I*, edited by W. H. Walton, Vol.1, p.105. Unwin, London, 1971.

PILCER, G.; AMIGHI, K.; **Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 392, n. 1-2, p. 1-19, jun., 2010.

PORSTENDÖRFE J.; GEBHART J.; RIÖBIG G.; **Effect of Evaporation on the Size Distribution of Nebulized Aerosols.** *Journal of Aerosol Science.* 1977, Vol. 8, pp. 371 to 380. Pergamum Press. Printed in Great Britain.

PRASOON K., et al. **Laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of micro and Nanoparticles.** *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2012, 27, 1110.

PRASSAD, A. K. **Stereoscopic particle image velocimetry.** *Experiments in Fluids.* Vol 29. 2000.  
RAU J.L., **The inhalation of drugs**: advantages and problems. *Respiratory Care.* 2005; 50:367-82.

RUBIN B,K. **Pediatric Aerosol Therapy: new devices and new drugs.** *Respir Care* 2011; 56(9): 1411-21.

SEINFELD, J.H. **Atmospheric chemistry and physics of air pollution**, John Wiley & Sons, 1986.

SLOMINSKI, C.; NIEDOSTATKIEWICZ, M.; TEJCHMAN, J. Application of particle image velocimetry (PIV) for deformation measurement during granular silo flow. *Powder Technology, Lausanne*, v. 173, n. 1, p. 1-18, 2007.

SMITH E.C.; DENYER J.; KENDRICK A.H.; **Comparison of twenty-three nebulizer/compressor combination for domiciliary use.** *European Respiratory Journal* 1995; 8:1214-1221.

SNIPES, M. B., **Kinetics of inhaled radionuclides.** In *Internal Radiation Dosimetry, Health Physics Society Summer School* (O.G. Raabe, ed.), Medical Physics Publishing, Madison, WI, 1994.

SOUZA L.S.F., **Aerossol terapia na asma da criança.** *Jornal de Pediatria* 1998; 74(3):189-204.

STAHLHOFEN W. GEBBART J.; HEYDER J.; **Experimental determination of the regional deposition of aerosol particles in the human respiratory tract.** *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1980; 41:385- 98.

STECKEL, H.; ESKANDAR, F. **Factors affecting aerosol performance during nebulization with jet and ultrasonic nebulizers.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 19 (2003) 443–455.

STOCKHAM, J. D., FOCHTMAN, E. G. **Particle Size Analysis.** Ann Arbor Science Publishers Inc., Michigan, 1979.

TABATA, Y.; IKADA, Y.; **Effect of the size and surface charge of polymer microspheres on their phagocytosis by macrophage.** *Biomaterials*, v. 9, n. 4, p. 356-362, jul., 1988.

TABURET A.M.; SCHMIT B.; **Pharmacokinetic optimization of asthma treatment.** *Clinical Pharmacokinet* (1994);26(5):396-418.

TECHY. A. **A Importância da Fotografia na Medicina.** *Revista Brasileira Reumatologia*, v. 46, n.3, p. 207-209, 2006.

TELKO, M. J.; HICKEY, A. J.; **Dry powder inhaler formulation.** *Respiratory Care*, v. 50, n. 9, p 1209-1227, set. 2005.

TENA A.F., CLARÀ P.C., **Deposition of Inhaled Particles in the Lungs.** *Arch Bronconeumol.* 2012; 48 (7):240–246.

US EPA – United States Environmental Protection Agency. **Compendium of Methods for the Determination of Inorganic Compounds in Ambient Air: Integrated Sampling of Suspended Particulate Matter in Ambient Air, Overview**, 1999.

WEIBEL ER. **Morphometric estimation of pulmonary diffusion capacity**, I. Model and method. *Respir Physiol.* 1970; 11:54–75.

WHITE S, BENNETT DB, CHEU S. **Pharmaceutical development of a novel product for pulmonary delivery of insulin.** Diabetes Technol Ther. 2005;7:896–906.

WILLEKE K., Baron, P. A. **Aerosol Measurement - Principles, Techniques and Applications.** Van Nostrand Reinhold, New York, 1993.

WILLEKE, K., BARON, P. A. **Aerosol Measurement - Principles, Techniques and Applications.** Van Nostrand Reinhold, New York, 1993.

YANG, W.; PETERS, J. I.; WILLIAMS III, R.; O., **Inhaled nanoparticles – A current review.** Pharmaceutical Nanotechnology, v. 356, n. 1-2, p. 239-247, 2008.

YEO, L.Y. et al. **Ultrasonic nebulization platforms for pulmonary drug delivery.** Expert Opinion on Drug Delivery. (2010)7(6):663-679.

## ANEXO A - CARACTERIZAÇÃO DO DIÂMETRO DAS MICRO GOTAS

**Programa de processamento de imagens para gerar os histogramas com evidência para as faixas das gotículas respiráveis.**

```
function Gotículas
imagem_inicio=0;
imagem_final=149;
for num_imagem=imagem_inicio:imagem_final
tamanho_pixel=100/248;      %Tamanho de cada pixel (microns/pixel)
imagem_processada_sem_extensao=sprintf('Export0000%.6d', num_imagem); %Colocar nome
da imagem a ser processada
imagem_processada=[imagem_processada_sem_extensao '.bmp']; %Colocar nome da imagem a
ser processada
I=imread(imagem_processada);
imagem_padrao1=sprintf('Imagem Padrao.png'); %Colocar nome da imagem padrão
imagem_padrao2=imread(imagem_padrao1);
imagem_original_cortando_rodape_colorida(1:size(I, 1)-20, :, :)=I(1:size(I, 1)-20, :, :);
% imview(imagem_original_cortando_rodape_colorida)
imagem_original=rgb2gray(I);
imagem_padrao=(imagem_padrao2);
% imview(imagem_padrao)
```

```

for i=1:size(imagem_original, 1)-20
    for j=1:size(imagem_original, 2)
        if imagem_padrao(i, j)>imagem_original(i, j)
            if abs(imagem_padrao(i, j)-imagem_original(i, j))<25
                imagem_preto_branco(i, j)=1;
            else
                imagem_preto_branco(i, j)=0;
            end
        else
            if abs(imagem_original(i, j)-imagem_padrao(i, j))<25
                imagem_preto_branco(i, j)=1;
            else
                imagem_preto_branco(i, j)=0;
            end % imview(imagem_preto_branco)
        end
    end
end

imagem=~imagem_preto_branco;
imagem=imfill(imagem, 'holes');
imagem=bwlabel(imagem);
Area=regionprops(imagem, 'area');
Area=struct2array(Area);
% size(Area)
% Area2=Area(Area~=max(Area));
% size(Area2)
% Area3=Area;
Area3=Area(Area>0.2*mean(Area));
% size(Area3)
% Area4=Area3(Area3<2*median(Area3));
% size(Area4)

```

```

for i=1:size(Area, 2)
    if Area(1, i)<0.2*mean(Area)
        for j=1:size(imagem, 1)
            for k=1:size(imagem, 2)
                if imagem(j, k)==i
                    imagem(j, k)=0;
                end
            end
        end
    end

% Area_media=mean(Area3);
%
% Diametro_medio_pixel=(4*Area_media/pi)^0.5;
%
% Diametro_medio=Diametro_medio_pixel*tamanho_pixel
% imview(imagem)
% pause(0.1)
mkdir(imagem_processada_sem_extensao) %Criar uma pasta com o mesmo nome da imagem
nome_imagem_processada=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\Imagem Processada.jpg'];
%Gravar imagem processada na pasta criada
imwrite(imagem, nome_imagem_processada);
nome_imagem_original=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\Imagem Original.jpg']; %Gra-
var imagem original na pasta criada
imwrite(imagem_original_cortando_rodape_colorida, nome_imagem_original);
diametros=(4*Area3/pi).^0.5;
Diametro_medio_pixel=mean(diametros);
Diametro_medio=Diametro_medio_pixel*tamanho_pixel;
distribuicao_diametro=diametros*tamanho_pixel;
distribuicao_aux(:, 1)=distribuicao_diametro(1, :);
nome_pasta_resultados=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\resultados.xls'];

```



```

titulo = {'Diâmetro', ", ", 'Diâmetro médio'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo,'Plan1','A1');
xlswrite(nome_pasta_resultados, distribuicao_aux,'Plan1','A2');
xlswrite(nome_pasta_resultados, Diametro_medio,'Plan1','D2');
    %----- Contar gotas menores que um determinado valor
valor=5.5; %Valor que as gotas devem ser menores
numero_de_gotas=0; %Contador que avaliará quantas gotas são menores que determinado valor

for i=1:size(distribuicao_diametro, 2) %Percorrer todo o vetor procurando bolhas menores que o
valor determinado
    if distribuicao_diametro(i)<=valor
        numero_de_gotas=numero_de_gotas+1;
    end
% numero_de_gotas %Escrever na tela o número encontrado
titulo_2 = {'Número de gotas menores que 5,5 µm'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo_2,'Plan1','D4');
xlswrite(nome_pasta_resultados, numero_de_gotas,'Plan1','D5');
xlswrite(nome_pasta_resultados, '%','Plan1','E6');
xlswrite(nome_pasta_resultados, numero_de_gotas/size(distribuicao_diametro,
2)*100,'Plan1','D6');
titulo_2 = {'Mediana'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo_2,'Plan1','D8');
xlswrite(nome_pasta_resultados, median(distribuicao_diametro),'Plan1','D9');

%----- Criação do histograma em número de bolhas

intervalos=[0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16]; %Colocar aqui o centro de cada intervalo
que deseja que apareça no histograma Obs.: Tomar cuidado com os extremos, pois no primeiro
e ultimo valor as possibilidades são de infinito até eles!

```

```

hist(distribuicao_diametro, intervalos) %Criar o histograma com os intervalos especificados
%--- Colocar outra cor no histograma

hold on

hist_aux=histc(distribuicao_diametro, [0 0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5]);
bar([0 1 2 3 4 5 6], hist_aux, 1, 'r')

%---xlim([0 16]); %Limites do eixo X

% ylim([0 100]); %Limites do eixo Y

set(gca, 'XTick', [0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5]) %Colocar neste vetor os valores que aparecerão no eixo X do histograma

xlabel('Faixa de diâmetro (µm)') %Colocar a legenda do eixo X
ylabel('Número de GOTÍCULAS') %Colocar a legenda do eixo Y

nome_histograma_1=['.\ imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros.png'];
nome_histograma_2=['.\ imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros.emf'];
nome_histograma_3=['.\ imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros.fig'];

saveas(gcf, nome_histograma_1); %Gravar o histograma no formato png
saveas(gcf, nome_histograma_2); %Gravar o histograma no formato emf
saveas(gcf, nome_histograma_3); %Gravar o histograma no formato fig (extensão para ser aberta no Matlab

%-----

%----- Criação do histograma em frequência

intervalos=[0 0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5]; %Colocar aqui as bordas de cada intervalo que deseja que apareça no histograma

freq_aux=histc(distribuicao_diametro, intervalos); %Pegar a quantidade de bolhas em cada intervalo especificado

for i=1:size(freq_aux, 2) %Transformar em uma frequência relativa

    freq(i)=freq_aux(i)/sum(freq_aux);

end

freq(:)=freq(:)*100;

```

```

figure(2)

bar([0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16], freq, 1) %Criar o histograma

%--- Colocar outra cor no histograma

hold on

freq_aux_2(1:6)=freq(1:6);

bar([0 1 2 3 4 5], freq_aux_2, 1, 'r') %Criar o histograma

%---

xlim([0 16]); %Limites do eixo X

% ylim([0 1]); %Limites do eixo Y

set(gca, 'XTick', [0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5]) %Colocar neste vetor os valores que aparecerão no eixo X do histograma

xlabel('Faixa de diâmetro (µm)') %Colocar a legenda do eixo X

ylabel('Frequência relativa (%)') %Colocar a legenda do eixo Y

nome_histograma_1=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros - Frequência.png'];

nome_histograma_2=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros - Frequência.emf'];

nome_histograma_3=['.\' imagem_processada_sem_extensao '\Histograma diâmetros - Frequência.fig'];

saveas(gcf, nome_histograma_1); %Gravar o histograma no formato png

saveas(gcf, nome_histograma_2); %Gravar o histograma no formato emf

saveas(gcf, nome_histograma_3); %Gravar o histograma no formato fig (extensão para ser aberta no Matlab

%-----

close all

clear all

end

```



## ANEXO B - VARIAÇÃO TEMPORAL DO DIÂMETRO DE UM NEBULIZADOR

```

function diametro_tempo

taxa_de_aquisicao = 454; %número de imagens adquiridas por segundo (taxa de aquisição)

primeira_pasta = 0 ;

ultima_pasta = 300 ; %Número que consta na ultima pasta com o nome Export0..., que equivale
ao número da ultima imagem

pasta_raiz=cd;

for p=primeira_pasta:ultima_pasta

    nome_pasta1=sprintf('Export0000%06d',p);

    nome_pasta=['.\' nome_pasta1];

    cd (nome_pasta)

    resultados=xlsread('resultados');

    media_D(p+1)=resultados(1, 4);

    cd (pasta_raiz)

end

for i=1:length(media_D)

    tempo(i)=i/taxa_de_aquisicao;

end

mkdir('0-Resultados_txD')

xlswrite('.\0-Resultados_txD\resultados_txD.xls', {'Tempo (s)', 'Diâmetro médio
(μm)'}, 'Plan1', 'A1');

xlswrite('.\0-Resultados_txD\resultados_txD.xls', tempo, 'Plan1', 'A2');

xlswrite('.\0-Resultados_txD\resultados_txD.xls', media_D, 'Plan1', 'B2');

plot (tempo, media_D, 'k')

ylabel('Diâmetro (μm)') %Colocar a legenda do eixo X

xlabel('tempo (s)') %Colocar a legenda do eixo Y

```

```
saveas(gcf, '\0-Resultados_txD\Gráfico_txD.png'); %Gravar o histograma no formato png
```

## ANEXO C- ELABORAÇÃO DOS HISTOGRAMAS COM DESTAQUE DAS FAIXAS DE PARTÍCULAS RESPIRÁVEIS

```

function fazer_histograma_com_todos_os_pontos
tic,
imagem_inicio=0;
imagem_final=300;
for num_imagem=imagem_inicio:imagem_final
    nome_da_pasta=sprintf('Export0000%.6d', num_imagem); %Nome da pasta
    nome_pasta_resultados=['.\' nome_da_pasta '\resultados.xls']; %Local em que está a planilha
do excel
    [NUMERIC]=XLSREAD(nome_pasta_resultados);
    if num_imagem==imagem_inicio
        distribuicao_diametro_aux(:, 1)=NUMERIC(:, 1);
    else
        distribuicao_diametro_aux(size(distribuicao_diametro_aux, 1)+1:size(distribuicao_diametro_
aux, 1)+size(NUMERIC, 1), 1)=NUMERIC(:, 1);
    end
    clear NUMERIC
end
distribuicao_diametro = distribuicao_diametro_aux';
%----- Gravar o vetor de diâmetros e diâmetro médio
nome_pasta_resultados_finais='1-Resultados Finais';
mkdir(nome_pasta_resultados_finais) %Criar uma pasta para gravar os resultados finais
nome_pasta_resultados=['.\' nome_pasta_resultados_finais '\resultados.xls'];
titulo = {'Diâmetro', ", ", 'Diâmetro médio'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo,'Plan1','A1');
xlswrite(nome_pasta_resultados, distribuicao_diametro_aux,'Plan1','A2');

```

```

xlswrite(nome_pasta_resultados, mean(distribuicao_diametro_aux),'Plan1','D2');
%-----
%----- Contar gotas menores que um determinado valor
valor=5.5; %Valor que as gotas devem ser menores
numero_de_gotas=0; %Contador que avaliará quantas gotas são menores que determinado valor
for i=1:size(distribuicao_diametro, 2) %Percorrer todo o vetor procurando bolhas menores que
o valor determinado
    if distribuicao_diametro(i)<=valor
        numero_de_gotas=numero_de_gotas+1; end
% numero_de_gotas %Escrever na tela o número encontrado
numero_de_gotas_percentual = numero_de_gotas/size(distribuicao_diametro, 2)*100;
mediana = median (distribuicao_diametro_aux);
titulo_2 = {'Número de gotas menores que 5,5 µm'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo_2,'Plan1','D4');
xlswrite(nome_pasta_resultados, numero_de_gotas,'Plan1','D5');
xlswrite(nome_pasta_resultados, '%','Plan1','E6');
xlswrite(nome_pasta_resultados, numero_de_gotas_percentual,'Plan1','D6');
titulo_2 = {'Mediana'};
xlswrite(nome_pasta_resultados, titulo_2,'Plan1','D8');
xlswrite(nome_pasta_resultados, mediana,'Plan1','D9');
%-----
%----- Criação do histograma em número de bolhas
Intervalos =[0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20]; %Colocar aqui o centro de
cada intervalo que deseja que apareça no histograma Obs.: Tomar cuidado com os extremos,
pois no primeiro e ultimo valor as possibilidades são de infinito até eles!
hist(distribuicao_diametro, intervalos) %Criar o histograma com os intervalos especificados
%--- Colocar outra cor no histograma
hold on

```



```

hist_aux=histc(distribuicao_diametro, [0 0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5]);
bar([0 1 2 3 4 5 6], hist_aux, 1, 'r')

%---

xlim([0 20]); %Limites do eixo X

% ylim([0 100]); %Limites do eixo Y

set(gca, 'XTick', [0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5 16.5 17.5
18.5 19.5]) %Colocar neste vetor os valores que aparecerão no eixo X do histograma

xlabel('Faixa de diâmetro (µm)') %Colocar a legenda do eixo X

ylabel('Número de GOTÍCULAS') %Colocar a legenda do eixo Y

nome_histograma_1=['.\ nome_pasta_resultados_finais 'Histograma diâmetros.png'];
nome_histograma_2=['.\ nome_pasta_resultados_finais 'Histograma diâmetros.emf'];
nome_histograma_3=['.\ nome_pasta_resultados_finais 'Histograma diâmetros.fig'];

saveas(gcf, nome_histograma_1); %Gravar o histograma no formato png
saveas(gcf, nome_histograma_2); %Gravar o histograma no formato emf

saveas(gcf, nome_histograma_3); %Gravar o histograma no formato fig (extensão para ser
aberta no Matlab

%-----

%----- Criação do histograma em frequência

intervalos=[0 0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5 16.5 17.5 18.5
19.5]; %Colocar aqui as bordas de cada intervalo que deseja que apareça no histograma

freq_aux=histc(distribuicao_diametro, intervalos); %Pegar a quantidade de bolhas em cada inter-
valo especificado

for i=1:size(freq_aux, 2) %Transformar em uma frequência relativa

    freq(i)=freq_aux(i)/sum(freq_aux);

end

freq(:)=freq(:)*100;

figure(2)

bar([0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20], freq, 1) %Criar o histograma

%--- Colocar outra cor no histograma

```

```

hold on

freq_aux_2(1:6)=freq(1:6);

bar([0 1 2 3 4 5], freq_aux_2, 1, 'r') %Criar o histograma

%---

xlim([0 20]); %Limites do eixo X

% ylim([0 1]); %Limites do eixo Y

set(gca, 'XTick', [0.5 1.5 2.5 3.5 4.5 5.5 6.5 7.5 8.5 9.5 10.5 11.5 12.5 13.5 14.5 15.5 16.5 17.5 18.5 19.5]) %Colocar neste vetor os valores que aparecerão no eixo X do histograma

xlabel('Faixa de diâmetro (µm)') %Colocar a legenda do eixo X

ylabel('Frequência relativa (%)') %Colocar a legenda do eixo Y

nome_histograma_1=['.\ nome_pasta_resultados_finais \Histograma diâmetros - Frequência.png'];

nome_histograma_2=['.\ nome_pasta_resultados_finais \Histograma diâmetros - Frequência.emf'];

nome_histograma_3=['.\ nome_pasta_resultados_finais \Histograma diâmetros - Frequência.fig'];

saveas(gcf, nome_histograma_1); %Gravar o histograma no formato png

saveas(gcf, nome_histograma_2); %Gravar o histograma no formato emf

saveas(gcf, nome_histograma_3); %Gravar o histograma no formato fig (extensão para ser aberta no Matlab

%-----

close all

clear all

toc

return

```