

POLI TÉCNICO GUARDA

Escola Superior de Saúde

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE INTEGRAÇÃO À VIDA PROFISSIONAL
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE LICENCIADO(A) EM FARMÁCIA

Inês Alves Pinto
Julho / 2023

Escola Superior de Saúde

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE INTEGRAÇÃO À VIDA PROFISSIONAL

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE LICENCIADO(A) EM FARMÁCIA

Professora Orientador(a): Paula Isabel Teixeira Gonçalves Coutinho Borges (Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais) e Carla Sandra Mota Castro (Laboratório Nacional do Medicamento)

Supervisor(a): Telma Maria Andrade Jacinto (Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais) e Francisco Alexandre Correia Sampaio (Laboratório Nacional do Medicamento)

Inês Alves Pinto

Julho / 2023

AGRADECIMENTOS

A realização dos Estágios de Integração à Vida Profissional relatados no presente relatório nunca seria possível sem a existência de alguns intervenientes. *Infra*, gratifico todos aqueles que permitiram e contribuíram para esta última realização profissional em contexto académico.

Relativamente ao primeiro estágio, cabe-me agradecer, previamente, à excelentíssima Professora Doutora Paula Coutinho pela oportunidade que me concedeu. Em segundo lugar, a toda a equipa do Centro de Potencial e Inovação de Recurso Naturais, em especial à minha supervisora, a Mestre Telma Jacinto, que desde o primeiro dia estive disposta a acompanhar-me, esclarecerem todas as minhas dúvidas, transmitir-me os seus conhecimentos e ouvir as minhas ideias tendo-as sempre em consideração.

Quanto ao segundo estágio, agradeço a todos os trabalhadores com quem tive o privilégio de me cruzar e aprender. Deixo um especial obrigada aos trabalhadores do setor do Controlo de Qualidade, com quem partilhei a maior parte do tempo de estágio: ao Major Sampaio pela simpatia e preocupação em saber se tudo decorria dentro do planeado e se a experiência se verificava uma mais-valia para o meu sucesso profissional; à Dra. Filipa e à Dra. Andreia pela paciência, pelo tempo investido nas explicações de todos os procedimentos e pelos bons momentos passados no laboratório de Química; ao Alferes Gaspar e à Dra. Sara, pela transmissão dos conhecimentos da área da Microbiologia e pela autonomia que me concederam na realização de muitos dos processos laboratoriais; à Engenheira Gabriela e ao Dr. Gustavo, pela explicação do circuito dos produtos dentro do laboratório.

Por fim, agradeço à minha família e ao meu namorado por me ouvirem, apoiarem e incentivarem a dar sempre o meu melhor e nunca desistir de seguir os meus sonhos.

A todos, o meu mais sincero obrigada!

RESUMO

Os estágios curriculares apresentam-se como o primeiro contacto com a futura atividade profissional dos alunos universitários e permitem não só aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do percurso académico, como também aprofundar gostos e direcionar o aluno para o futuro que mais lhe agrada.

O presente relatório foi realizado no âmbito da unidade curricular “Estágio de Integração à Vida Profissional”, integrada no plano curricular do 4.º ano da licenciatura em Farmácia da Escola Superior de Saúde da Guarda, instituição que integra o Instituto Politécnico da Guarda.

A vontade de contactar com todas as minhas futuras possibilidades, a nível profissional, levaram-me a realizar estes últimos estágios curriculares nas áreas de investigação e de indústria, áreas não muito mencionadas ao longo do curso.

No capítulo I serão descritas as atividades desenvolvidas entre 31 de outubro de 2022 e 20 de janeiro de 2023, no Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais.

O capítulo II será destinado à apresentação das atividades desenvolvidas no Laboratório Nacional do Medicamento, entre 23 de janeiro de 2023 e 18 de abril de 2023.

No final dos estágios, foram feitas 714 horas, das quais 350 horas no Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais e 364 horas no Laboratório Nacional do Medicamento.

ABSTRACT

Curricular internships are the first contact with the future professional activity of university students, allowing them not only to apply the theoretical knowledge acquired throughout the academic career, but also to experiment and direct the student towards the future that best suits him/her.

This report was made within the curricular unit "Internship in Professional Life Integration", integrated in the curricular plan of the 4th year of the Pharmacy degree of the Escola Superior de Saúde da Guarda, an institution that is part of the Polytechnic Institute of Guarda.

The will to have contact with all my future possibilities, at a professional level, led me to do these last curricular internships in the areas of research and industry, areas not often mentioned throughout the course.

In chapter I will be described the activities developed between October 31, 2022 and January 20, 2023, in the Center of Potential and Innovation of Natural Resources

Chapter II will be devoted to the presentation of the activities developed at the National Medicines Laboratory, between January 23, 2023 and 18 of April, 2023.

At the end of the internships, 714 hours were worked, in which 350 hours at the Center for Potential and Innovation of Natural Resources and 364 hours at the National Drug Laboratory.

ABREVIATURAS E SIGLAS

AGal - Ácido galacturónico

AGlu - Ácido glucurónico

BPB - Agar Base Baird Parker

CPIRN - Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais

FCE – Farmácia Central do Exército

FDA - Food and Drug Administration

FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourie

IPG – Instituto Politécnico da Guarda

LM – Laboratório Nacional do Medicamento

LMPQF – Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos

McA - MacConkey Agar

McB - MacConkey Broth

MiADrugTox - Use of MicroAlgae in Drug in Toxications: a new solution

rpm - Rotação por minuto

SDA - Sabouraud Dextrose Ágar

SFG – Simulado de fluído gástrico

SFI – Simulado de fluído intestinal

SICAD – Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e Dependências

TSB - Trypticase Soy Broth

ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO 1 – CENTRO DE CENTRO DE POTENCIAL E INOVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS	12
INTRODUÇÃO	12
1. MATERIAIS E MÉTODOS	13
1.1. REAGENTES.....	13
1.2. DESENVOLVIMENTO DE UM GEL COM GELIFICAÇÃO IN SITU	13
1.3. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	17
1.4. AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO GEL NOS SIMULADOS DE FLUÍDO GÁSTRICO E INTESTINAL	18
1.5. DETERMINAÇÃO DA DEGRADAÇÃO	18
1.6. DETERMINAÇÃO DO PH.....	19
1.7. DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE	20
1.8. DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE.....	20
1.9. SWELLING	21
1.10. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO GEL POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	21
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
2.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉTICAS.....	22
2.2. COMPORTAMENTO DO GEL NOS SIMULADOS DE FLUÍDO GÁSTRICO E INTESTINAL.....	24
2.3. DEGRADAÇÃO	26
2.4. PH	27
2.5. VISCOSIDADE	28
2.6. POROSIDADE.....	29
2.7. SWELLING	30
2.8. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO GEL.....	32
CONCLUSÃO	34
CAPÍTULO 2 – LABORATÓRIO MILITAR	36
INTRODUÇÃO	36
1. APRESENTAÇÃO DO LABORATÓRIO NACIONAL DO MEDICAMENTO	37
2. DEPARTAMENTO DA INDÚSTRIA	38
2.1. DESIGNAÇÃO DOS PRODUTOS PRODUZIDOS.....	38
2.2. SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO	38
2.3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO DECORRER DO ESTÁGIO	38
2.2.1. Solução oral de metadona em frascos de 1 L	38

2.2.2. Solução oral de metadona em saquetas de 15 ml.....	39
2.2.3. Cápsulas de isoniazida	40
2.2.4. Cápsulas de Virbagesst	41
3. DIVISÃO DO CONTROLO DE QUALIDADE.....	42
3.1. ESTRUTURA.....	42
3.2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO DECORRER DO ESTÁGIO	43
3.2.1. Gabinete de apoio técnico administrativo.....	43
3.2.2. Laboratório de ensaios químicos.....	43
3.2.2.1. Calibração das balanças	43
3.2.2.2. Testes de qualidade.....	43
3.2.2.2.1. Ácido cítrico	44
3.2.2.2.2. Citrato de sódio.....	46
3.2.2.2.3. Cloreto de potássio 5%	46
3.2.2.2.4. Hidrocloridrato de metadona	50
3.2.2.2.5. Isoniazida.....	50
3.2.2.2.6. Salicilato de metilo	51
3.2.2.2.7. Solução oral cloridrato de metadona 1%, frascos de 1L.....	52
3.2.2.2.8. Solução oral cloridrato de metadona, saquetas de 15 ml	53
3.2.2.2.9. Xarope comum.....	53
3.2.3. Laboratório de microbiologia	54
3.2.3.1. Limpeza de material.....	54
3.2.3.2. Avaliação de meios de cultura	55
3.2.3.3. Cloridrato de metadona saquetas de 15 ml.....	56
3.2.3.4. Água de consumo humano	58
4. PONTOS FORTES E PONTOS FRACOS DO ESTÁGIO	60
CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1	
<i>Medidor de pH</i>	19
Figura 1-2	
<i>Paquímetro digital eletrónico</i>	21
Figura 1-3	
<i>Ensaio das características organoléticas</i>	22
Figura 1-4	
<i>Reavaliação das características organoléticas</i>	23
Figura 1-5	
<i>Ensaio da degradação</i>	26
Figura 1-6	
<i>Teste de viscosidade</i>	29
Figura 1-7	
<i>Ensaio da porosidade</i>	30
Figura 1-8	
<i>Ensaio de swelling</i>	32
Figura 1-9	
<i>Resultados FTIR</i>	33
Figura 2-1	
<i>Colocação de lote e validade na embalagem secundária</i>	39
Figura 2-2	
<i>Equipamento de rotulagem</i>	39
Figura 2-3	
<i>Máquina de enchimento de saquetas</i>	40
Figura 2-4	
<i>Máquina de enchimento de cápsulas</i>	41
Figura 2-5	
<i>Máquina de enchimento de frascos</i>	41
Figura 2-6	
<i>Identificação A do ácido cítrico</i>	44
Figura 2-7	
<i>Identificação C do ácido cítrico</i>	45
Figura 2-8	
<i>Titulador automático</i>	45

Figura 2-9	
<i>Titulação ácido cítrico</i>	45
Figura 2-10	
<i>Identificação A do citrato de sódio</i>	46
Figura 2-11	
<i>Medidor de pH e de condutividade</i>	47
Figura 2-12	
<i>Densímetro</i>	47
Figura 2-13	
<i>Viscosímetro 1</i>	48
Figura 2-14	
<i>Precipitado branco</i>	48
Figura 2-15	
<i>Centrifugador</i>	49
Figura 2-16	
<i>Resultado teste de identificação A: identificação de cloretos</i>	49
Figura 2-17	
<i>Identificação B: identificação do potássio</i>	49
Figura 2-18	
<i>Equipamento de ponto de fusão e ebulição</i>	50
Figura 2-19	
<i>Aparência da solução</i>	51
Figura 2-20	
<i>Aparência do salicilato de metilo</i>	52
Figura 2-21	
<i>Contagem de colónias</i>	56
Figura 2-22	
<i>Esquema da pesquisa da E.coli</i>	56
Figura 2-23	
<i>Sistema de filtração</i>	57
Figura 2-24	
<i>Cassetes de TSB</i>	58
Figura 2-25	
<i>Vitek</i>	59

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-1

Formulações testadas..... 16

Tabela 1-2

Comportamento do gel nos simulados de fluído gástrico e intestinal 24

Tabela 1-3

Avaliação do pH..... 28

Tabela 2-1

Parâmetros microbiológicos indicadores..... 59

CAPÍTULO 1 – CENTRO DE CENTRO DE POTENCIAL E INOVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS

INTRODUÇÃO

O Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais (CPIRN) é um laboratório de investigação pertencente ao Instituto Politécnico da Guarda (IPG) que, integrando uma equipa de investigadores dotados de conhecimentos de diversas áreas científicas, tem a capacidade de produzir biomateriais, realizar bio análises, ensaios *in vitro* e contribuir para o desenvolvimento farmacêutico (Instituto Politécnico da Guarda, 2022).

Em parceria com empresas regionais, o CPIRN desenvolve produtos provenientes de recursos naturais para dar resposta aos desafios apresentados pela área agroalimentar, cosmética, farmacêutica e biotecnológica.

Atualmente, o CPIRN encontra-se a desenvolver projetos como o “MiADrugTox - Uso de microalgas em intoxicações medicamentosas: uma nova solução” e o “Projeto SERIVITRO - Hidrogel de SERIcina para desenvolver modelos 3D in VITRO”.

A pensar no desenvolvimento profissional dos alunos do IPG, o CPIRN, para além de abrir as suas portas para receber estágios curriculares, disponibiliza também estágios de verão e bolsas de investigação. Com estas iniciativas, os futuros profissionais têm a oportunidade de integrar e aprender com equipas multidisciplinares e, bem assim, enriquecer e aperfeiçoar os seus conhecimentos.

O presente relatório visa descrever as atividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular, cujo principal objetivo foi o desenvolvimento de uma formulação gel gastroresistente apta para administração por via oral. Desta forma, as características do gel em condições simuladas do trato gastrointestinal foram avaliadas usando um simulado de fluído gástrico (SFG) e simulado de fluído intestinal (SIF).

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. REAGENTES

O alginato de sódio (CAS: 9005-38-3, Lote: 3O008127, Código do produto: A3249,1000) foi obtido na BioChemical. O cloreto de cálcio di-hidratado (CAS: 10035-04-8, Lote: 14686202, Ref: CA01941000) foi adquirido na Scharlau. O citrato de sódio tribásico di-hidratado (CAS: 6132-04-3, Código do produto: A3901, Número EC: 200-675-3, Número de registo: 01-2119457027-40-XXXX) foi adquirido na Panreac. A goma gelana (CAS: 71010-52-1, Lote: U31F018, EINECS: 275-117-5) foi obtida na Alfa Aesar. A pectina (Lote:0071639, Análise: QC-00190431, Código do produto: 93732) foi adquirida na Guinama. Glucomanano de kojac (CAS: 76081-94-2, Lote:000020331) foi obtido na Pure Series. O fosfato de potássio monobásico (CAS: 7778-77-0, Número do produto: 04248) e o cloreto de sódio (CAS: 7647-14-5, Lote: 349101, Código do produto: 610127-1000, Número CE: 231-598-3) foram adquiridos na Honeywell. O hidróxido de sódio lentilhas (CAS: 1310-73-2, Lote: 160620, EINECS: 215-185-5) foi adquirido na LabChem. O ácido clorídrico 37% (CAS: 7647-01-0, Lote: 2176354, EINECS: 232-554-6, Código do produto: H/1200/PB15) foi obtido na VWR. A pancreatina (CAS: 8049-47-6, Lote: NDTBO-Q0, Número do produto: P0636) foi adquirida na Tokyo Chemical Industry. A gelatina (CAS: 9000-70-8, Número EC: 232-554-6, Código do produto: TC041-500G, Código HS: 3503 00 10) foi adquirida na HIMEDIA.

1.2. DESENVOLVIMENTO DE UM GEL COM GELIFICAÇÃO IN SITU

Uma vez que o objetivo do estágio era a produção de um gel de administração oral, optou-se pela utilização dos polímeros de origem natural: alginato de sódio, citrato de sódio, cloreto de cálcio, gelatina, glucamano de konjac, goma gelana e pectina, cuja aplicação como excipientes em formulações se encontra autorizada pela FDA.

O alginato de sódio é polissacarídeo linear aniónico, composto por resíduos dos ácidos manurónico e glucurónico (AGlu) (Kulkarni et al., 2010; G. Ma et al., 2012), extraído da parede celular de algumas algas castanhas como, por exemplo, *Laminaria digitata* (Otterlei et al., 1991), *Durvillaea antarctica* (Hussain et al., 2017) e *Turbinaria conoides* (W. Wang & Wang, 2010). Este polímero de origem natural é sensível ao pH, hidrofílico, biocompatível e não imunogénico (Hodsdon et al., 1995; Otterlei et al., 1991; W. Wang & Wang, 2010). Devido às suas propriedades, o alginato de sódio tem sido utilizado em várias áreas, designadamente no tratamento de águas residuais, na engenharia de tecido e como biomaterial na medicina regenerativa (Morais, 2019; J. Sun & Tan, 2013; Thakur et al., 2018).

O citrato de sódio é um ácido orgânico proveniente do ácido cítrico que apresenta bastante solubilidade em água e insolubilidade em álcool (National Center for Biotechnology Information, 2023). Na indústria alimentar, é utilizado como conservante na produção de laticínios e como regulador da acidez na produção de refrigerantes cítricos (METACHEM, 2022). Já na área da saúde, o citrato de sódio pode ser utilizado como agente alcalinizante em indivíduos com acidose metabólica. Ao ser absorvido, o composto é metabolizado em bicarbonato que tem a capacidade de formar ligações com o excesso de íons de hidrogénio presentes no sangue. Posteriormente, o composto é excretado, originando, em consequentemente, a alcalinização da urina (Johnson & Hillier, 2007; National Center for Biotechnology Information, 2023). Para além disso, o citrato de sódio pode ser utilizado como agente anticoagulante, uma vez que o aumento de sódio livre, resultante da metabolização do citrato de sódio, conduz ao aumento do volume sanguíneo intravascular (Johnson & Hillier, 2007; National Center for Biotechnology Information, 2023; NCIthesaurus, 2023).

O cloreto de cálcio é um composto químico formado por cálcio e cloro, altamente solúvel em água e com capacidade de absorver a humidade presente no meio ambiente envolvente (Dionisio et al., 2018). A sua fácil disponibilidade e o preço acessível fazem com que este composto inorgânico seja utilizado em bastantes aplicações (S. Sharma et al., 2004). A sua capacidade deliquescente faz com que seja aplicado como dessecante em equipamentos de aquecimento/arrefecimento do ar e em desumidificadores (Bansal et al., 2011; Daou et al., 2006; Sultan, 2004; Thoruwa et al., 1996). Outros estudos comprovaram a capacidade do cloreto de cálcio de aumentar o tempo de armazenamentos de frutas como o pêsego, a maçã e o limão salvaguardando a sua qualidade (Frempong et al., 2022; Gupta et al., 2011; Sams et al., 2019).

A gelatina é um polímero natural obtido pela hidrólise do colagénio extraído de tecidos lisos, ossos e peles de animais, tais como vacas, porcos, aves, rãs e peixes (Abedinia et al., 2017; Karnjanapratum et al., 2017; Kumosa et al., 2018; Lv et al., 2019; Nik Muhammad et al., 2018; Sultana et al., 2018). Um dos setores que mais utiliza a gelatina é a indústria alimentar. Devido à sua capacidade de gelificação a gelatina é utilizada na produção de sobremesas e produtos enlatados (Alipal et al., 2021; Calvarro et al., 2016; Mariod & Adam, 2013). Para além disso, segundo Pang et al. (2014), a gelatina pode ser benéfica na digestão de produtos lácteos. A gelatina é ainda utilizada na área da saúde para produzir diversos biomateriais (como hidrogéis para restauração da barreira hematoencefálica após a ocorrência de uma lesão cerebral aguda), para revestir implantes ortopédicos ou nanopartículas para o encapsulamento de fármacos (Adam et al., 2013; Alipal et al., 2021; Kumosa et al., 2018; K. Ma et al., 2016).

O glucamano de konjac é um polissacarídeo constituído por glicose, manose e grupos acetil, extraído da planta Konjac (J. Sun et al., 2020; L. Wang et al., 2019; Ye et al., 2021). O glucamano de konjac tem sido bastante utilizado na biomedicina devido à sua biocompatibilidade (Lin et al., 2020). O glucamano de konjac tem sido estudado para o desenvolvimento de curativos para feridas e para o desenvolvimento de scaffolds para aplicação no tratamento de tecido ósseo (Chen et al., 2018; Kanniyappan et al., 2020; Zhao et al., 2023). Além disso, o glucamano de konjac tem sido utilizado na criação de sistemas de administração direcionada de fármacos: Xu et al. (2022) desenvolveu nanopartículas de administração oral carregadas com insulina e responsivas aos níveis de glicémia; por sua vez, Wang et al. (2022) estudou a eficácia de nanopartículas carregadas com curcumina para a libertação direcionada no intestino, tendo a produção de micropartículas para aplicação na terapia da tuberculose sido também estudada (Guerreiro et al., 2019, 2021).

A goma gelana é um tetrassacarídeo linear composto por glicose, ácido glucurónico, ramnose, glicerato e acetato, segregado pela bactéria *Sphingomonas elodea* (Kuo et al., 1986; Oms-Oliu et al., 2008). Devido à sua capacidade de formar um gel na presença de catiões de potássio, cálcio, sódio e magnésio, a goma gelana tem sido utilizada na indústria alimentar para o fabrico de revestimentos comestíveis (Yang & Paulson, 2000). Ao serem preparados com agentes antioxidantes e antimicrobianos, os revestimentos comestíveis permitem manter a qualidade de frutas frescas cortadas, como maçãs, peras e melões (Oms-Oliu et al., 2008; Perez-Gago et al., 2005; Robles-Sánchez et al., 2013; Rojas-Graü et al., 2008).

A pectina é um polissacarídeo aniónico solúvel em água, presente na parede celular das plantas (Martau et al., 2019). Este composto desempenha um papel importante no crescimento e desenvolvimento destes seres vivos, dotando-os de resistência mecânica e envolvendo-os com uma barreira protetora contra o meio ambiente (W. Wang et al., 2018). A nível industrial, este composto pode ser extraído de subprodutos da indústria alimentar, nomeadamente das cascas de frutos cítricos, manga, kiwi, melão, melancia e romã (Karbus & Tugrul, 2021; X. Ma et al., 2020; Moorthy et al., 2015; Petkowicz et al., 2017; Raji et al., 2017; Rojas et al., 2020; W. Wang et al., 2018). Este polissacarídeo apresenta uma estrutura complexa formada por homogalacturonana, ramnogalacturonana I e II e xilogalacturonana ligados a uma cadeia linear de ácido galacturónico (GalA) (X. Ma et al., 2020; Tian et al., 2023). Devido aos seus numerosos grupos funcionais e por ser considerada um produto seguro, atóxico, barato e de fácil obtenção, a pectina tem sido utilizada para diversas funcionalidades (Martau et al., 2019). Na indústria alimentar é utilizada como agente gelificante na produção de geleias, doces,

sobremesas e sumos de fruta (Celus et al., 2018; Espitia et al., 2014; Jindal et al., 2013; X. Ma et al., 2020; D. Sun et al., 2020). No setor da saúde, a pectina tem sido estudada para a produção de biomateriais para a cicatrização de feridas, entrega de fármacos e genes, redução do colesterol, desenvolvimento de lentes de contacto, atuação como agente anticancerígeno (Espitia et al., 2014; López-Mata et al., 2018; Martau et al., 2019; Maxwell et al., 2012; Munarin et al., 2012; Ullah et al., 2019).

As formulações testadas com estes polímeros encontram-se sumariadas na **Tabela 1-1**.

Tabela 1-1
Formulações testadas

		Alginato de sódio (m/v)	Goma gelana (m/v)	Gelatina (m/v)	Glucamano de konjac (m/v)	Pectina (m/v)	Cloreto de cálcio (m/v)	Citrato de sódio (m/v)
Nomenclatura das formulações	F1	2%					0,1%	
	F2	2%					0,2%	
	F3	2%					0,3%	
	F4	2%					0,4%	
	F5	2%					0,5%	
	F6	2%					0,25%	
	F7	2%					0,125%	
	F8		1%				0,016%	0,17%
	F9		0,5%				0,016%	0,17%
	F10		0,25%				0,016%	0,17%
	F11	0,5%	1%				0,016%	0,17%
	F12	0,25%	1%				0,016%	0,17%
	F13		1%	0,1%			0,016%	0,17%
	F14		1%	0,25%			0,016%	0,17%
	F15		1%				0,010%	0,10%
	F16	0,5%			1%		0,016%	0,17%
	F17	0,5%			1%		0,032%	0,34%
	F18				1%		0,016%	0,17%
	F19	0,5%					1%	0,17%
	F20	0,5%					1%	0,34%

Para as formulações de F1 a F7, a solução de alginato foi adicionada à solução de cloreto de cálcio, sobre agitação, conforme procedimento descrito por Tahtat et al. (2017).

As formulações F8, F9, F10 e F15 foram elaboradas de acordo com o estudo de Kubo et al. (2003), com algumas modificações. A goma gelana em diferentes concentrações (0,25% (m/v) a 1% (m/v)) foi preparada numa solução de citrato de sódio (0,17% m/v) a 90°C. Após dissolução total da goma gelana, a temperatura foi reduzida para 40° C e adicionou-se a solução de cloreto de cálcio (0,016% m/v) previamente preparada.

As formulações de F11 a F14 foram elaboradas de acordo com o estudo de Kubo et al. (2003), com algumas modificações. A goma gelana (1% (m/v)) foi preparada numa solução de citrato de sódio (0,17% (m/v)) a 90°C. Após dissolução total da goma gelana, a temperatura foi reduzida para 40° C e adicionou-se alginato de sódio (0,5% (m/v) e 0,25% (m/v)) (F11 e F12) e gelatina (0,1% (m/v) e 0,25% (m/v)) (F13 e F14). Verificando-

se a dissolução total destas substâncias, acrescentou-se a solução de cloreto de cálcio (0,016% (m/v)) previamente preparada.

Para a preparação das formulações F16 e F17 e seguindo o protocolo de Santos et al. (2020), com algumas modificações, o glucamano de konjac (1% (m/v)) foi dissolvido, sobre agitação, a 90°C, numa solução de citrato de sódio (0,17% (m/v) e 0,34% (m/v)) previamente preparada. Após a dissolução total do glucamano de konjac, a temperatura foi reduzida para 40°C e adicionou-se alginato de sódio (0,5% (m/v)). Após a sua dissolução acrescentou-se a solução de cloreto de cálcio anteriormente preparada com concentração de 0,016% (m/v) e 0,032% (m/v), respetivamente.

Para a preparação da formulação F18 e seguindo o protocolo de Santos et al. (2020), com algumas modificações, o glucamano de konjac (1% (m/v)) foi dissolvido a 90°C, sobre agitação, numa solução de citrato de sódio (0,17% (m/v)), previamente preparada. Após dissolução total, a temperatura foi reduzida para 40°C e adicionou-se a solução de cloreto de cálcio anteriormente preparada com concentração de 0,016% (m/v).

As duas últimas formulações (F19 e F20) foram preparadas de acordo com o estudo de Itoh et al. (2006), com algumas modificações. A pectina (1% (m/v)) foi preparada numa solução de citrato de sódio (0,17% (m/v) e 0,34% (m/v)) a 40°C. Após a dissolução total da pectina, adicionou-se alginato de sódio (0,5% (m/v)). Verificando-se a dissolução total desta substância, acrescentou-se a solução de cloreto de cálcio (0,016% (m/v) e 0,032% (m/v)) previamente preparada.

1.3. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

A eficácia de administração de uma formulação oral encontra-se diretamente relacionada com a capacidade de deglutição do paciente. Esta é afetada em diferentes situações clínicas, nomeadamente em caso de intoxicações medicamentosas (Hofmanová et al., 2019), estados de perda de consciência (Hofmanová et al., 2019), disfunção motora consequente da ocorrência de um episódio de Acidente Vascular Cerebral (Sá et al., 2023) ou apresentação de patologias como a esofagite eosinofílica (Miret-Salvador et al., 2022). Nestes casos, as formulações líquidas são as que apresentam uma administração mais fácil, porém, também apresentam risco de aspiração (Hofmanová et al., 2019; Walsh et al., 2018).

Atualmente, o gel fluído tem demonstrado possuir propriedades físico-químicas adequadas para administrar medicamentos a pacientes com disfagia, reduzindo, assim, o risco de aspiração e engasgo (Abd Aziz et al., 2022; Newman et al., 2016).

Após produção, o aspeto das formulações foi avaliado macroscopicamente, a “olho nu”.

1.4. AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO GEL NOS SIMULADOS DE FLUÍDO GÁSTRICO E INTESTINAL

Com o objetivo de avaliar o comportamento do gel no organismo humano, e tendo como base o ponto 5.17.1. da Farmacopeia Europeia 10.0 (Direção Europeia da Qualidade dos Medicamentos e Cuidados de Saúde, 2022), foi preparado SFG, com pH 1,6 e constituído por cloreto de sódio e ácido clorídrico e SFI, a pH 6,8 contendo hidróxido de sódio, fosfato de potássio monobásico e pancreatina.

O comportamento das formulações produzidas, foi testado através da adaptação do procedimento de Durán-Lobato et al. (2016).

Foi pipetado 1 ml das formulações para um tubo de centrifugação contendo 10 ml de SFG. Os tubos de centrifugação foram colocados no orbital (Incubator Hood TH 15 da Edmund buhler) a 37°C e 75 rpm. A reticulação ou degradação das formulações foi analisada após contacto e após 2 horas.

As formulações que gelificaram e resistiram ao fluído gástrico, durante 2 horas, foram posteriormente transferidas para um tubo de centrifugação contendo 10 ml de SFI e colocadas no orbital (Incubator Hood TH 15 da Edmund buhler) nas mesmas condições. Realizou-se nova avaliação de existência de reticulação ou degradação após contacto e decorridas 2 horas.

1.5. DETERMINAÇÃO DA DEGRADAÇÃO

De forma a avaliar a resistência e gelificação do gel em contacto com o pH ácido (simulado do ambiente gástrico) e verificar a sua degradação em contacto com o pH básico (ambiente intestinal), o perfil de degradação das formulações foi estudado recorrendo aos simulados de fluídos, *supra* descritos.

As formulações desenvolvidas (1 ml) foram incubadas com 10 ml de SFG em tubos de centrifugação orbital (Incubator Hood TH 15 da Edmund buhler), a 37°C e a 75 rotações por minuto (rpm). Após 0 minutos, 60 minutos e 120 minutos, o reticulado foi transferido para tubos de microcentrifugação (para análise posterior e determinação da taxa de degradação) (n=3). Simultaneamente e após 120 minutos, três amostras do reticulado foram também transferidas para tubos de centrifugação contendo 10 ml de SFI (n=3). Posteriormente, o reticulado foi retirado, 15 minutos e 30 minutos após incubação, e

transferido para tubos de microcentrifugação previamente pesados para posterior determinação da taxa de degradação.

Por fim, os tubos de tubo de microcentrifugação foram congelados a -80°C e liofilizados durante 12 horas no (liofilizador Telstar LyoQuest).

No final, a degradação foi calculada através da equação 1:

$$\text{Degradação (\%)} = \frac{P_i - P_t}{P_t} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, P_i é o peso inicial do gel e P_t é o peso no tempo t (Lima-Sousa et al., 2020).

As formulações com melhor comportamento seguiram para os testes seguintes e foram reavaliadas as suas características organolépticas após 7, 14, 21, 28 dias, de acordo com o procedimento descrito na seção 1.3.

1.6. DETERMINAÇÃO DO PH

A realização de estudos de estabilidade, para avaliar alterações químicas e físicas, é um passo bastante importante no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos (Carvalho & Moreno, 2012).

O pH é um indicador muito importante da estabilidade de uma formulação ao longo do tempo (Allen, 2008; The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Human Medicines Evaluation Unit, 1998), pelo que foi determinado após 7, 14, 21 e 28 dias nas formulações armazenadas à temperatura ambiente e a 4° C, usando, para o efeito, o medidor de pH (Mettler Toledo FEP20-Basic FiveEasy Plus) ilustrado na **Figura 1-1**.

Figura 1-1
Medidor de pH



1.7. DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE

As propriedades mecânicas de formulações em gel para administração oral são determinantes para a sua caracterização, considerando que devem ser adequadas à deglutição (Abd Aziz et al., 2022; Lopez et al., 2018; Newman et al., 2016). Desta forma, estas formulações devem ser um gel fluído, fáceis de manusear e de administrar (Aziz et al., 2022; Ong et al., 2018). Assim, a viscosidade das formulações foi avaliada recorrendo ao reómetro DV3T (Brookfield Ametek, Massachusetts, EUA).

Adaptando o procedimento de Sabino et al. (2021), o equipamento foi programado para 50, 100 e 150 rpm, a uma temperatura de 37° C, com medições de 30 em 30 segundos e um tempo total de teste de 2 minutos. A escolha do spindle foi realizada de acordo com a viscosidade das soluções e com o torque apresentado, uma vez que de acordo com o fornecedor a viscosidade é inversamente proporcional ao número do spindle e os resultados do teste só são viáveis se o torque se encontrar acima dos 10% (Brookfield Engineering Laboratories, sem data).

Assim, para as formulações mais viscosas, (F16 e F17) foi utilizado o spindle CP-52 e para as formulações menos viscosas (F19 e F20) foi utilizado o spindle o CP-40.

O teste foi feito em triplicado e a média das leituras foi registada.

1.8. DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE

A porosidade dos hidrogéis foi realizada através do método de deslocamento de fluído descrito anteriormente por Miguel et al. (2019).

A primeira parte do teste foi realizado nas mesmas condições e da mesma forma que o teste da degradação (secção 1.5. do presente relatório), com a exceção no momento anterior à liofilização, no qual os reticulados obtidos foram colocados em placas de 24 poços. Aquando da liofilização, cada reticulado foi pesado e submergido em etanol durante 1 hora. Após a incubação em etanol, o reticulado foi novamente pesado.

A porosidade foi calculada, através da equação 2 anteriormente utilizada por Miguel et al. (2019).

$$\text{Porosidade (\%)} = \frac{P_{\text{molhado}} - P_{\text{liofilizado}}}{D_{\text{Etanol}} \cdot V_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

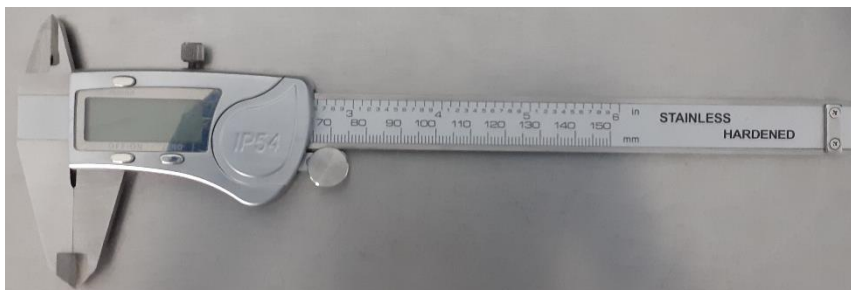
Onde, $P_{\text{liofilizado}}$ é o peso das amostras após a liofilização, P_{molhado} é o peso das amostras após serem retiradas do etanol, D_{Etanol} é a densidade do etanol à temperatura ambiente e V_{amostra} é o volume da amostra inchada.

Uma vez que a amostra se tratava de um cilindro o seu volume foi calculado através da equação 3.

$$\text{Volume do cilindro} = \pi \times r^2 \times h \text{ (Eq. 3)}$$

Deste modo, a medição do seu raio foi realizada recorrendo ao paquímetro digital eletrónico ilustrado na **Figura 1-2**.

Figura 1-2
Paquímetro digital eletrónico



1.9. SWELLING

O perfil de swelling no SFG foi avaliado através da adaptação do procedimento de Abd El-Ghaffar et al. (2012).

Foram preparados tubos de centrifugação (n=3) com 10 ml de SFG e 1 ml de formulação tendo estes sido colocados no orbital (Incubator Hood TH 15 da Edmund buhler) a 37°C e a 75 rpm. Após 0 minutos, 30 minutos, 60 minutos e 120 minutos em contacto com o simulado, o excesso de simulado foi removido com papel de filtro, e os reticulados obtidos foram pesados.

A alteração do peso do reticulado em função do tempo foi calculada através da equação 4.

$$\text{Swelling (\%)} = \frac{P_t - P_0}{P_0} \times 100 \text{ (Eq. 4)}$$

Onde, P_t é o peso em cada tempo das amostras inchadas e P_0 é o peso das amostras aos 0 minutos após contacto.

1.10. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO GEL POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros dos polímeros e dos agentes reticulantes foram obtidos através de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), utilizando o espectrómetro de FTIR Nicolet iS10 (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). Foi

utilizada uma resolução espectral de 4 cm^{-1} de 500 a 4000 cm^{-1} e 128 varreduras por corrida.

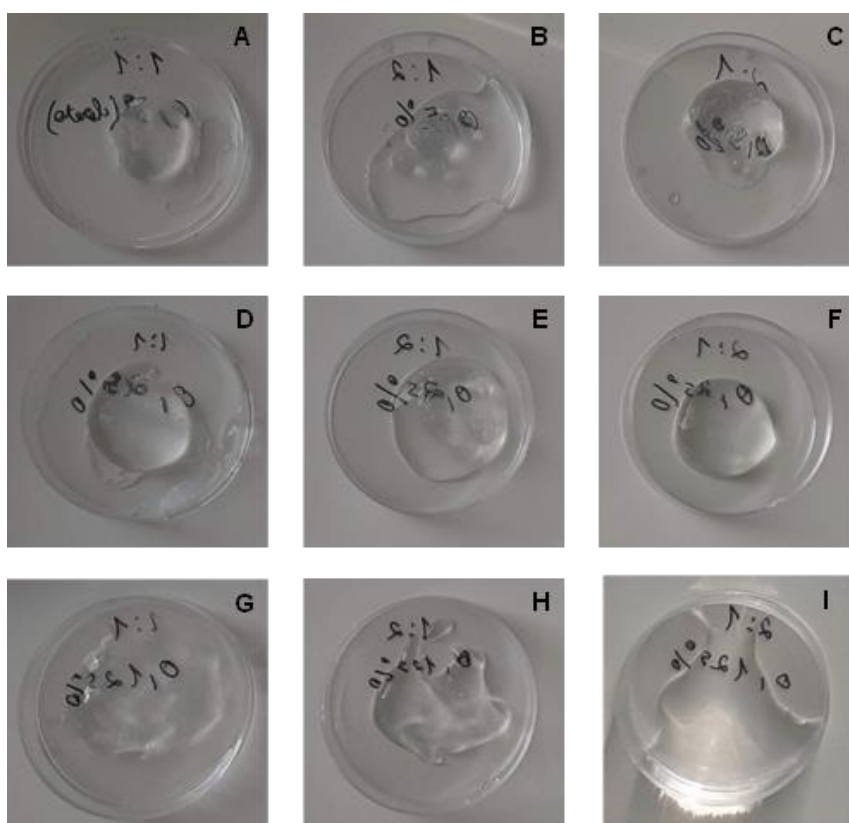
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉTICAS

Numa primeira avaliação macroscópica das formulações contendo alginato de sódio 2% (m/v) e cloreto de cálcio a 0,1% (m/v), 0,2% (m/v), 0,3% (m/v), 0,4% (m/v) e 0,5% (m/v), foram descartadas as formulações F1, F2 e F4 por serem demasiado líquidas. A formulação F3 foi também descartada por ser demasiado sólida para ser administrada por via oral (Aziz et al., 2022; Ong et al., 2018).

Com o intuito de otimizar as formulações contendo alginato de sódio e cloreto de cálcio, foram elaboradas as formulações F6 e F7 com concentrações de cloreto de cálcio 0,25% (m/v) e 0,125% (m/v), respetivamente. Procedeu-se ao processo de reticulação para as formulações de F5, F6 e F7 nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:2, tendo-se obtido os resultados ilustrados na **Figura 1-3**.

Figura 1-3
Ensaio das características organoléticas



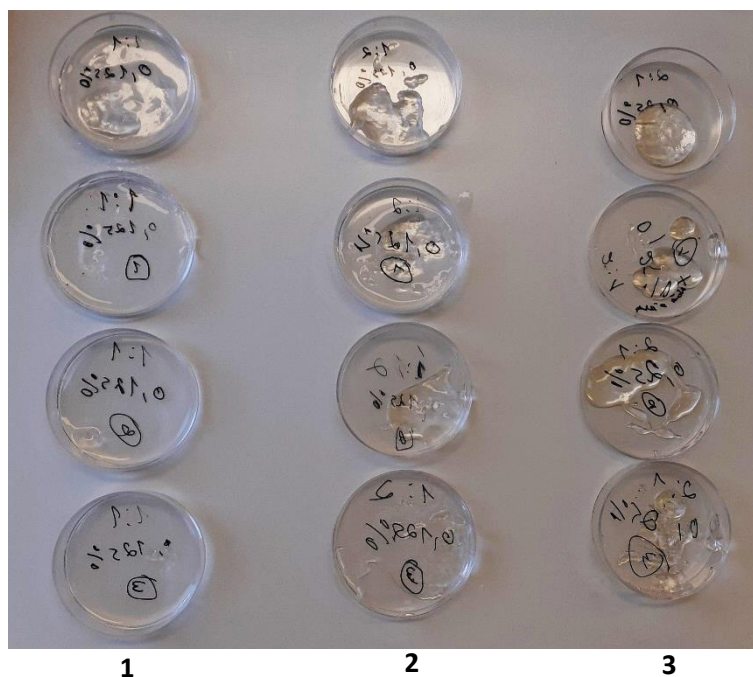
Nota. **A**, **B** e **C** são os resultados obtidos para a formulação F5 nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1, respetivamente. Os resultados da formulação F6 estão representados em **D**, **E** e

F nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1, respectivamente. Para a formulação F7 foram obtidos os resultados representados em G (para a proporção 1:1), H (para a proporção 1:2) e I (para a proporção 2:1).

Descartaram-se as formulações F5 (em todas as proporções) e F6 (nas proporções 1:1 e 1:2), por serem demasiado sólidas e a formulação F7 (na proporção 2:1) por ser demasiado líquida, apresentando risco de aspiração (Aziz et al., 2022; Hofmanová et al., 2019; Walsh et al., 2018).

Foram preparadas quatro amostras das restantes formulações (F6 na proporção 2:1 e F7 na proporção 1:1 e 1:2), como ilustrado na **Figura 1-4**, constatando-se que a formulação com cloreto de cálcio a 0,125% (m/v) na proporção de 1:2, seria a mais adequada, tendo sido, por isso seleccionada para a fase seguinte.

Figura 1-4
Reavaliação das características organolépticas



Nota. Os resultados da coluna 1 dizem respeito à formulação F7 na proporção 1:1. A coluna 2 ilustra os resultados da formulação F7 na proporção 1:2. Na coluna 3 estão representados os resultados obtidos para a formulação F6 na proporção 2:1.

Em relação às restantes formulações elaboradas (F8 a F20), todas demonstraram uma consistência de gel fluído e, por conseguinte, seguiram para os testes subsequentes, juntamente com a formulação F7 na proporção de 1:2.

2.2. COMPORTAMENTO DO GEL NOS SIMULADOS DE FLUÍDO GÁSTRICO E INTESTINAL

Após a colocação das formulações em contacto com o SFG e o SFI durante 2 horas, de acordo com o procedimento descrito na secção 1.4., obtiveram-se os resultados apresentados na **Tabela 1-2**.

Tabela 1-2

Comportamento do gel nos simulados de fluído gástrico e intestinal

NOME DAS FORMULAÇÕES	RESPOSTA NO SIMULADO DE FLUÍDO GÁSTRICO		RESPOSTA NO SIMULADO DE FLUÍDO INTESTINAL	
	0h após contacto	2h após contacto	0h após contacto	2h após contacto
F7	Degradação total	-	-	-
F8	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F9	Reticulação pouco homogénea	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F10	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F11	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F12	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F13	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F14	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F15	Reticulação	Reticulado mais rígido	Sem alteração	Sem alteração
F16	Reticulação	Reticulado mais rígido	Degradação parcial	Degradação quase total
F17	Reticulação	Reticulado mais rígido	Degradação parcial	Degradação quase total
F18	Degradação parcial	Degradação total	-	-
F19	Reticulação	Reticulado mais rígido	Degradação parcial	Degradação quase total
F20	Reticulação	Reticulado mais rígido	Degradação parcial	Degradação quase total

Em meio ácido contendo iões Ca^{2+} livres, o alginato de sódio atua como um agente gelificante, formando um gel resistente capaz de impedir a libertação de fármacos (Thomas, 2014). Apesar da formulação F7 ser composta por alginato de sódio e cloreto de cálcio, à semelhança da formulação apresentada por Tahtat et al. (2017), esta não apresentou uma gelificação ao entrar em contacto com o SFG. Tal pode ser justificado pelo facto de a concentração de cloreto de cálcio presente na formulação F7 (0,125% m/v), ser bastante mais reduzida do que a utilizada por Tahtat et al. (2017) (2% m/v), o que pode ter levado há inexistência de concentrações de iões Ca^{2+} suficientes para gerar as ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas do alginato de sódio e, bem assim, a reticulação do gel.

Para as formulações contendo goma gelana (F8-F15) verificou-se não só a ocorrência da formação de um gel, logo após o contacto com SFG, como também o aumento da sua rigidez após 2 horas de contacto. O cloreto de sódio presente no SFG diminui a repulsão intermolecular entre as duplas-hélices de goma gelana existentes, provocando o aumento da criação de zonas de junção e conseqüente reticulação das formulações (Norton et al., 2011; Picone & Cunha, 2011). Com o aumento do tempo de contacto com o SFG, as ligações cruzadas entre as cadeias das moléculas são reforçadas, o que determina o aumento da rigidez do gel formado (Bradbeer et al., 2014; Cassanelli et al., 2018).

O glucamano de konjac é um heteropolissacárido hidrófilo constituído por grupos acetil. A sua reticulação só ocorre quando, no processo de desacetilação, as ligações ésteres das cadeias são hidrolisadas em grupos hidroxilo capazes de formar pontes de hidrogénio intermoleculares e intramoleculares (Huang et al., 2015; Liu et al., 2019). Uma vez que o SFG não possui bases capazes de desacetilar as cadeias do glucamano de konjac, a formulação F18, ao interagir com as moléculas de água presentes no simulado, acaba por se dissolver após 2 horas.

A reticulação do alginato de sódio, por ação do Ca^{2+} permite a criação de pontes de hidrogénio resistentes entre o alginato de sódio e o glucamano de konjac, que impedem a degradação das formulações F16 e F17 no SFG (J. Li et al., 2018; Santos et al., 2020; K. Wang et al., 2017; Zeng et al., 2022). Uma vez que a concentração de hidróxido de sódio utilizado para produzir o SFI foi bastante baixa, pode não ter havido iões hidroxilo suficientes para realizar a desacetilação das cadeias de glucamano de konjac presentes nas formulações F16 e F17. Como tal, apesar do SFI apresentar um pH básico, ideal para que ocorra a reticulação do glucamano de konjac, as formulações F16 e F17 revelaram uma aparente degradação gradual.

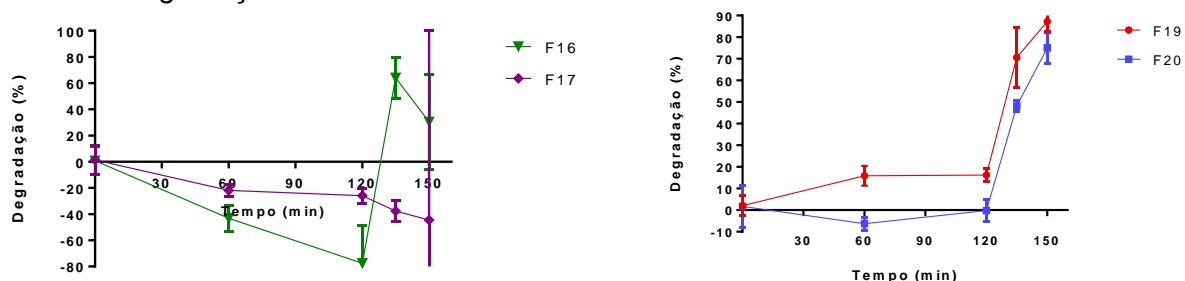
Em condições ácidas, os iões de cálcio formam zonas de junção intermoleculares entre os resíduos de AGlu do alginato e resíduos de AGal da cadeia polimérica adjacente da pectina, produzindo uma configuração de “caixa de ovo” e originando a reticulação das formulações F19 e F20 (Günter et al., 2020; Trefná & Ström, 2019). No SFI, a baixa concentração de iões de hidrogénio existente não permite a ionização do cloreto de cálcio, fazendo com que não existam iões Ca^{2+} livres e o estado de gelificação seja retrocedido (Itoh et al., 2006).

Considerando que o objetivo deste trabalho era desenvolver uma formulação em gel capaz de resistir à acidez do estômago e que se desintegrasse no intestino, as formulações F7 e F18 foram descartadas do estudo por apresentarem degradação total no SFG. As formulações F8 a F15 foram igualmente descartadas porque, apesar de resistirem ao pH do estômago, não tiveram a capacidade de se desintegrar no SFI. Os restantes testes do projeto foram aplicados apenas às formulações F16, F17, F19 e F20.

2.3. DEGRADAÇÃO

A degradação das formulações está representada na **Figura 1-5**.

Figura 1-5
Ensaio da degradação



Nota. Os primeiros 120 minutos dizem respeito ao tempo em que as formulações estiveram em contacto com o SFG. Os restantes 30 minutos foi o tempo em que as formulações estiveram em contacto com o SFI.

No SFG, apenas as formulações F19 e F20 sofreram degradação. Já no SFI todas as formulações, com exceção da F17, sofreram degradação.

Como referido na secção 2.2., formulações contendo alginato de sódio e glucamano de konjac são resistentes a pH ácidos. Tal deve-se à formação de pontes de hidrogénio entre os dois componentes, resultante da reticulação do alginato de sódio (J. Li et al., 2018; Santos et al., 2020; K. Wang et al., 2017). Por este motivo, as formulações F16 e F17 não sofrem degradação no SFG.

No que respeita ao comportamento das formulações F16 e F17 em contacto com o SFI, os resultados demonstraram que a formulação F16 apresenta um pico de degradação de 60% aos 15 minutos após contacto. Esta taxa de degradação diminui gradualmente, atingindo os 40%, após 30 minutos de contacto com o SFI. Já a formulação F17, não sofre degradação durante os 30 minutos em contacto com o SIF. De acordo com a literatura científica, o glucamano de konjac não é degradado por enzimas presentes no trato gastrointestinal superior (por exemplo, estômago e intestino delgado) (Treuting et al., 2018). No entanto, é degradado por uma enzima específica a β -manase presente no intestino grosso (Yuan et al., 2019). Isto pode explicar a razão pela qual não houve degradação das formulações F16 e F17 de forma tão acentuada quanto nas formulações F19 e F20, dado que na composição do SIF apenas existe uma enzima (pancreatina).

Como analisado na secção 2.2., as formulações F19 e F20 sofrem reticulação em condições ácidas devido à formação de zonas de junção intermoleculares. Ao interagirem com os átomos de oxigénio dos grupos carboxilo da pectina, os iões de Ca^{2+} ficam fisicamente aprisionadas nas cadeias de AGal (Grant et al., 1973; Günter et al.,

2020; Wellner et al., 1998). Uma vez retidos, os iões são atraídos electrostaticamente pelo alginato de sódio, uma vez que estes dois compostos apresentam cargas opostas (Wellner et al., 1998). Com efeito, para que ocorra reticulação, é necessário que existam iões de Ca^{2+} suficientes para interagir com as cadeias dos dois componentes (Grant et al., 1973; Günter et al., 2020; Trefná & Ström, 2019).

Ambas as formulações foram preparadas com 0,5 % (m/v) de alginato de sódio e 1% (m/v) de pectina. Uma vez que a formulação F19 possui menor concentração de cloreto de cálcio, irá consequentemente, apresentar menos iões Ca^{2+} disponíveis. Assim sendo, a sua degradação inicial, observada na primeira hora de contacto com o SFG, poderá estar relacionada com o menor número de zonas de junção e, consequentemente, maior número de moléculas de alginato de sódio e a pectina livres. No caso da formulação F20, como existe maior quantidade de iões de Ca^{2+} livres, na primeira hora de contacto com o SFG, existirá mais interação entre as moléculas de alginato de sódio e pectina, pelo que a pequena percentagem de degradação observada (4%) só ocorrerá ao longo da segunda hora de contacto, quando todas as zonas de junção possíveis nestas concentrações já estiverem formadas.

Na presença de um pH básico, as cadeias de alginato de sódio e de pectina afastam-se devido à repulsão eletrostática existente (Guo & Kaletunç, 2016). Assim, os resultados, das formulações F19 e F20 obtidos no SFI, podem resultar da quebra das zonas de junção entre o alginato de sódio e a pectina (Guo & Kaletunç, 2016). Como a formulação F19 apresenta uma concentração de cloreto de cálcio inferior à existente na formulação F20, a desagregação das suas ligações é facilitada. Em resultado, a formulação F19 apresenta uma maior taxa de degradação após 30 minutos de contacto (87,2%) quando comparada com a formulação F20 (75%).

2.4. PH

Analisando a **Tabela 1-3**, verifica-se que todas as formulações à temperatura ambiente sofreram alterações no pH. Não obstante, em ambas as condições de temperaturas de armazenamento, todas as formulações se mantiveram com valores de pH compreendidos entre os 5,5 e os 7,5. Assim, e de acordo com a literatura, todas as formulações se apresentaram adequadas para serem administradas por via oral (Attebäck et al., 2022).

A formulação F17 apresentou a variação média mais elevada de todo o ensaio (0,98).

No que diz respeito ao comportamento das formulações a 4°C, verifica-se que a formulação F19 é a que se mantém mais constante ao longo dos 28 dias, registando a

variação média de 0,07. Nas restantes formulações houve uma variação média do pH de $\approx 0,44$ na formulação F16, $\approx 0,26$ para a formulação F17 e de $\approx 0,11$ para a formulação F20.

Tabela 1-3
Avaliação do pH

Formulações	Variação do pH à temperatura ambiente				Variação do pH a 4°C			
	Dias após armazenamento				Dias após armazenamento			
	7	14	21	28	7	14	21	28
F16	6,54	6,82	6,95	6,87	6,54	6,82	6,95	6,87
F17	6,90	6,78	7,14	7,22	6,9	6,78	7,14	7,22
F19	5,80	5,79	5,85	6,11	5,8	5,79	5,85	6,11
F20	6,25	6,00	6,34	6,43	6,25	6	6,34	6,43

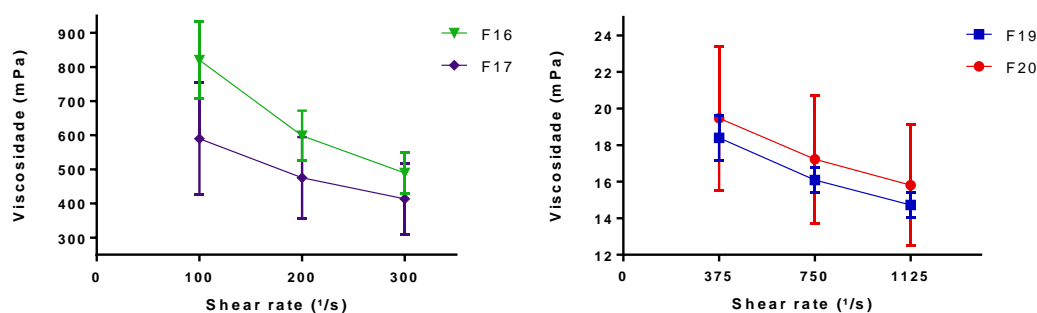
2.5. VISCOSIDADE

Analisando os resultados presentes nos gráficos da **Figura 1-6**, verifica-se que com 50 rpm as formulações F16 e F17 apresentaram uma força de cisalhamento de 100 e viscosidades médias de 820 mPa e 589 mPa, respetivamente. Já as formulações F19 e F20 exibiram uma força de cisalhamento de 375 e viscosidades médias de 18,4 mPa e 19,5 mPa, respetivamente. Com o aumento das rpm as formulações F16 e F17 atingiram viscosidades médias de 489,5 mPa e 413,4 mPa e força de cisalhamento de 300. No caso das formulações F19 e F20 a força de cisalhamento máxima registada foi 1125 com viscosidades médias de 14,72 mPa e 15,8 mPa, respetivamente.

Todas as formulações sofreram uma diminuição da viscosidade com o aumento das forças de cisalhamento, seguindo um comportamento não-Newtoniano (Sabino et al., 2021). Desta forma, quando o gel é agitado torna-se mais fluído, o que permite a administração facilitada de todo o volume presente na embalagem (Amer et al., 2019).

Por fim, tendo em conta a finalidade do projeto, as formulações F19 e F20 seriam as mais adequadas, já que são as que apresentam menores valores de viscosidade sendo, por isso, mais fáceis de administrar e deglutir.

Figura 1-6
Teste de viscosidade



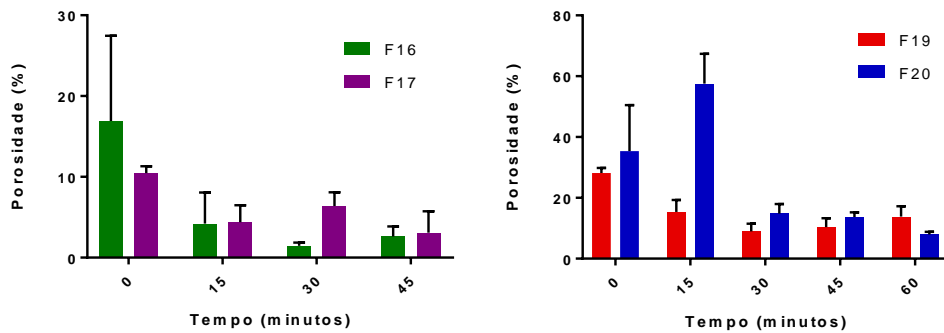
2.6. POROSIDADE

A porosidade refere-se ao espaço vazio existente no interior de um material. A existência de porosidade nos géis formulados permitirá que estes sejam dotados de permeabilidade. No entanto, esta característica tem de ser controlada, já que a difusão de fluido gástrico pode levar à erosão dos hidrogéis antes destes atingirem o intestino (Burwell & Robert L., 1977).

Tal como observado na **Figura 1-7**, as formulações F16 e F17 apresentaram os seus picos de porosidade após o contacto com o SFG, registando uma porosidade média de $\approx 17\%$ e $\approx 10\%$, respetivamente.

Ao interagir com o alginato de sódio, o catião divalente Ca^{2+} permite a criação de pontes de hidrogénio entre o alginato de sódio e o glucamano de konjac, impedindo a degradação das formulações F16 e F17 no SFG (J. Li et al., 2018; Santos et al., 2020; K. Wang et al., 2017). A concentração de Ca^{2+} condiciona a qualidade das conexões entre o alginato de sódio e o glucamano de konjac, já que a utilização de concentrações baixas de Ca^{2+} possibilita a formação de formulações mais viscosas, enquanto a utilização de concentrações mais elevadas leva ao aumento da reticulação (Lee & Mooney, 2012). Analisando os resultados de porosidade das formulações F16 e F17, a diferença de porosidade pode estar relacionada com a concentração de cloreto de cálcio utilizado em cada formulação (George & Abraham, 2006). Como a formulação F16 foi preparada com uma concentração de cloreto de cálcio (0,016% (m/v)) mais baixa do que a formulação F17 (0,032% (m/v)), os poros da formulação F17 poderão ser mais estreitos devido ao aumento da conexão entre as cadeias de alginato de sódio e o glucamano de konjac o que dificulta a passagem do SFG e consequentemente diminui a sua taxa de porosidade (George & Abraham, 2006).

Figura 1-7
Ensaio da porosidade



No caso das formulações contendo pectina verifica-se que a formulação F19 apresenta o seu pico de porosidade ($\approx 28\%$) após entrar em contacto com o SFG. Já a formulação F20 exhibe o seu pico 15 minutos após contacto com o SFG, sendo este de, aproximadamente 58%.

A reticulação das formulações F19 e F20 ocorre devido à formação de zonas de junção intermoleculares. Ao interagirem com os átomos de oxigénio dos grupos carboxilo da pectina, os iões de Ca^{2+} ficam fisicamente aprisionados nas cadeias de AGal (Grant et al., 1973; Günter et al., 2020; Wellner et al., 1998). Uma vez retidos, os iões são atraídos electrostaticamente pelo alginato de sódio (Wellner et al., 1998). Assim, para que ocorra reticulação, é necessário que existam iões de Ca^{2+} suficientes para interagir com as cadeias dos dois componentes (Grant et al., 1973; Günter et al., 2020; Trefná & Ström, 2019). Quando existe uma boa interconectividade entre as cadeias de alginato de sódio e da pectina, os poros da formulação permitem a passagem de fluídos (Nunes et al., 2010). Uma vez que a formulação F19 possui menor concentração de cloreto de cálcio (0,016% m/v) do que a formulação F20 (0,032% m/v) vai, conseqüentemente, apresentar menos iões Ca^{2+} disponíveis. Por conseguinte, possuirá menor número de zonas de junção e, bem assim, uma interconectividade menos organizada, o que levará a valores de porosidade mais baixos quando comparada com a formulação F20 (Nunes et al., 2010).

2.7. SWELLING

A libertação de um composto está diretamente relacionada com a capacidade de *swelling* do gel que o incorpora (Günter et al., 2020). Um perfil de *swelling* elevado levará a uma libertação mais rápida dos compostos no estômago, podendo impedir a sua libertação retardada no intestino, órgão onde a maior parte dos fármacos são absorvidos (Yuan et al., 2019). Para além disso, a capacidade de *swelling* do gel pode revelar-se

uma solução eficaz, simples e barata para a ocorrência de adsorção de fármaco presente no estômago (R. Sharma et al., 2015).

Como se pode observar na **Figura 1-8**, o pico de *swelling* ocorreu aos 60 minutos para as formulações F17 (43,6%) e F19 (52,9%) e aos 120 minutos para as formulações F16 (68,8%) e F20 (76,2%).

A solução F20 foi a que apresentou valores mais elevados de *swelling*, com o valor mínimo de 69,9%, registado aos 30 minutos. Para além disso, foi a única formulação que apresentou um aumento gradual dos valores ao longo dos 120 minutos.

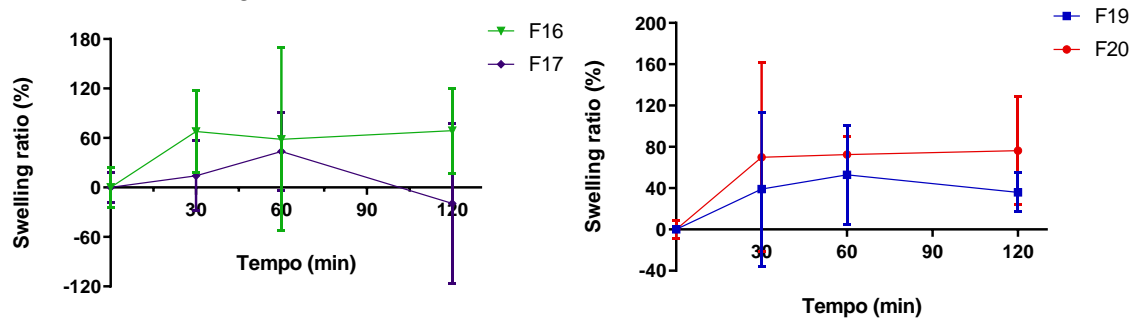
A formulação F17 foi a única onde se registaram valores negativos de *swelling* (-19,4% aos 120 minutos).

As formulações F16 e F19 registaram oscilações de valores de *swelling*, ao longo das 2 horas do ensaio. A formulação F16 apresentou uma descida de 9,4%, entre os 30 minutos e os 60 minutos e uma subida de 10,4% nos 60 minutos seguintes. Já a formulação F19 exibiu uma subida inicial de 13,9%, seguida de uma descida de 17%.

Concentrações mais baixas de Ca^{2+} levam a uma diminuição da reticulação e consequente redução das forças de retração entre as cadeias dos polímeros, o que permite o aumento da taxa de *swelling* (Santos et al., 2020). Comparando os resultados das formulações F16 e F17, verifica-se que na primeira foi utilizada uma menor concentração de cloreto de cálcio (0,016% m/v) do que na segunda (0,032% m/v), o que faz com que a formulação F17 interaja com uma maior concentração de iões Ca^{2+} e, consequentemente, apresente valores de *swelling* mais baixos. Tais resultados estão de acordo com Huang et al. (2015) que verificaram que a taxa de *swelling* das suas formulações diminuiu, com o aumento da concentração de hidróxido de cálcio.

Comparando os resultados das formulações F19 e F20, verifica-se que a primeira apresenta valores de *swelling* mais elevados. Uma vez que a formulação F20 possui valores de pH superiores às apresentadas pela formulação F19, esta terá valores de *swelling* superiores, já que dado o aumento do pH leva à diminuição da concentração de iões de hidrogénio livres o que, por sua vez, provoca a deprotonação dos grupos carboxilo presentes nas cadeias de pectina e conduz ao inchaço das formulações que contenham pectina (Guo & Kaletunç, 2016).

Figura 1-8
Ensaio de swelling



2.8. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO GEL

Com o objetivo de garantir a adequada produção do gel, esta foi confirmada através da análise de FTIR (**Figura 1-9**).

O espectro de FTIR do alginato de sódio apresenta picos característicos aos 3646-2982 cm^{-1} (devido aos alongamentos dos grupos -OH), 1588 cm^{-1} (devido aos alongamentos assimétricos do grupo COO^-), 1395 cm^{-1} (aos alongamentos simétricos do grupo COO^-) e aos 1019 cm^{-1} (ligações C-O-C características da estrutura do polissacarídeo) (Makaremi et al., 2019; Santos et al., 2020; Shahzad et al., 2019; Vallejo-Castillo et al., 2020).

O espectro de FTIR do glucamano de konjac apresenta picos característicos em 3327 cm^{-1} (em virtude do alongamento dos grupos -OH), 2895 cm^{-1} (atribuído à alongamento das ligações C-H dos grupos CH, CH₂ e CH₃), 1015 cm^{-1} , 873 cm^{-1} e 804 cm^{-1} (atribuídos às bandas de absorção da manose) (B. Li & Xie, 2004; Santos et al., 2020).

No que diz respeito às formulações F16 e F17, surgem dois picos em cada espectro, aos 2925 cm^{-1} e 2629 cm^{-1} (F16) e aos 2917 cm^{-1} e 2891 cm^{-1} (F17). Quando comparados com o espectro de cada composto em separado, verifica-se que os picos presentes se devem aos picos característicos do alginato de sódio e do glucamano de konjac. Os picos 3327 cm^{-1} (F16) e 3390 cm^{-1} (F17) sofreram um pequeno desvio, derivado das fortes ligações de hidrogénio criadas entre o glucamano de konjac e o alginato de sódio (Zeng et al., 2022). Quanto aos picos correspondentes ao grupo hidroxilo (-OH), verificou-se um aumento na intensidade.

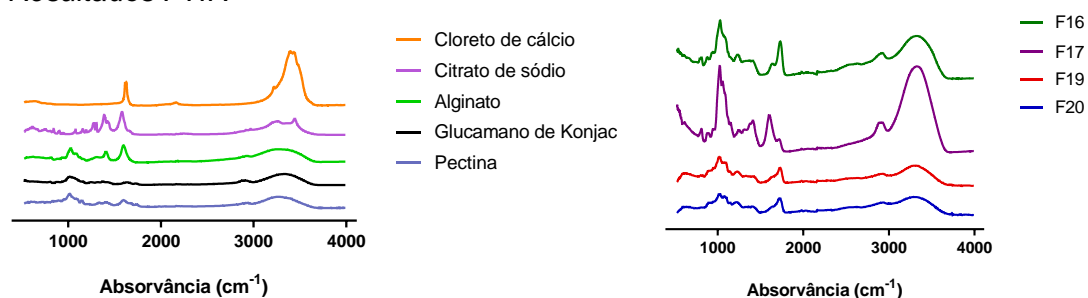
O espectro de FTIR da pectina está de acordo com resultados previamente obtidos por outros autores, exibindo os seus picos característicos aos 3265 cm^{-1} (alongamento dos grupos -OH), 2942 cm^{-1} (devido aos alongamentos do grupo -CH), 1592 cm^{-1} (devido aos alongamentos assimétricos do grupo COO^-), 1407 cm^{-1} (devido aos alongamentos simétricos COO^-) e 1331-1013 cm^{-1} (atribuídos aos alongamentos assimétricos entre o

C-O-C e C-C do anel da glucose) (Makaremi et al., 2019; Özbaş et al., 2022; Shahzad et al., 2019).

Os picos 3265 cm^{-1} , 2942 cm^{-1} , 1737 cm^{-1} , 1669 cm^{-1} e 1408 cm^{-1} , presentes na pectina pura sofreram um pequeno desvio nas formulações F19 (3328 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 1730 cm^{-1} e 1416 cm^{-1}) e F20 (3289 cm^{-1} , 2933 cm^{-1} , 1722 cm^{-1} e 1404 cm^{-1}). Isto deve-se às interações das ligações de hidrogénio entre os dois polímeros (Özbaş et al., 2022).

Em relação à presença de cloreto de cálcio nas formulações, este apresenta um pico característico nos 1617 cm^{-1} , e uma vez que se trata de um composto hidratado visualiza-se um pico relevante na região dos 3440 cm^{-1} devido aos grupos -OH (Shahzad et al., 2019). Quanto ao citrato de sódio, este também apresenta os seus picos característicos na zona do $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ e 1600 cm^{-1} . Considerando que os dois compostos se encontram em baixas concentrações em todas as formulações, os seus picos característicos sobrepõem-se aos picos do alginato de sódio, glucamano de konjac e pectina.

Figura 1-9
Resultados FTIR



CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi proposta a criação de um gel, para administração oral, à base de polímeros naturais aprovados pela FDA, com a capacidade de resistir às alterações de pH ao longo do trato gastrointestinal.

As formulações desenvolvidas foram avaliadas em termos de características organolépticas e comportamento em contacto com os SFG e SFI. Num total de vinte formulações testadas, as formulações contendo alginato de sódio/glucamano de konjac (F16 e F17) e alginato de sódio/pectina (F19 e F20) apresentaram características promissoras para satisfazer os objetivos do projeto. Deste modo, estas formulações foram também testadas a nível da degradação no SFG e no SFI, estabilidade, viscosidade, porosidade e *swelling*.

Todas as formulações demonstraram valores de pH compreendidos entre 5,5 e 7,5 e, desta forma, apresentaram-se adequadas para serem administradas por via oral.

As formulações contendo glucamano de konjac (F16 e F17) mostraram-se promissoras para a entrega controlada de fármacos no intestino grosso. A degradação observada só foi registada no SFI e segundo a literatura, formulações contendo glucamano de konjac são capazes de resistir ao pH ácido do estômago, sendo apenas degradadas pela enzima β -manase presente no intestino grosso (Yuan et al., 2019). Não obstante, e tendo em conta que neste estudo foi utilizado SFI contendo apenas pectina, ensaios futuros in- vitro terão de ser realizados utilizando SFI contendo β -manase para que a eficácia das formulações possa ser efetivamente avaliada.

Por sua vez, as formulações contendo pectina (F19 e F20) estas mostraram-se interessantes para entrega controlada de fármacos no intestino delgado, principalmente em doentes com disfagia. A degradação verificada no SFI aleada aos baixos valores de viscosidade revelam-se aspetos bastante interessantes para aplicação em estudos futuros.

Os resultados obtidos para as quatro formulações revelaram-se bastante promissores para no futuro serem aplicadas para o alívio ou cura de diversas situações clínicas.

CAPÍTULO 2 – LABORATÓRIO MILITAR

INTRODUÇÃO

Segundo o Estatuto do Medicamento, os medicamentos são substâncias ou associações de substâncias que através de uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica são capazes de restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas (Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, 2006).

Para que os doentes tenham acesso a este recurso de saúde indispensável, é necessário que os medicamentos sejam: **investigados** através de revisões da literatura; **testados**, inicialmente em ensaios clínicos *in vitro* e posteriormente em ensaios clínicos *in vivo*; **autorizados**, através da obtenção da Autorização de Introdução no Mercado; **fabricados** em instituições licenciadas pelo Infarmed e **prescritos/dispensados** por profissionais qualificados (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (Infarmed), 2008).

O fabrico é uma fase do “ciclo de vida” dos medicamentos tão ou mais importante do que a realização de um bom aconselhamento ou uma correta administração/utilização. A segurança, eficácia e efetividade de qualquer medicamento se encontram diretamente relacionadas com o seu processo de produção. Uma falha pode levar ao comprometimento, não só de um lote, mas também da vida do ser humano.

Deste modo, os profissionais que trabalham na área da indústria farmacêutica devem seguir rigorosamente normas metódicas de boas práticas de fabricação, evitando ao máximo possíveis erros no processo de fabricação (Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, 2006).

No presente capítulo serão descritas todas as atividades desenvolvidas no decorrer do estágio no Laboratório Nacional do Medicamento.

1. APRESENTAÇÃO DO LABORATÓRIO NACIONAL DO MEDICAMENTO

O Laboratório Nacional do Medicamento (LM), com sede em Lisboa e inicialmente denominado “Laboratório Militar”, foi inaugurado a 16 de fevereiro de 1918 funcionando como farmácia central do Exército (FCE), tendo como missão fornecer medicamentos ao Exército e à Marinha Portuguesa (*Laboratório Nacional do Medicamento*, sem data).

Em 1947, a FCE passou a denominar-se “Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos” (LMPQF) e a prestar os seus serviços a todos os ramos das Forças Armadas – Exército, Marinha e Forças Armadas (*Laboratório Nacional do Medicamento*, sem data).

A partir de 2020, o LMPQF passou a ser designado “Laboratório Nacional do Medicamento”, mantendo a sigla LM como marca própria dando continuidade à qualidade dos serviços farmacêuticos prestados pela instituição (Decreto-Lei n.º 13/2021, de 10 de fevereiro, 2021; Lei n.º 2/2020, de 31 de março, 2020)

De acordo com o artigo 2.º do Decreto-Lei n.º 13/2021, de 10 de fevereiro (2021), o LM apresenta duas missões. Enquanto laboratório do Estado, tem de participar ativamente no desenvolvimento e produção de produtos farmacêuticos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde e, bem assim, produzir e avaliar a qualidade de medicamentos e outros produtos de saúde incluindo fármacos à base da planta de canábis e antídotos; realizar análises microbiológicas em ambientes hospitalares; fabricar, quando necessários, medicamentos não autorizados/não comercializados em Portugal e também medicamentos autorizados cujo fornecimento normal esteja débil; promover e apoiar o estudo/investigação nas áreas de ciência e tecnologia farmacêutica, biotecnologia e farmacologia (Decreto-Lei n.º 13/2021, de 10 de fevereiro, 2021).

Ao nível militar, o LM tem por missão o apoio às Forças Armadas Portuguesas, encarregando-se da logística farmacêutica militar, realizando análises clínicas e prestando apoio farmacêutico aos familiares dos militares e aos militares debilitados. Como tal, o LM colabora no fornecimento e controlo de qualidade de medicamentos e outros produtos de saúde às forças nacionais em missão; produz, acondiciona e distribui medicamentos e artigos sanitários necessários pelas Forças Armadas; realiza o controlo de qualidade de águas das bases militares; colabora com instituições de ensino superior para a realização de estágios curriculares e de pós-graduações; desenvolve investigação na área farmacêutica e colabora com as forças de segurança a Autoridade Nacional de Emergência e Proteção Civil e o Sistema Integrado de Emergência Médica (Decreto-Lei n.º 13/2021, de 10 de fevereiro, 2021).

2. DEPARTAMENTO DA INDÚSTRIA

2.1. DESIGNAÇÃO DOS PRODUTOS PRODUZIDOS

No departamento da indústria os produtos fabricados são divididos em dois grupos: os **produtos semi-industriais** e os **produtos manipulados**, cuja diferença reside no tipo de controlo de qualidade realizado.

Após a produção dos **produtos semi-industriais**, o departamento de controlo de qualidade é notificado para recolher alguns exemplares produzidos. Estes são avaliados a nível químico e microbiológico e só podem ser entregues ao setor da logística para distribuição, caso os testes de qualidade estejam “conformes”.

Os **produtos manipulados** não necessitam de um controlo de qualidade muito rígido. Por isso, ao serem produzidos são diretamente entregues ao setor da logística que fica responsável pela sua distribuição.

2.2. SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO

Para salvaguardar a segurança e a saúde no trabalho, todos os trabalhadores que realizem procedimentos no departamento da indústria têm de utilizar os seguintes equipamentos de proteção individual: bata, luvas, socas de segurança e touca. Para além destes, a manipulação de cloridrato de metadona exige a utilização de máscara cirúrgica por ser um opioide capaz de provocar dependência.

2.3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO DECORRER DO ESTÁGIO

2.2.1. Solução oral de metadona em frascos de 1 L

Primeiramente, a substância ativa (cloridrato de metadona) e os excipientes (conservantes, regulador de acidez, composto aromático, excipiente hidrófilo e agentes humectantes) da formulação foram pesados e dissolvidos sobre agitação durante 2 horas.

No decorrer das 2 horas procedeu-se à colocação do número de lote e da validade nas embalagens de acondicionamento secundárias, conforme ilustrado na **Figura 2-1**, utilizando o equipamento representado na **Figura 2-2**.

Figura 2-1
Colocação de lote e validade na embalagem secundária

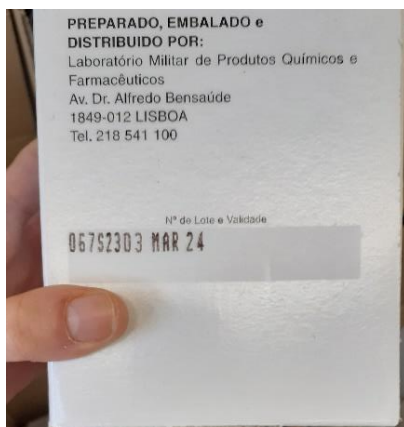


Figura 2-2
Equipamento de rotulagem



Após as 2 horas é avaliado o pH da solução obtida e, se estiver conforme, é colocada no reservatório da máquina de enchimento de frascos, procedendo-se ao enchimento e rotulagem dos mesmos.

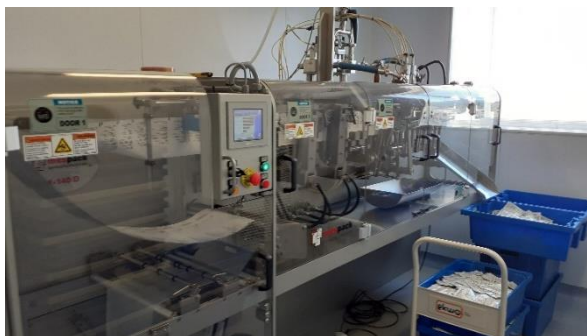
Os frascos são acondicionados na embalagem secundária e agrupados em caixas de cartão com capacidade de acondicionamento de 9 frascos.

Uma vez que a solução oral de metadona é considerada um produto semi-industrial, antes de ser entregue à equipa de logística, é colocada em “quarentena” num armazém próprio até poder ser entregue ao setor da logística que se encarrega da sua distribuição ao Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências (SICAD).

2.2.2. Solução oral de metadona em saquetas de 15 ml

A solução oral de metadona é realizada da mesma forma que a preparada para os frascos de 1 litro. No decorrer das 2 horas, a máquina de enchimento de saquetas (Mespac série H -140 D), ilustrada na **Figura 2-3**.

Figura 2-3
Máquina de enchimento de saquetas



Após as 2 horas, é avaliado o pH da solução obtida e se estiver conforme, é colocada no reservatório da máquina de enchimento, procedendo-se ao acondicionamento em saquetas.

Devido à ocorrência de erros de enchimento da , de 15 em 15 minutos realiza-se a pesagem de uma saqueta de cada bico de enchimento, de forma a realizar um primeiro controlo de uniformidade de massa.

Sendo um produto semi-industrial, após o acondicionamento na embalagem primária, o produto é recolhido pela divisão do controlo de qualidade para ser avaliado.

Enquanto os testes de qualidade são realizados, as saquetas são acondicionadas em embalagens secundárias, procedendo-se a cada meia hora à pesagem de duas saquetas aleatórias, de modo a realizar um segundo controlo de uniformidade de massa.

Posteriormente, as embalagens são armazenadas num armazém próprio até poder ser entregue ao setor da logística que se encarrega da distribuição ao Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências (SICAD).

2.2.3. Cápsulas de isoniazida

A isoniazida é uma substância ativa utilizada no tratamento da tuberculose que em Portugal não é comercializada sobre a forma de cápsula. Assim, para fazer face às necessidades clínicas, o LM é responsável pela produção cápsulas de isoniazida.

É pesada a quantidade necessária de isoniazida para encher 300 cápsulas.

O pó é colocado na máquina de enchimento de cápsulas (Bonapace Marcgesine Group, KAP-300), ilustrada na **Figura 2-4**, previamente preparada com 300 cápsulas abertas.

Figura 2-4
Máquina de enchimento de cápsulas



Procede-se, por um lado, à pesagem de 20 cápsulas para aferir a uniformidade de massa e, por outro, à pesagem de 10 cápsulas para realizar a uniformidade de teor.

Utilizando o equipamento (INTIMA, Counting Machines for Tablet and Capsules King TB4) ilustrado na **Figura 2-5**, as cápsulas são acondicionadas em frascos de vidro que são posteriormente entregues ao setor da logística.

Figura 2-5
Máquina de enchimento de frascos



2.2.4. Cápsulas de Virbages

O Virbages é um medicamento de uso veterinário utilizado para regular a fase estro do ciclo estral de porcas nulíparas (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAMV), 2016).

O medicamento é comercializado sob a forma de solução oral, porém o Jardim Zoológico de Lisboa prefere administrar o fármaco na forma de cápsulas. Assim, o LM produz as mesmas.

O enchimento das cápsulas é realizado de forma manual utilizando uma micropipeta. A *posteriori*, as cápsulas são armazenadas num frasco de plástico branco, previamente rotulado, e são entregues ao serviço de logística.

3. DIVISÃO DO CONTROLO DE QUALIDADE

3.1. ESTRUTURA

A divisão do controlo de qualidade é composta por oito secções:

- A **biblioteca**, local onde se encontram livros de conhecimento científico fundamentais para a realização dos testes de qualidade, incluindo a Farmacopeia Europeia 11.0, bibliografia atualmente utilizada nos laboratórios de controlo de qualidade para realizar os ensaios.
- O **gabinete do chefe de secção**, onde o Major Sampaio coordena toda a equipa, trata da parte burocrática dos processos e valida os resultados obtidos nos diversos ensaios de qualidade.
- O **gabinete de apoio técnico administrativo**, no qual os trabalhadores abrem os processos, confirmam a viabilidade dos resultados obtidos nos testes de qualidade e realizam a encomenda dos materiais e reagentes em falta.
- O **BioBanco**, que consiste num banco de armazenamento genético do exército militar. Nele são guardadas amostras de sangue dos militares que vão para missões de forma a poder identificá-los em caso de morte e impossibilidade do reconhecimento através da impressão digital ou pela arcada dentária.
- O **laboratório de ensaios químicos**, onde são realizados os testes químicos aos produtos e onde os trabalhadores colocam os resultados obtidos no sistema informático.
- O **laboratório de microbiologia**, onde os produtos são avaliados a nível microbiológico.
- O **armazém dos reagentes**, local onde são armazenados os reagentes utilizados no laboratório de ensaios químicos.
- A **farmacoteca**, que é um pequeno armazém onde são guardadas, durante quatro anos, amostras de todos os lotes avaliados pelo controlo de qualidade, de forma a ser possível realizar reanálises nesse espaço de tempo, caso seja necessário.

No decorrer do estágio, houve oportunidade de realizar: a abertura de processos no **gabinete de apoio técnico administrativo**; a calibração de balanças e testes de qualidade a diversos produtos no **laboratório de ensaios químicos**; a limpeza de materiais e ensaios de avaliação da qualidade de meios de cultura e a avaliação microbiológica de saquetas de Cloridrato de metadona e de amostras de águas de

consumo humano no **laboratório de microbiologia**. A descrição de todas as atividades desenvolvidas em cada secção encontra-se no ponto “3.2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO DECORRER DO ESTÁGIO”. desenvolvidas em cada secção encontra-se no ponto “.

3.2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO DECORRER DO ESTÁGIO

3.2.1. Gabinete de apoio técnico administrativo

Ao chegarem ao controlo de qualidade, os artigos são acompanhados por uma lista onde consta o nome, lote, prazo de validade e quantidade de todos os constituintes do produto recebido.

Após a receção, os trabalhadores do gabinete de apoio técnico administrativo verificam se as informações constantes na folha correspondem da plataforma EdeiaLab. Se tudo estiver conforme, abre-se o processo. Caso haja alguma irregularidade, o produto é devolvido.

A abertura do processo consiste no preenchimento de informações no sistema informático relativas ao produto, gerando-se um número interno para o produto e duas etiquetas identificativas que são posteriormente coladas nos livros de registo do laboratório de ensaios químicos e do laboratório de microbiologia.

A *posteriori*, os produtos e os livros de registos são levados para os laboratórios respetivos para se realizarem os ensaios correspondentes.

3.2.2. Laboratório de ensaios químicos

3.2.2.1. Calibração das balanças

Todos os dias de manhã, verificam-se as balanças. Para tal, certifica-se que as balanças estão niveladas, limpas e efetua-se a calibração das mesmas com pesos pré-definidos.

Os resultados são posteriormente anotados na folha de registo das balanças, documento onde, de acordo com o procedimento definido internamente, diariamente são registadas todas as pesagens realizadas em cada balança, o motivo da pesagem, a substância que foi pesada e quem foi o operador da pesagem.

3.2.2.2. Testes de qualidade

Os testes de qualidade realizados têm como base os ensaios descritos na Farmacopeia Europeia 11.0.

Cada produto analisado possui um livro de registos próprio, onde todos os resultados obtidos são registados.

De forma a assegurar a segurança e saúde no trabalho, é obrigatório que todos os trabalhadores que realizem testes de qualidade utilizem bata, luvas e socas de segurança. A manipulação de reagentes tóxicos, nocivos por inalação e inflamáveis, bem como a utilização de bico de bunsen, são obrigatoriamente realizadas no interior da Hotte.

Seguidamente, serão descritos os ensaios que foram realizados no decurso do estágio.

3.2.2.2.1. Ácido cítrico

- **Identificação A**

Realizou-se a dissolução de 1g de ácido cítrico em 10 ml de água purificada. Foi medido o pH da solução obtida utilizando uma fita de pH, como ilustrado na **Figura 2-6**.

Figura 2-6
Identificação A do ácido cítrico



Obteve-se um pH 3, estando este de acordo com a especificação da Farmacopeia Europeia “The solution is strongly acidic” (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023a, p. 2356).

- **Identificação C**

A 5 mg de ácido cítrico foi adicionado 1 ml de solução de anidrido acético R e 3 ml de solução de piridina R.

Visualizou-se o aparecimento de uma cor avermelhada na solução obtida, como ilustrado na **Figura 2-7**, estando o resultado de acordo com a especificação da Farmacopeia Europeia (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023a).

Figura 2-7
Identificação C do ácido cítrico



- **Assay**

Dissolveram-se 0,550g de ácido cítrico em água destilada. Adicionou-se fenolftaleína à solução obtida e procedeu-se à sua titulação sobre agitação no titulador automático (848 Titrino plus do Metrohm) ilustrado na **Figura 2-8**.

Figura 2-8
Titulador automático



Ao atingir o ponto de equilíbrio, a solução adquiriu a coloração rosa, como ilustrado na **Figura 2-9**.

Figura 2-9
Titulação ácido cítrico



3.2.2.2. Citrato de sódio

• Identificação A

Seguindo as orientações da Farmacopeia Europeia 11.0 (2023), realizou-se a identificação A do citrato de sódio.

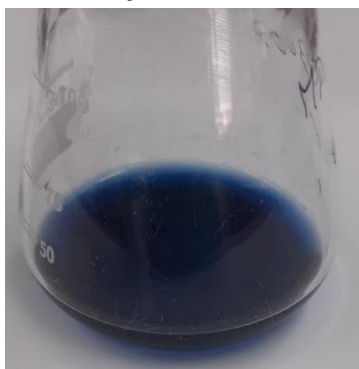
Preparou-se a solução S contendo 10 g de citrato de sódio e 100 ml de água destilada.

Num tubo de ensaio foram colocados 4 ml de água destilada, 1 ml de solução S, 1 ml de permanganato de potássio R e 0,5 ml de ácido sulfúrico R. A solução foi aquecida até a cor de permanganato de potássio desaparecer.

Adicionou-se 0,5 ml de nitroprussiato de sódio R e 4 g de ácido sulfâmico R. A solução foi alcalinizada com amónia concentrada R até dissolução total do ácido sulfâmico.

A solução adquiriu a cor azul, como demonstra a **Figura 2-10** (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023).

Figura 2-10
Identificação A do citrato de sódio



• Acidez ou alcalinidade

Realizou-se a mistura de 0,1 ml de solução de fenolftaleína R com 10 ml de solução S, anteriormente preparada.

Foi adicionado gota a gota ácido hidrocloreídrico (0,1M) até a solução mudar de cor.

Como descrito na literatura não foi necessário utilizar-se mais de 0,2 ml de ácido hidrocloreídrico para se observar a mudança de cor (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023).

3.2.2.2.3. Cloreto de potássio 5%

• Uniformidade de volume

Com auxílio de uma proveta foi determinado o volume médio de 3 frascos de cloreto de potássio a 5% (Serviço de Controlo de Qualidade, 2013).

• Medição do pH

A solução a ser analisada foi aquecida até atingir os 20°C. O sensor do medidor de pH (Metrohm 914 pH/Conductometer) foi mergulhado na solução, como ilustrado na **Figura 2-11** (Serviço de Controlo de Qualidade, 2013).

Figura 2-11
Medidor de pH e de condutividade



• Densidade relativa

De acordo com o documento interno “Produto acabado solução oral de Cloreto de Potássio 5%” (Serviço de Controlo de Qualidade, 2013), foram inicialmente realizados os testes de verificação do densímetro (Anton Paar DMA 1001), ilustrado na **Figura 2-12**. O densímetro foi higienizado com água destilada e etanol. Realizou-se a injeção de água destilada com ajuda de uma seringa e procedeu-se ao teste da água, cujo resultado obtido foi guardado em ficheiro pdf. Realizou-se nova higienização, seguida do teste do ar, cujo resultado foi igualmente gravado em ficheiro pdf.

Por fim, o equipamento foi novamente higienizado e a solução de cloreto de potássio 5% foi injetada no densímetro, com ajuda de uma seringa. O valor obtido foi guardado em ficheiro pdf e registado no livro de registos respetivo.

Figura 2-12
Densímetro



• Viscosidade

A averiguação da viscosidade é realizada em dois viscosímetros. Para facilitar a compreensão do ensaio, os equipamentos serão designados viscosímetro 1 (Fungilab MASTER SERIES SMART), ilustrado na Figura 2-13 , e viscosímetro 2.

Figura 2-13
Viscosímetro 1



Para realizar os testes no **viscosímetro 1**, 16 ml da solução a ser analisada são colocados no suporte. Introduziu-se o spindle no suporte e o teste foi realizado durante 2 minutos.

Para a análise da viscosidade efetuada no **viscosímetro 2**, um copo de precipitação com 240 ml da solução a ser analisada foi colocada em banho a 25°C. O spindle e uma sonda de temperatura foram mergulhadas na mesma. O viscosímetro foi programado e o ensaio foi realizado durante 2 minutos. Os resultados obtidos foram gravados em ficheiro pdf, tendo sido impressa uma etiqueta que foi, posteriormente colada no livro de registos da solução de cloreto de potássio 5%.

• **Identificação A: identificação de cloretos**

Com ácido nítrico diluído R, 2 ml da solução de cloreto de potássio 5% foram acidificados e adicionou-se 0,4 ml de nitrato de prata R1 (42,4 g/L). A solução foi agitada e guardada ao abrigo da luz durante 5 minutos. Um precipitado branco formou-se como ilustrado na **Figura 2-14**.

Figura 2-14
Precipitado branco



Nota. Resultado obtido durante o ensaio de identificação A: identificação de cloretos.

O precipitado foi centrifugado, no centrifugador ilustrado na **Figura 2-15**.

Figura 2-15
Centrifugador



Após centrifugação, o precipitado foi lavado três vezes com 1 ml de água destilada e posteriormente suspenso em 2 ml. Adicionou-se 1,5 ml de amónia R e o precipitado dissolveu-se conforme demonstra a **Figura 2-16** (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023g).

Figura 2-16
Resultado teste de identificação A: identificação de cloretos



• **Identificação B: identificação do potássio**

Foi adicionado 1 ml de ácido acético diluído R e 1 ml da solução extemporânea de cobaltinitrito de sódio R a 1 ml de solução de cloreto de potássio 5%. Formou-se um precipitado amarelo alaranjado (**Figura 2-17**) como descrito na Farmacopeia Europeia (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023g).

Figura 2-17
Identificação B: identificação do potássio



3.2.2.2.4. Hidrocloridrato de metadona

- **Identificação B: ponto de fusão**

O Hidrocloridrato de metadona foi introduzido em três capilares posteriormente colocados no equipamento de ponto de fusão e ebulição ilustrado na **Figura 2-18**.

Figura 2-18
Equipamento de ponto de fusão e ebulição



Foi calculada a média do ponto de fusão obtida pelos três capilares (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023c).

3.2.2.2.5. Isoniazida

O **ponto de fusão** foi avaliado de acordo com o descrito na identificação B do Hidrocloridrato de metadona da secção 3.2.2.2.4.

- **Solução S**

Primeiramente, procedeu-se à preparação da solução S. Dissolveu-se 2,5 g de isoniazida em água destilada livre de dióxido de carbono, obtendo-se uma solução com um volume final de 50 ml (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023b).

- **Aparência da solução**

O teste baseia-se na comparação de duas soluções: a solução S e a solução BY₇.

Primeiramente, preparou-se a solução padrão BY através da adição de 2,4 ml de solução amarela, 1 ml de solução vermelha, 0,4 ml de solução azul e 6,2 ml de ácido hidroclorídrico (10 g/L). Da solução obtida pipetou-se 0,250 ml e adicionou-se 9,75 ml de ácido hidroclorídrico (10 g/L), obtendo-se a solução BY₇.

A solução obtida foi comparada com a solução S preparada no ensaio anterior e verificou-se que estas estavam de acordo com as especificações da Farmacopeia Europeia (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023b),

uma vez que a solução S se apresentava límpida e com uma intensidade de cor não superior à solução BY₇, como verificado na **Figura 2-19**.

Figura 2-19
Aparência da solução



Nota. **A** representa a solução S e **B** representa a solução BY₇.

- **Medição de pH**

A medição do pH foi realizada à solução S anteriormente preparada, tendo sido o teste executado nas mesmas condições do descrito no ponto 3.2.2.2.3.

3.2.2.2.6. Salicilato de metilo

Os testes de **acidez ou alcalinidade, densidade relativa e identificação B** foram realizados de acordo com os procedimentos descritos em 3.2.2.2.2, 3.2.2.2.3, 3.2.2.2.4, respetivamente.

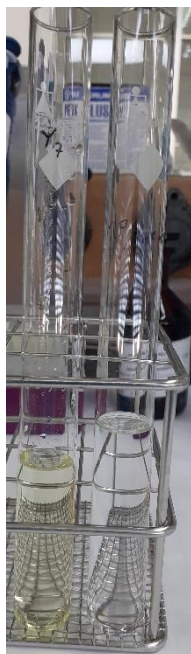
- **Aparência**

O teste baseia-se na comparação da solução de salicilato de metilo e a solução Y₇.

Primeiramente, preparou-se a solução padrão Y através da adição de 2,4 ml de solução amarela, 0,6 ml de solução vermelha e 7 ml de ácido hidrocloreídrico (10 g/L). Da solução obtida pipetou-se 0,250 ml e adicionou-se 9,75 ml de ácido hidrocloreídrico (10 g/L), obtendo-se a solução Y₇ (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023d).

As duas soluções foram comparadas, verificando-se que a solução de metilo se apresentava límpida e com uma intensidade de cor não superior à solução Y₇, como ilustrado na **Figura 2-20**.

Figura 2-20
Aparência do salicilato de metilo



3.2.2.2.7. Solução oral cloridrato de metadona 1%, frascos de 1L

A **medição de pH**, a **densidade relativa** e a **viscosidade** da solução de cloridrato de metadona 1% foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos em 3.2.2.2.3.

- **Massa volúmica**

O ensaio da massa volúmica foi realizado de acordo com o processo de obtenção da densidade relativa relatado em 3.2.2.2.3., uma vez que o densímetro obtém o resultado dos dois testes em simultâneo.

- **Doseamento**

O doseamento do cloridrato de metadona é realizado de acordo com o método do Laboratório de Estudos Farmacêuticos.

Para a realização do doseamento é necessário, em primeiro lugar, preparar cinco soluções: fase móvel, duas soluções padrão e duas soluções amostra.

A fase móvel consiste numa solução de fosfato de potássio monobásico (0,01M) ajustado a um pH 3,5 com ácido fosfórico.

Para elaborar as soluções padrão, primeiramente são pesados 20 mg de cloridrato de metadona em pó para um balão volumétrico de 100 ml, sendo este perfeito com fase móvel. Da solução obtida é retirado 1 ml para dois balões volumétricos (25 ml), que são novamente perfeitos com fase móvel, atribuindo-lhes os nomes P1 e P2.

As soluções amostra são realizadas da mesma forma que as soluções-padrão, porém os 20 mg de cloridrato de metadona são retirados da solução oral de cloridrato de metadona e os balões de 25 ml são nominados A1 e A2. Caso se realize o ensaio a mais do que uma amostra de solução oral de cloridrato de metadona, os balões são nominados por ordem alfabética (A1 e A2, B1 e B2, C1 e C2, etc.).

Todas as soluções são pipetadas para vias previamente nominados com o nome do balão volumétrico respectivo. Os vias são desgaseificados e colocados no suporte do equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência. O teste é realizado.

Os resultados obtidos são registados no livro de registos da solução oral de cloridrato de metadona 1% e guardados digitalmente no sistema informático.

3.2.2.2.8. Solução oral cloridrato de metadona, saquetas de 15 ml

A **medição de pH**, a **densidade relativa**, a **massa volúmica** e a **viscosidade** da solução de cloridrato de metadona 1% foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos em 3.2.2.2.3. O **doseamento** foi realizado conforme o ponto 3.2.2.2.7.

- **Uniformidade de volume**

Utilizando uma proveta, foi calculado o volume médio de seis saquetas de solução oral de cloridrato de metadona.

3.2.2.2.9. Xarope comum

O xarope comum é uma solução aquosa à base de sacarose e água purificada utilizada como veículo para a preparação de xaropes medicamentosos e suspensões orais (Barbosa, 2005a).

No LM, o xarope comum fabricado (com e sem parabenos) é distribuído para hospitais para ser usado como base de medicamentos manipulados.

De acordo com as especificações do Formulário Galénico Português, o xarope comum tem a validade de 1 mês após preparação e o xarope comum conservado com parabenos tem validade de 3 meses após preparação (Barbosa, 2005b, 2005a). Uma

vez que a validade da preparação é muito pequena, o LM encontra-se a realizar um ensaio de estabilidade para avaliar se é seguro aumentar a validade dos xaropes simples que distribui.

Dezoito frascos de xarope comum do mesmo lote, com e sem parabenos, foram colocados na câmara de estabilidade durante 18 meses sendo retirado, no final de cada mês, 1 frasco para ser avaliada a sua qualidade.

A medição do **pH** e a **viscosidade** foram realizados de acordo com o descrito no ponto 3.2.2.2.3.

- **Aspeto**

Ao abrir o frasco, verifica-se se existe a formação de cristais na tampa ou de precipitado no fundo do recipiente.

- **Condutividade**

O teste da condutividade é realizado no equipamento, ilustrado na **Figura 2-11**.

Após conectado o sensor de medição de condutividade, a leitura é realizada em conformidade com o procedimento descrito no ponto 3.2.2.2.3.

3.2.3. Laboratório de microbiologia

3.2.3.1. Limpeza de material

Para que os resultados dos ensaios realizados sejam o mais fidedignos possível, é indispensável que o material de laboratório esteja descontaminado. Assim, a limpeza do material é uma etapa bastante importante.

Após os materiais de laboratório reutilizáveis serem lavados e devidamente secos, é colocada em todos fita de esterilização de autoclave e estes são codificados com o mesmo código.

Os materiais e uma ampola de teste microbiológico são colocados no suporte do autoclave. Quando o programa previamente selecionado termina, os materiais são mantidos em quarentena e a ampola de teste microbiológico é colocada numa estufa, durante 2 dias. Após os 2 dias, o teste microbiológico é avaliado, os resultados são registados numa folha de registos própria. Caso o teste seja negativo, os materiais ficam aptos para serem utilizados.

3.2.3.2. Avaliação de meios de cultura

Os ensaios de qualidade microbiológicos são realizados utilizando meios de cultura. Desta forma, todos os meios são avaliados para se averiguar se os resultados obtidos são confiáveis.

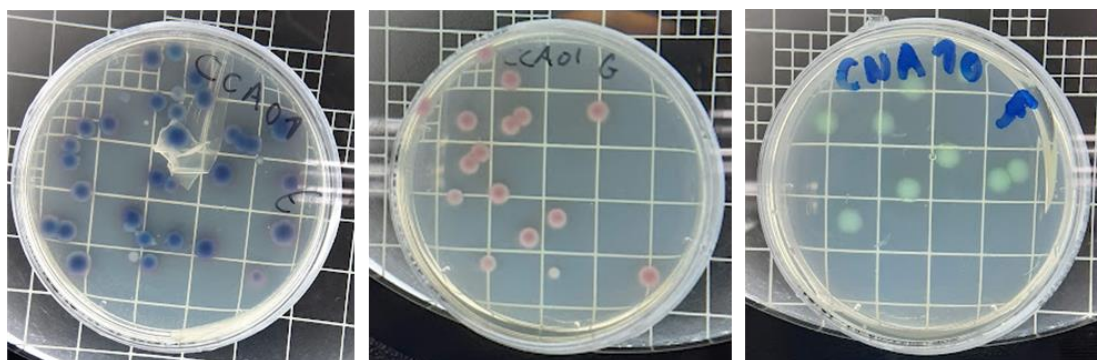
Os meios de cultura são inoculados com microrganismos que o meio inibe o crescimento (grupo 1) e com microrganismos que o meio proporcional o crescimento (grupo 2). Após inoculação, os meios são colocados a incubar. Após 24 horas e 72 horas, as colônias existentes são contabilizadas. Os meios são apenas utilizados quando as placas do grupo 1 não apresentam crescimento de microrganismos e as placas do grupo 2 apresentam crescimento.

A título meramente exemplificativo, a **Figura 2-21** ilustrado os resultados registados em dois tipos de meios de cultura utilizados nos ensaios de qualidade.

Na primeira e na segunda placas o meio de cultura testado é o Chromogenic coliform Agar. Este meio de cultura tem a capacidade de promover o crescimento de bactérias coliformes. No grupo 1, o meio de cultura foi inoculado com amostras de bactéria não coliformes. Já as placas do grupo 2 foram inoculadas com amostras de bactérias coliformes. As placas foram incubadas a 36°C e procedeu-se à sua contagem após 24 e 72 horas. Os resultados dos testes demonstraram que este meio de cultura se encontrava apto para realizar os testes de qualidade microbiológicos, uma vez que as placas do grupo 1 não apresentaram crescimento de colônias e as placas do grupo 2, ilustradas na **Figura 2-21**, apresentaram crescimento de *E.coli* (colônias azuis) e outro tipo de bactérias coliformes (colônias rosa).

Na terceira placa ilustrada foi utilizado o meio de cultura Ágar Colistin Nalidix. Este meio é seletivo para bactérias gram-positivo e inibe bactérias gram-negativo. Assim sendo, as placas do grupo 1 são inoculadas com bactérias gram-negativo e as placas do grupo 2 com bactérias gram-positivo. Após inoculação as placas são colocadas na estufa a 35°C em condições de anaerobiose. Realizou-se a contagem após 24 e 72 horas. Este meio de cultura também se demonstrou apto para ser utilizado nos ensaios de qualidade microbiológicos, uma vez que nas placas do grupo 1 não se verificou nenhum crescimento e nas placas do grupo 2, ilustrado na **Figura 2-21**, houve crescimento de cocos gram-positivo (colônias esverdeadas).

Figura 2-21
Contagem de colônias



3.2.3.3. Cloridrato de metadona saquetas de 15 ml

• Pesquisa da *E.coli*

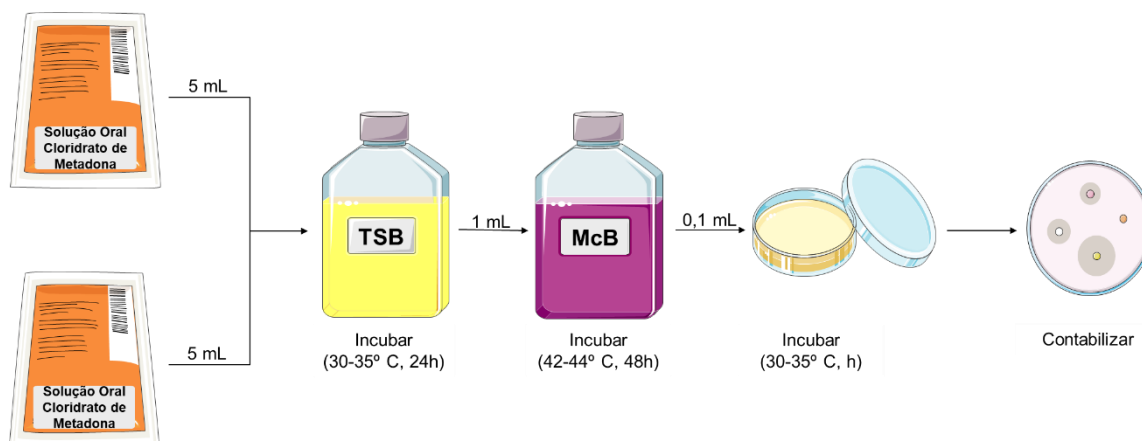
A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria gram-negativa, que se encontra presente nos solos, plantas e no trato intestinal dos animais e do Homem.

Apesar de muitas das estripes serem inofensivas, existem alguns serotipos patogénicos capazes de resistir à ação antimicrobiana e causar, por exemplo, infeções intestinais, gastroenterites e diarreias (Centers for Disease Control and Prevention, 2022).

Como esta bactéria se transmite pela ingestão de produtos contaminados, é essencial avaliar a presença deste microrganismo nas soluções orais produzidas pelo LM.

A avaliação da presença da *E. coli* na solução oral de cloridrato de metadona é realizada de acordo com as indicações do ponto 2.6.13 da Farmacopeia Europeia (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023f) e esquematizado na **Figura 2-22**.

Figura 2-22
*Esquema da pesquisa da *E.coli**



Primeiramente, 10 ml da solução de Cloridrato de Metadona são pipetados para um frasco contendo 90 ml de Trypticase Soy Broth (TSB). A mistura é colocada na estufa com uma temperatura a variar entre os 30°C e os 35°C, durante 24 horas. Após a incubação é realizada uma leitura para detetar crescimento microbiológico (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023f).

Pipeta-se 1 ml de TSB incubado, para um frasco contendo MacConkey Broth (McB) e este é incubado durante 48 horas com uma variação de temperatura entre os 42°C e os 44°C. Verifica-se o crescimento de microrganismos, dois dias após o início da incubação (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023f).

Efetua-se o espalhamento de 0,1 ml de McB incubado, numa placa de petri contendo MacConkey Agar (McA). Esta é incubada entre 30°C e 35°C durante 72 horas (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023f).

Por fim, é realizada a leitura da placa de petri e os resultados são registados.

Para que os resultados obtidos sejam os mais fidedignos possíveis, as leituras realizadas são comparadas com uma amostra chamada branco. O branco é preparado da mesma forma que as amostras de solução oral de cloridrato de metadona, porém o TSB utilizado é puro (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023f).

- **Número total de microrganismos aeróbios viáveis**

A avaliação do número total de microrganismos aeróbios viáveis presentes na solução oral de cloridrato de metadona é realizada de acordo com as indicações do ponto 2.6.12. da Farmacopeia Europeia (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2023e).

A membrana de filtração é posicionada no sistema de filtração (Miliflex Oasis da Merck), ilustrado na **Figura 2-23**, e humedecida com 10 ml de Agar Base Baird Parker (BPB).

Figura 2-23
Sistema de filtração



Pipetar 10 ml da amostra e 40 ml de BPB para a membrana e filtrar (n=2). No meio do ensaio, preparar o branco.

Colocar as membranas nas cassetes de TSB e Sabouraud Dextrose Ágar, ilustradas na **Figura 2-24**, e incubar entre 30°C e 35°C durante 5 dias e entre 20°C e 25°C durante 7 dias, respetivamente.

Figura 2-24
Cassetes de TSB



Após o tempo de incubação realizar as leituras das cassetes e registar os resultados no livro de registos do Cloridrato de metadona saquetas de 15 ml.

3.2.3.4. Água de consumo humano

A qualidade da água de consumo humano em Portugal é regulamentada pelo Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto (até ao momento alterado pelos Decretos-Lei n.ºs 98/2010 de 26 de julho; 152/2017, de 7 de dezembro; e 9/2021, de 29 de janeiro), regulamentação essa que tem subjacente os procedimentos descritos no Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto. O LM recebe e realiza a análise da água proveniente do poço de uma base militar de acordo com o disposto no Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, na sua versão consolidada, ou seja, na versão que resultou das sucessivas alterações legislativas e que se encontra atualmente em vigor.

O controlo, divide-se em dois protocolos, o controlo de rotina 1 e o controlo de rotina 2.

O controlo de rotina 1 é realizado mensalmente e a avaliação microbiológica abrange a averiguação da presença da *E.coli* e de bactérias coliformes. O controlo de rotina 2 é realizado em meses alternados e permite avaliar a presença de *E.coli*, bactérias coliformes *Enterococos*, número de colónias a 22°C e número de colónias a 36°C (Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, 2007).

As amostras de água são inoculadas e monitorizadas de acordo com orientações da Organização Internacional de Normalização específicas para cada microrganismo.

Após o crescimento, as colónias são dissolvidas em soro fisiológico e colocadas no Vitek (Vitek 2 COMPACT, BIOMÉRIUX), ilustrado na **Figura 2-25**, que analisará as amostras, indicando quais os microrganismos presentes e respetivas quantidades.

Figura 2-25
Vitek



A **Tabela 2-1** descreve a quantidade de colónias que devem estar presentes no fim da análise das amostras de água:

Tabela 2-1
Parâmetros microbiológicos indicadores

Parâmetros microbiológicos	Valor paramétrico	Unidade
Escherichia coli	0	N/100 mL
Enterococos	0	N/100 mL
Bactérias coliformes	0	N/100 mL
Número de colónias a 22°C	< 100	N/mL
Número de colónias a 36°C	< 20	N/mL

Nota. Adaptado de Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro do Ministério do Ambiente (<https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/152-2017-114315242>)

4. PONTOS FORTES E PONTOS FRACOS DO ESTÁGIO

Como todas as experiências profissionais, o estágio no LM foi marcado por pontos negativos e positivos.

Graças à inexperiência na área e à falta de uso da Farmacopeia Europeia nas aulas práticas, logo na primeira semana de estágio, houve alguma dificuldade em entender as indicações da realização dos ensaios químicos, o que provocou algumas inseguranças. Porém, com ajuda dos trabalhadores da divisão do Controlo de Qualidade, as inseguranças foram rapidamente ultrapassadas.

Relativamente aos pontos positivos, há que salientar, em primeiro lugar, a equipa do Controlo de Qualidade que se mostrou sempre bastante integrativa e disponível para transmitir os seus conhecimentos. Tal, contribuiu para o esclarecimento de todas as dúvidas emergentes e para a aquisição de novos métodos de trabalho.

A possibilidade de alargar o estágio ao setor da indústria, foi uma mais-valia pois permitiu contactar com um mercado de trabalho mais abrangente, compreender melhor o circuito do medicamento dentro do LM e interagir com um maior número de produtos farmacêuticos.

Por fim, a frequência palestras semanalmente revelou-se bastante favorável à aprendizagem, permitindo a aquisição de novos conhecimentos e consolidação de aprendizagens.

CONCLUSÃO

A fase da produção de um produto farmacêutico é uma etapa fulcral para que a segurança, eficácia e efetividade de qualquer medicamento ou dispositivo médico sejam efetivamente atingidas e preservadas.

A curiosidade e vontade de conhecer áreas profissionais pouco mencionadas ao longo do curso de Farmácia, conduziram à realização do último estágio curricular na área da indústria farmacêutica.

O estágio decorreu no LM onde foi possível desenvolver atividades no departamento da indústria e na divisão de controlo de qualidade.

Apesar das dificuldades sentidas no início, a oportunidade de estagiar no LM e aprender com os seus profissionais revelou-se uma experiência muitíssimo enriquecedora, não só a nível profissional, como também a nível pessoal. O desenvolvimento de atividades em vários setores da indústria permitiu contactar com várias áreas do saber, aperfeiçoar métodos de trabalho e relembrar/aplicar conteúdos abordados ao longo dos quatro anos da licenciatura. Ao nível pessoal, a reflexão autocrítica aliada à partilha de ideias sobre o trabalho desenvolvido permitiram aperfeiçoar a capacidade de comunicação e trabalho em equipa. Por fim, a utilização da Farmacopeia Europeia contribuiu para melhorar o nível de inglês.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd Aziz, Z. H., Katas, H., Omar, M. S., Mohamed Shah, N., & Yusop, S. M. (2022). Formulation and Cost-Effectiveness of Fluid Gels as an Age-Appropriate Dosage Form for Older Adults with Dysphagia. *Dysphagia*, 37(4), 1022–1034. <https://doi.org/10.1007/s00455-021-10365-6>
- Abd El-Ghaffar, M. A., Hashem, M. S., El-Awady, M. K., & Rabie, A. M. (2012). pH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. *Carbohydrate Polymers*, 89(2), 667–675. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.03.074>
- Abedinia, A., Ariffin, F., Huda, N., & Nafchi, A. M. (2017). Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (*Anas platyrhynchos domestica*) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 586–594. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.139>
- Adam, A., Saeed, M., & Mirghani, M. (2013). Fish gelatin and its applications in selected pharmaceutical aspects as alternative source to pork gelatin. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11, 73–79. https://www.researchgate.net/publication/287311456_Fish_gelatin_and_its_applications_in_selected_pharmaceutical_aspects_as_alternative_source_to_pork_gelatin
- Alipal, J., Mohd Pu'ad, N. A. S., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H., Idris, M. I., & Abdullah, H. Z. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*, 42, 240–250. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.12.922>
- Allen, L. V. (2008). Dosage form design and development. *Clinical Therapeutics*, 30(11), 2102–2111. <https://doi.org/10.1016/J.CLINTHERA.2008.11.015>
- Amer, M. A., Essa, E. A., Donia, A. A., & El Maghraby, G. M. (2019). Development and evaluation of liquid oral controlled release systems for Losartan potassium. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(8), 086–093. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90812>
- Attebäck, M., Hedin, B., & Mattsson, S. (2022). Formulation Optimization of Extemporaneous Oral Liquids Containing Naloxone and Propranolol for Pediatric Use. *Scientia Pharmaceutica 2022, Vol. 90, Page 15, 90(1)*, 15. <https://doi.org/10.3390/SCIPHARM90010015>
- Attwood, D., Kubo, W., & Miyazaki, S. (2003). Oral sustained delivery of paracetamol from in situ-gelling gellan and sodium alginate formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 258(1–2), 55–64. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00163-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00163-7)
- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (Infarmed). (2008, Agosto 2). *Edição nº 2 - Ciclo de vida do medicamento*. <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1228470/SaibaMaisSobre2.pdf/f2d5dcac-d7bf-406c-af28-61bed660f3db?version=1.1>
- Aziz, Z. H. A., Katas, H., Omar, M. S., Mohamed Shah, N., Mohamad Yusop, S., Shafiee, M. N., & Mohd Tarmizi, S. F. (2022). Preference, Perception, and Acceptability of Fluid Gels as a

- Potential Age-Appropriate Dosage Form for Elderly Patients with Dysphagia. *Gels*, 8(4), 218. <https://doi.org/10.3390/gels8040218>
- Bansal, P., Jain, S., & Moon, C. (2011). Performance comparison of an adiabatic and an internally cooled structured packed-bed dehumidifier. *Applied Thermal Engineering*, 31(1), 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2010.06.026>
- Barbosa, C. M. (2005a). Xarope Simples, BP2000. Em *Formulário Galénico Português* (1ª).
- Barbosa, C. M. (2005b). Xarope Simples, BP2000, conservado com parabenos. Em *Formulário Galénico Português* (1ª).
- Bradbeer, J. F., Hancocks, R., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2014). Self-structuring foods based on acid-sensitive low and high acyl mixed gellan systems to impact on satiety. *Food Hydrocolloids*, 35, 522–530. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.07.014>
- Brookfield Engineering Laboratories, I. (sem data). Manual de instruções de utilização do reómetro DV3T. Em *Manual de instruções de utilização No. M13-2100-A0415* (M13-167-A0415). Obtido 17 de Março de 2023, de <https://www.brookfieldengineering.com/products/rheometers/-/media/f8d571d827dc4efb8c097caf18ef11ae.ashx>
- Burwell, & Robert L. (1977). Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units—Appendix II Heterogeneous Catalysis. *Advances in Catalysis*, 26(C), 351–392. [https://doi.org/10.1016/S0360-0564\(08\)60074-7](https://doi.org/10.1016/S0360-0564(08)60074-7)
- Calvarro, J., Perez-Palacios, T., & Ruiz, J. (2016). Modification of gelatin functionality for culinary applications by using transglutaminase. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 5–6, 27–32. <https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2016.11.001>
- Carvalho, F., & Moreno, S. (2012). ESTUDOS DE ESTABILIDADE E PRAZOS DE VALIDADE DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS. Em *BOLETIM DO CIM (JAN/FEV 2012)* (pp. 1–2). <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/publicacoes/boletim-do-cim/boletim-do-cim-jan-fev-2012/>
- Cassanelli, M., Prosapio, V., Norton, I., & Mills, T. (2018). Acidified/basified gellan gum gels: The role of the structure in drying/rehydration mechanisms. *Food Hydrocolloids*, 82, 346–354. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.04.024>
- Celus, M., Salvia-Trujillo, L., Kyomugasho, C., Maes, I., Van Loey, A. M., Grauwet, T., & Hendrickx, M. E. (2018). Structurally modified pectin for targeted lipid antioxidant capacity in linseed/sunflower oil-in-water emulsions. *Food chemistry*, 241, 86–96. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.08.056>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2022, Dezembro 1). *E. coli (Escherichia coli)*. <https://www.cdc.gov/ecoli/index.html>
- Chen, H., Lan, G., Ran, L., Xiao, Y., Yu, K., Lu, B., Dai, F., Wu, D., & Lu, F. (2018). A novel wound dressing based on a Konjac glucomannan/silver nanoparticle composite sponge effectively kills bacteria and accelerates wound healing. *Carbohydrate polymers*, 183, 70–80. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.11.029>

- Daou, K., Wang, R. Z., & Xia, Z. Z. (2006). Desiccant cooling air conditioning: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(2), 55–77. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2004.09.010>
- Decreto-Lei n.º 13/2021, de 10 de fevereiro.* (2021, Fevereiro). Estabelece os termos da criação do Laboratório Nacional do Medicamento e da sua sucessão ao Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos. Diário da República n.º 28/2021, Série I de 2021-02-10. <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/13-2021-156974201>
- Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto.* (2006, Agosto 30). Estabelece o regime jurídico dos medicamentos de uso humano, transpondo a Directiva n.º 2001/83/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 6 de Novembro. Legislação Farmacêutica Compilada. https://www.pgdlisboa.pt/leis/lei_mostra_articulado.php?nid=1884&tabela=leis&so_mio=lo=
- Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional.* (2007, Agosto 27). Estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, revendo o Decreto-Lei n.º 243/2001, de 5 de Setembro. Diário da República n.º 164/2007, Série I de 2007-08-27. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/306-2007-640931>
- Dionisio, K. L., Phillips, K., Price, P. S., Grulke, C. M., Williams, A., Biryol, D., Hong, T., & Isaacs, K. K. (2018). Data Descriptor: The Chemical and Products Database, a resource for exposure-relevant data on chemicals in consumer products. *Scientific Data*, 5. <https://doi.org/10.1038/SDATA.2018.125>
- Direção Europeia da Qualidade dos Medicamentos e Cuidados de Saúde. (2022). RECOMMENDATIONS ONDISSOLUTION TESTING. Em *Farmacopeia Europeia 10.0: Vol. Volume I* (10ª, p. 802).
- Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAMV). (2016, Dezembro). *Resumo das características do medicamento: Virbages 4 mg/ml solução oral para suínos.* https://medvet.dgav.pt/products/177-01-09rfvpt-virbages-4-mg-ml-solucao-oral-para-suinos-8242?titular_id=504&
- Durán-Lobato, M., Martín-Banderas, L., Lopes, R., Gonçalves, L. M. D., Fernández-Arévalo, M., & Almeida, A. J. (2016). Lipid nanoparticles as an emerging platform for cannabinoid delivery: physicochemical optimization and biocompatibility. *Drug development and industrial pharmacy*, 42(2), 190–198. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1038274>
- Espitia, P. J. P., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. de J., Soares, N. de F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287–296. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.06.005>
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023a). CITRIC ACID MONOHYDRATE. Em *European Pharmacopoeia: Vol. II* (11ª edition, p. 2356).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023b). ISONIAZID. Em *European Pharmacopoeia: Vol. III* (11ª, p. 3139).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023c). METHADONE HYDROCHLORIDE. Em *European Pharmacopoeia: Vol. III* (11ª, p. 3364).

- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023d). METHYL SALICYLATE. Em *European Pharmacopoeia: Vol. II* (11^a edition, p. 3376).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023e). MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF NON-STERILE PRODUCTS: MICROBIAL ENUMERATION TESTS. Em *European Pharmacopoeia: Vol. I* (11^a edition, pp. 217–222).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023f). MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF NON-STERILE PRODUCTS: TEST FOR SPECIFIED MICRO-ORGANISMS. Em *European Pharmacopoeia: Vol. I* (11^a edition, pp. 221–226).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023g). POTASSIUM CHLORIDE. Em *European Pharmacopoeia: Vol. III* (11^a edition, p. 3759).
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. (2023). SODIUM CITRATE. Em *European Pharmacopoeia: Vol. III* (11^a, p. 3984).
- Frempong, K. E. B., Chen, Y., Liang, L., & Lin, X. (2022). Effect of calcium chloride and 1-methylcyclopropene combined treatment on pectin degradation and textural changes of Eureka lemon during postharvest storage. *Current Research in Food Science*, 5, 1412. <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2022.08.023>
- George, M., & Abraham, T. E. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. *Journal of Controlled Release*, 114(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2006.04.017>
- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., & Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32(1), 195–198. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7)
- Guerreiro, F., Pontes, J. F., Rosa da Costa, A. M., & Grenha, A. (2019). Spray-drying of konjac glucomannan to produce microparticles for an application as antitubercular drug carriers. *Powder Technology*, 342, 246–252. <https://doi.org/10.1016/J.POWTEC.2018.09.068>
- Guerreiro, F., Swedrowska, M., Patel, R., Flórez-Fernández, N., Torres, M. D., Rosa da Costa, A. M., Forbes, B., & Grenha, A. (2021). Engineering of konjac glucomannan into respirable microparticles for delivery of antitubercular drugs. *International journal of pharmaceutics*, 604. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2021.120731>
- Günter, E. A., Popeyko, O. V., Belozarov, V. S., Martinson, E. A., & Litvinets, S. G. (2020). Physicochemical and swelling properties of composite gel microparticles based on alginate and callus cultures pectins with low and high degrees of methylesterification. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 863–870. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.189>
- Guo, J., & Kaletunç, G. (2016). Dissolution kinetics of pH responsive alginate-pectin hydrogel particles. *Food Research International*, 88, 129–139. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.05.020>
- Gupta, N., Jawandha, S. K., & Gill, P. S. (2011). Effect of calcium on cold storage and post-storage quality of peach. *Journal of food science and technology*, 48(2), 225. <https://doi.org/10.1007/S13197-010-0116-Z>

- Hodsdon, A. C., Mitchell, J. R., Davies, M. C., & Melia, C. D. (1995). Structure and behaviour in hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 3. The influence of pH on the sustained-release performance and internal gel structure of sodium alginate matrices. *Journal of Controlled Release*, 33(1), 143–152. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(94\)00076-7](https://doi.org/10.1016/0168-3659(94)00076-7)
- Hofmanová, J. K., Rajabi-Siahboomi, A., Haque, S., Mason, J., Teckoe, J., To, D., & Batchelor, H. K. (2019). Developing methodology to evaluate the oral sensory features of pharmaceutical tablet coatings. *International Journal of Pharmaceutics*, 562, 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.046>
- Huang, Y. C., Yang, C. Y., Chu, H. W., Wu, W. C., & Tsai, J. S. (2015). Effect of alkali on konjac glucomannan film and its application on wound healing. *Cellulose*, 22(1), 737–747. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0512-z>
- Hussain, S., Liu, T., Javed, M. S., Aslam, N., & Zeng, W. (2017). Highly reactive OD ZnS nanospheres and nanoparticles for formaldehyde gas-sensing properties. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239, 1243–1250. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2016.09.128>
- Instituto Politécnico da Guarda. (2022). *Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais*. Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais
- Itoh, K., Kubo, W., Fujiwara, M., Hirayama, T., Miyazaki, S., Dairaku, M., Togashi, M., Mikami, R., & Attwood, D. (2006). The influence of variation of gastric pH on the gelation and release characteristics of in situ gelling pectin formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 312(1–2), 37–42. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2005.12.041>
- Jindal, M., Kumar, V., Rana, V., & Tiwary, A. K. (2013). Aegle marmelos fruit pectin for food and pharmaceuticals: Physico-chemical, rheological and functional performance. *Carbohydrate Polymers*, 93(2), 386–394. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.12.012>
- Johnson, M., & Hillier, K. (2007). Sodium Citrate. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62638-8>
- Kanniyappan, H., Thangavel, P., Chakraborty, S., Arige, V., & Muthuvijayan, V. (2020). Design and evaluation of Konjac glucomannan-based bioactive interpenetrating network (IPN) scaffolds for engineering vascularized bone tissues. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 30–40. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.12.012>
- Karbuz, P., & Tugrul, N. (2021). Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel. *Journal of food science and technology*, 58(2), 641–650. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04578-0>
- Karnjanapratum, S., Sinthusamran, S., Sae-leaw, T., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2017). Characteristics and Gel Properties of Gelatin from Skin of Asian Bullfrog (*Rana tigerina*). *Food Biophysics*, 12(3), 289–298. <https://doi.org/10.1007/S11483-017-9485-4/METRICS>
- Kulkarni, R. V., Sreedhar, V., Mutalik, S., Setty, C. M., & Sa, B. (2010). Interpenetrating network hydrogel membranes of sodium alginate and poly(vinyl alcohol) for controlled release of prazosin hydrochloride through skin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(4), 520–527. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2010.07.009>

- Kumosa, L. S., Zetterberg, V., & Schouenborg, J. (2018). Gelatin promotes rapid restoration of the blood brain barrier after acute brain injury. *Acta Biomaterialia*, *65*, 137–149. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2017.10.020>
- Kuo, M.-S., Mort, A. J., & Dell, A. (1986). Identification and location of l-glycerate, an unusual acyl substituent in gellan gum. *Carbohydrate Research*, *156*, 173–187. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90109-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90109-5)
- Laboratório Nacional do Medicamento. (sem data). Obtido 22 de Maio de 2023, de <https://lm.exercito.pt/historia.html>
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, *37*(1), 106–126. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2011.06.003>
- Lei n.º 2/2020, de 31 de março. (2020, Março 31). Orçamento do Estado para 2020. Diário da República, 1.ª série . https://www.pgdlisboa.pt/leis/lei_mostra_articulado.php?ficha=401&artigo_id=&nid=3259&pagina=5&tabela=leis&nversao=&so_miolo=
- Li, B., & Xie, B. (2004). Synthesis and characterization of konjac glucomannan/poly(vinyl alcohol) interpenetrating polymer networks. *Journal of Applied Polymer Science*, *93*(6), 2775–2780. <https://doi.org/10.1002/APP.20769>
- Li, J., Ma, J., Chen, S., He, J., & Huang, Y. (2018). Characterization of calcium alginate/deacetylated konjac glucomannan blend films prepared by Ca²⁺ crosslinking and deacetylation. *Food Hydrocolloids*, *82*, 363–369. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.04.022>
- Lima-Sousa, R., de Melo-Diogo, D., Alves, C. G., Cabral, C. S. D., Miguel, S. P., Mendonça, A. G., & Correia, I. J. (2020). Injectable in situ forming thermo-responsive graphene based hydrogels for cancer chemo-photothermal therapy and NIR light-enhanced antibacterial applications. *Materials Science and Engineering: C*, *117*, 111294. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.111294>
- Lin, W., Ni, Y., & Pang, J. (2020). Size effect-inspired fabrication of konjac glucomannan/polycaprolactone fiber films for antibacterial food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, *149*, 853–860. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.01.242>
- Liu, Y., Xi, Y., Zhao, J., Zhao, J., Li, J., Huang, G., Li, J., Fang, F., Gu, L., & Wang, S. (2019). Preparation of therapeutic-laden konjac hydrogel for tumor combination therapy. *Chemical Engineering Journal*, *375*, 122048. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2019.122048>
- Lopez, F. L., Ernest, T. B., Orlu, M., & Tuleu, C. (2018). The effect of administration media on palatability and ease of swallowing of multiparticulate formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, *551*(1–2), 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.08.021>
- López-Mata, M. A., Gastelum-Cabrera, M., Valbuena-Gregorio, E., Zamudio-Flores, P. B., Burruel-Ibarra, S. E., Morales-Figueroa, G. G., Quihui-Cota, L., & Juárez-Onofre, J. E. (2018). Physicochemical properties of novel pectin/Aloe gel membranes. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*, *27*(8), 545–553. <https://doi.org/10.1007/S13726-018-0631-8/METRICS>

- Lv, L. C., Huang, Q. Y., Ding, W., Xiao, X. H., Zhang, H. Y., & Xiong, L. X. (2019). Fish gelatin: The novel potential applications. *Journal of Functional Foods*, *63*.
<https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103581>
- Ma, G., Fang, D., Liu, Y., Zhu, X., & Nie, J. (2012). Electrospun sodium alginate/poly(ethylene oxide) core-shell nanofibers scaffolds potential for tissue engineering applications. *Carbohydrate polymers*, *87*(1), 737–743. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2011.08.055>
- Ma, K., Huang, D., Cai, J., Cai, X., Gong, L., Huang, P., Wang, Y., & Jiang, T. (2016). Surface functionalization with strontium-containing nanocomposite coatings via EPD. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, *146*, 97–106. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2016.05.036>
- Ma, X., Chen, W., Yan, T., Wang, D., Hou, F., Miao, S., & Liu, D. (2020). Comparison of citrus pectin and apple pectin in conjugation with soy protein isolate (SPI) under controlled dry-heating conditions. *Food Chemistry*, *309*, 125501.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125501>
- Makaremi, M., Yousefi, H., Cavallaro, G., Lazzara, G., Goh, C. B. S., Lee, S. M., Solouk, A., & Pasbakhsh, P. (2019). Safely Dissolvable and Healable Active Packaging Films Based on Alginate and Pectin. *Polymers 2019, Vol. 11, Page 1594*, *11*(10), 1594.
<https://doi.org/10.3390/POLYM11101594>
- Mariod, A., & Adam, H. (2013). *Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications*. 135–147.
https://www.researchgate.net/publication/236735648_Review_Gelatin_source_extraction_and_industrial_applications
- Martau, G. A., Mihai, M., & Vodnar, D. C. (2019). The Use of Chitosan, Alginate, and Pectin in the Biomedical and Food Sector-Biocompatibility, Bioadhesiveness, and Biodegradability. *Polymers*, *11*(11). <https://doi.org/10.3390/POLYM11111837>
- Maxwell, E. G., Belshaw, N. J., Waldron, K. W., & Morris, V. J. (2012). Pectin – An emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, *24*(2), 64–73.
<https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2011.11.002>
- METACHEM. (2022, Setembro 1). *Quais os benefícios do citrato de sódio na alimentação humana*. <https://metachem.com.br/blog/quais-os-beneficios-do-citrato-de-sodio-na-alimentacao-humana/>
- Miguel, S. P., Cabral, C. S. D., Moreira, A. F., & Correia, I. J. (2019). Production and characterization of a novel asymmetric 3D printed construct aimed for skin tissue regeneration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *181*, 994–1003.
<https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2019.06.063>
- Miret-Salvador, M., Valor-Gisbert, M., Ruiz-Lozano, N., & Gracia-Barber, M. D. (2022). Eosinophilic esophagitis. A not so rare clinical case. *Semergen*, *48*(2), 124–128.
<https://doi.org/10.1016/J.SEMERG.2021.04.012>
- Moorthy, I. G., Maran, J. P., Surya, S. M., Naganyashree, S., & Shivamathi, C. S. (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, *72*, 1323–1328.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.10.037>

- Morais, L. (2019). *Síntese e caracterização de hidrogéis de alginato e mucilagem de ORA-PRO-NOBIS (Pereskia aculeata MILLER)* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras].
http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/39223/2/DISSERTA%C3%87%C3%83O_S%C3%ADntese%20e%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20de%20hidrog%C3%A9is%20a%20partir%20de%20alginato%20e%20mucilagem%20de%20ora-pro-nobis%20%28Pereskia%20aculeata%20Miller%29.pdf
- Munarin, F., Tanzi, M. C., & Petrini, P. (2012). Advances in biomedical applications of pectin gels. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 681–689.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2012.07.002>
- National Center for Biotechnology Information. (2023). *PubChem Compound Summary for CID 6224, Sodium Citrate*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-Citrate>
- NCIthesaurus. (2023, Junho 26). *Sodium Citrate (Code C62075)*.
https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C62075
- Newman, R., Vilardell, N., Clavé, P., & Speyer, R. (2016). Effect of Bolus Viscosity on the Safety and Efficacy of Swallowing and the Kinematics of the Swallow Response in Patients with Oropharyngeal Dysphagia: White Paper by the European Society for Swallowing Disorders (ESSD). *Dysphagia*, 31(2), 232–249. <https://doi.org/10.1007/s00455-016-9696-8>
- Nik Muhammad, N. A., Huda, N., Karim, A. A., & Mohammadi Nafchi, A. (2018). Effects of acid type extraction on characterization and sensory profile of duck feet gelatin: towards finding bovine gelatin alternative. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 480–486. <https://doi.org/10.1007/S11694-017-9661-8/METRICS>
- Norton, A. B., Cox, P. W., & Spyropoulos, F. (2011). Acid gelation of low acyl gellan gum relevant to self-structuring in the human stomach. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1105–1111. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2010.10.007>
- Nunes, S. P., Sougrat, R., Hooghan, B., Anjum, D. H., Behzad, A. R., Zhao, L., Pradeep, N., Pinnau, I., Vainio, U., & Peinemann, K.-V. (2010). Ultraporous Films with Uniform Nanochannels by Block Copolymer Micelles Assembly. *Macromolecules*, 43(19), 8079–8085. <https://doi.org/10.1021/ma101531k>
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *LWT*, 41(10), 1862–1870. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2008.01.007>
- Ong, J. J.-X., Steele, C. M., & Duizer, L. M. (2018). Sensory characteristics of liquids thickened with commercial thickeners to levels specified in the International Dysphagia Diet Standardization Initiative (IDDSI) framework. *Food Hydrocolloids*, 79, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.035>
- Otterlei, M., Ostgaard, K., Skjåk-Bræk, G., Smidsrød, O., Soon-Shiong, P., & Espevik, T. (1991). Induction of cytokine production from human monocytes stimulated with alginate. *Journal of immunotherapy : official journal of the Society for Biological Therapy*, 10(4), 286–291. <https://doi.org/10.1097/00002371-199108000-00007>

- Özbaş, Z., Özkahraman, B., Akgüner, Z. P., & Bal-Öztürk, A. (2022). Evaluation of modified pectin/alginate buccal patches with enhanced mucoadhesive properties for drug release systems: In-vitro and ex-vivo study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *67*, 102991. <https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2021.102991>
- Pang, Z., Deeth, H., Sopade, P., Sharma, R., & Bansal, N. (2014). Rheology, texture and microstructure of gelatin gels with and without milk proteins. *Food Hydrocolloids*, *35*, 484–493. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.07.007>
- Perez-Gago, M. B., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., & Del Río, M. A. (2005). Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, *36*(1), 77–85. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2004.10.009>
- Petkowicz, C. L. O., Vriesmann, L. C., & Williams, P. A. (2017). Pectins from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin. *Food Hydrocolloids*, *65*, 57–67. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.10.040>
- Picone, C. S. F., & Cunha, R. L. (2011). Influence of pH on formation and properties of gellan gels. *Carbohydrate Polymers*, *84*(1), 662–668. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.12.045>
- Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., & Hosseini, S. S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, *98*, 709–716. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.146>
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., & Martín-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(1), 240–246. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.05.021>
- Rojas, R., Alvarez-Pérez, O. B., Contreras-Esquivel, J. C., Vicente, A., Flores, A., Sandoval, J., & Aguilar, C. N. (2020). Valorisation of Mango Peels: Extraction of Pectin and Antioxidant and Antifungal Polyphenols. *Waste and Biomass Valorization*, *11*(1), 89–98. <https://doi.org/10.1007/S12649-018-0433-4/METRICS>
- Rojas-Graü, M. A., Tapia, M. S., & Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT*, *41*(1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.01.009>
- Sá, N. M. P. de, Oliveira, F. M. de, Sacramento, C. L. G., Oliveira, M. I. dos S., & Almeida, F. L. T. (2023). Programa de Enfermagem de Reabilitação na pessoa com Deglutição Comprometida em contexto de AVC: Estudo Exploratório. *Revista Portuguesa de Enfermagem de Reabilitação*, *6*(1), 1–10. <https://doi.org/10.33194/RPER.2023.265>
- Sabino, I. J., Lima-Sousa, R., Alves, C. G., Melo, B. L., Moreira, A. F., Correia, I. J., & de Melo-Diogo, D. (2021). Injectable in situ forming hydrogels incorporating dual-nanoparticles for chemo-photothermal therapy of breast cancer cells. *International Journal of Pharmaceutics*, *600*, 120510. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2021.120510>

- Sams, C. E., Conway, W. S., Abbott, J. A., Lewis, R. J., & Ben-Shalom, N. (2019). Firmness and Decay of Apples following Postharvest Pressure Infiltration of Calcium and Heat Treatment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *118*(5), 623–627. <https://doi.org/10.21273/JASHS.118.5.623>
- Santos, N. L., Ragazzo, G. de O., Cerri, B. C., Soares, M. R., Kieckbusch, T. G., & da Silva, M. A. (2020). Physicochemical properties of konjac glucomannan/alginate films enriched with sugarcane vinasse intended for mulching applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 1717–1726. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.10.049>
- Serviço de Controlo de Qualidade. (2013). *Produto acabado solução oral Cloreto de Potássio 5%*.
- Shahzad, A., Khan, A., Afzal, Z., Umer, M. F., Khan, J., & Khan, G. M. (2019). Formulation development and characterization of cefazolin nanoparticles-loaded cross-linked films of sodium alginate and pectin as wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *124*, 255–269. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.11.090>
- Sharma, R., Kaith, B. S., Kalia, S., Pathania, D., Kumar, A., Sharma, N., Street, R. M., & Schauer, C. (2015). Biodegradable and conducting hydrogels based on Guar gum polysaccharide for antibacterial and dye removal applications. *Journal of Environmental Management*, *162*, 37–45. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.07.044>
- Sharma, S., Kitano, H., & Sagara, K. (2004). Phase Change Materials for Low Temperature Solar Thermal Applications. *Res Rep Fac Eng Mie Univ*, *29*, 31–64. https://www.researchgate.net/publication/241091651_Phase_Change_Materials_for_Low_Temperature_Solar_Thermal_Applications
- Sultan, A. (2004). Absorption/regeneration non-conventional system for water extraction from atmospheric air. *Renewable Energy*, *29*(9), 1515–1535. [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(03\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(03)00020-X)
- Sultana, S., Ali, M. E., & Ahamad, M. N. U. (2018). Gelatine, collagen, and single cell proteins as a natural and newly emerging food ingredients. *Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*, 215–239. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101892-7.00011-0>
- Sun, D., Chen, X., & Zhu, C. (2020). Physicochemical properties and antioxidant activity of pectin from hawthorn wine pomace: A comparison of different extraction methods. *International journal of biological macromolecules*, *158*, 1239–1247. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.052>
- Sun, J., Jiang, H., Wu, H., Tong, C., Pang, J., & Wu, C. (2020). Multifunctional bionanocomposite films based on konjac glucomannan/chitosan with nano-ZnO and mulberry anthocyanin extract for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105942. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105942>
- Sun, J., & Tan, H. (2013). Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials (Basel, Switzerland)*, *6*(4), 1285–1309. <https://doi.org/10.3390/MA6041285>
- Tahtat, D., Bouaicha, M. N., Benamer, S., Nacer-Khodja, A., & Mahlous, M. (2017). Development of alginate gel beads with a potential use in the treatment against acute

- lead poisoning. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 1010–1016. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.07.137>
- Thakur, S., Sharma, B., Verma, A., Chaudhary, J., Tamulevicius, S., & Thakur, V. K. (2018). Recent progress in sodium alginate based sustainable hydrogels for environmental applications. *Journal of Cleaner Production*, *198*, 143–159. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.06.259>
- The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Human Medicines Evaluation Unit. (1998). *NOTE FOR GUIDANCE ON DEVELOPMENT PHARMACEUTICS* (p. 3). <http://www.eudra.org/emea.htmlLondon,28January1998CPMP/QWP/155/96>
- Thomas, L. (2014). FORMULATION AND EVALUATION OF FLOATING ORAL IN-SITU GEL OF METRONIDAZOLE. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*(10). https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/2398/pdf_296
- Thoruwa, T. F. N., Smith, J. E., Grant, A. D., & Johnstone, C. M. (1996). Developments in solar drying using forced ventilation and solar regenerated desiccant materials. *Renewable Energy*, *9*(1–4), 686–689. [https://doi.org/10.1016/0960-1481\(96\)88378-9](https://doi.org/10.1016/0960-1481(96)88378-9)
- Tian, H., Xiong, J., Yu, H., Chen, C., Xu, H., & Lou, X. (2023). Characterize the physicochemical properties and microstructure of pectin from high-pressure and thermal processed cloudy hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) juice based on acid heating extraction. *Food Chemistry*, *407*, 135199. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135199>
- Trefná, H. D., & Ström, A. (2019). Hydrogels as a water bolus during hyperthermia treatment. *Physics in medicine and biology*, *64*(11). <https://doi.org/10.1088/1361-6560/AB0C29>
- Treuting, P. M., Arends, M. J., & Dintzis, S. M. (2018). Upper Gastrointestinal Tract. *Comparative Anatomy and Histology*, 191–211. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802900-8.00011-7>
- Ullah, K., Sohail, M., Buabeid, M. A., Murtaza, G., Ullah, A., Rashid, H., Khan, M. A., & Khan, S. A. (2019). Pectin-based (LA-co-MAA) semi-IPNS as a potential biomaterial for colonic delivery of oxaliplatin. *International Journal of Pharmaceutics*, *569*, 118557. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2019.118557>
- Vallejo-Castillo, V., Rodríguez-Stouvenel, A., Martínez, R., & Bernal, C. (2020). Development of alginate-pectin microcapsules by the extrusion for encapsulation and controlled release of polyphenols from papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Food Biochemistry*, *44*(9), e13331. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13331>
- Walsh, J., Ranmal, S. R., Ernest, T. B., & Liu, F. (2018). Patient acceptability, safety and access: A balancing act for selecting age-appropriate oral dosage forms for paediatric and geriatric populations. *International Journal of Pharmaceutics*, *536*(2), 547–562. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.017>
- Wang, C., Guo, Z., Liang, J., Li, N., Song, R., Luo, L., Ai, Y., Li, X., & Tang, S. (2022). An oral delivery vehicle based on konjac glucomannan acetate targeting the colon for inflammatory bowel disease therapy. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2022.1025155>

- Wang, K., Wu, K., Xiao, M., Kuang, Y., Corke, H., Ni, X., & Jiang, F. (2017). Structural characterization and properties of konjac glucomannan and zein blend films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 1096–1104. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.07.127>
- Wang, L., Mu, R. J., Lin, L., Chen, X., Lin, S., Ye, Q., & Pang, J. (2019). Bioinspired aerogel based on konjac glucomannan and functionalized carbon nanotube for controlled drug release. *International journal of biological macromolecules*, *133*, 693–701. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.04.148>
- Wang, W., Chen, W., Zou, M., Lv, R., Wang, D., Hou, F., Feng, H., Ma, X., Zhong, J., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2018). Applications of power ultrasound in oriented modification and degradation of pectin: A review. *Journal of Food Engineering*, *234*, 98–107. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.04.016>
- Wang, W., & Wang, A. (2010). Synthesis and swelling properties of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on sodium alginate-g-poly(sodium acrylate) and polyvinylpyrrolidone. *Carbohydrate Polymers*, *80*(4), 1028–1036. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.01.020>
- Wellner, N., Kačuráková, M., Malovíková, A., Wilson, R. H., & Belton, P. S. (1998). FT-IR study of pectate and pectinate gels formed by divalent cations. *Carbohydrate Research*, *308*(1–2), 123–131. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(98\)00065-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(98)00065-2)
- Xu, M., Huang, J., Jiang, S., He, J., Wang, Z., Qin, H., & Guan, Y. Q. (2022). Glucose sensitive konjac glucomannan/concanavalin A nanoparticles as oral insulin delivery system. *International journal of biological macromolecules*, *202*, 296–308. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.01.048>
- Yang, L., & Paulson, A. T. (2000). Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, *33*(7), 563–570. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00092-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00092-2)
- Ye, S., Zongo, A. W. S., Shah, B. R., Li, J., & Li, B. (2021). Konjac Glucomannan (KGM), Deacetylated KGM (Da-KGM), and Degraded KGM Derivatives: A Special Focus on Colloidal Nutrition. *Journal of agricultural and food chemistry*, *69*(44), 12921–12932. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.1C03647>
- Yuan, Y., Xu, X., Gong, J., Mu, R., Li, Y., Wu, C., & Pang, J. (2019). Fabrication of chitosan-coated konjac glucomannan/sodium alginate/graphene oxide microspheres with enhanced colon-targeted delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, *131*, 209–217. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.03.061>
- Zeng, Y., Wang, Y., Tang, J., Zhang, H., Dai, J., Li, S., Yan, J., Qin, W., & Liu, Y. (2022). Preparation of sodium alginate/konjac glucomannan active films containing lycopene microcapsules and the effects of these films on sweet cherry preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *215*, 67–78. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.06.085>
- Zhao, Y., Chen, H., Ran, K., Zhang, Y., Pan, H., Shangguan, J., Tong, M., Yang, J., Yao, Q., & Xu, H. (2023). Porous hydroxyapatite scaffold orchestrated with bioactive coatings for rapid bone repair. *Biomaterials advances*, *144*. <https://doi.org/10.1016/J.BIOADV.2022.213202>