



# UFBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA POLITÉCNICA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

MAEI

DOUTORADO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

TAIRINE MARIA MEDRADO SANTOS

POLIMERIZAÇÃO DE METACRILATO DE  
METILA EM PRESENÇA DE CO<sub>2</sub>  
SUPERCRÍTICO PARA INCORPORAÇÃO *IN*  
*SITU* DE ÓLEO DE COPAÍBA

**PEI**

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial

SALVADOR  
2020

TAIRINE MARIA MEDRADO SANTOS

**Polimerização de Metacrilato de Metila em Presença de CO<sub>2</sub>  
Supercrítico para Incorporação *in situ* de Óleo de Copaíba**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia Industrial.

**Orientadores:**

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Elaine C. M. Cabral Albuquerque  
Prof. Dr Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo

SALVADOR – BA

2020

---

S237 Santos, Tairine Maria Medrado.

Polimerização de metacrilato de metila em presença de CO<sub>2</sub> supercrítico para incorporação *in situ* de óleo de copaíba / Tairine Maria Medrado Santos. – Salvador, 2020.

154 f.: il. color.

Orientadora: Profa. Dra. Elaine C. M. Cabral Albuquerque.  
Coorientador: Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo.

Tese (doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica, 2020.

1. Metacrilato de metila. 2. Polimerização. 3. Dióxido de carbono supercrítico. 4. Óleo de copaíba. I. Albuquerque, Elaine C. M. Cabral. II. Melo, Silvio Alexandre Beisl Vieira de. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDD: 668.9

---

TAIRINE MARIA MEDRADO SANTOS

**“Polimerização de Metacrilato de Metila em Presença de CO<sub>2</sub> Supercrítico para Incorporação in situ de Óleo de Copaíba”.**

**TAIRINE MARIA MEDRADO SANTOS**

Tese submetida ao corpo docente do programa de pós-graduação em Engenharia Industrial da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de doutor em Engenharia Industrial.

Examinada por:

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Elaine C. M. Cabral Albuquerque (PEI-UFBA)



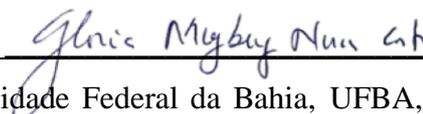
Doutora em Engenharia Química, pela Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil, 2005.

Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo (PEI-UFBA)



Doutor em Engenharia Química, pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE/UFRJ, Brasil, 1997.

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Gloria Meyberg Nunes Costa (PEI-UFBA)



Doutora em Engenharia Industrial, pela Universidade Federal da Bahia, UFBA, Brasil, 2009.



Documento assinado digitalmente  
Pedro Henrique Hermes de Araujo  
Data: 01/12/2020 22:22:50-0300  
CPF: 018.308.657-06

Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araujo (UFSC)

Doutor em Engenharia Química, pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE/UFRJ, Brasil, 1999.



Prof. Dr. Fábio Rocha Formiga (Fiocruz)

Doutor em Farmacologia, pela Universidade de Navarra, UNA, Espanha, 2011.

Profa. Dra. Simone Mazzutti (UFS)



Doutora em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil, 2016.

Salvador, BA - BRASIL  
Outubro/2020

Este trabalho é dedicado aos meus pais Osemar e Tatiana, a meu irmão e companheiro Dannel Tosta, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pelo dom da vida. Sinto-me feliz por ter muito a agradecer nesta jornada de doutoramento. Foram muitos os conhecimentos acadêmicos, obstáculos, desafios individuais, perseverança, e experiências únicas que proporcionaram amadurecimento profissional e pessoal, contribuindo para o desenvolvimento de um novo olhar sobre o mundo. É necessário mais que vontade e sonho para conseguir alcançar um ideal, por isso registro aqui as pessoas que contribuíram para que eu conseguisse finalizar esse doutoramento.

Ao Programa de Engenharia Industrial PEI, pela oportunidade de realização de trabalhos em minha área de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Silvio A. B. Vieira de Melo, que acreditou em mim e propôs o tema desenvolvido no trabalho. Obrigada pela confiança, oportunidade e orientações.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Elaine C. de Magalhães Cabral Albuquerque, pela orientação, paciência, dedicação, companheirismo, diversas conversas pelos corredores e principalmente pelos ensinamentos transmitidos, sem ele, este trabalho não seria possível.

Ao professor Dr. José Carlos Pinto, pela oportunidade concedida na UFRJ e todo apoio para o desenvolvimento deste trabalho, e a Débora Way pela troca de conhecimentos.

Ao professor Dr. Ricardo Machado, pela oportunidade na UFSC, por sua hospitalidade, disponibilidade em tirar minhas dúvidas, ensinamentos, sem a sua ajuda não teria conseguido finalizar o trabalho.

A Evertan Rebelatto (Eto) (LATESC-UFSC) pela parceria ao desenvolver o primeiro artigo, paciência, dedicação e ensinamentos trocados.

A Daniela Bresolin e Luiz Belchior (LPC-UFSC), por toda a ajuda nas análises, conversas e desabafos, vocês são especiais!!! Dani em especial pela parceria no desenvolvimento do segundo artigo, sou imensamente grata!

À equipe da secretária do PEI pelo apoio e orientação, especialmente a Tati e Thamiles. Pela paciência em esclarecer todas as minhas dúvidas e sempre se mostraram disponíveis para ajudar no que foi preciso.

Aos amigos do PEI, Ana Cláudia, Diego Pascoal, Emmanuelle Soares e Luciana Toralles pela amizade, conversas, desabafos, risadas, companheirismo e pelas angústias divididas e vividas por nós.

Ao Técnico de laboratório Valdinei pela paciência e pelos momentos de descontração e a ajuda fundamental nos experimentos, tornando tudo possível.

Às minhas alunas de iniciação científica Bianca Chaves, Júlia Cerqueira, Melina Canário, Tatiana Dantas e Vanessa Lyra, pelas conversas, apoio, desabafos, risadas e principalmente pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

Ao meu companheiro, Danniell Tosta por toda ajuda, paciência, carinho, atenção e compreensão da minha dedicação ao desenvolvimento deste trabalho e vida compartilhada. Te amo!

Aos meus pais Osemar Nunes e Tatiana Medrado e a meu irmão Saulo Medrado, por me apoiarem e acreditarem no meu potencial sempre me incentivando. Amo vocês!!

Aos meus amigos de vida, Higo Felipe, Jayelen, Jandir Freitas, Jéssica Camila, Juliana Pitus, Leila Oliveira, Lucas Medrado, Mattheus Cerqueira, Rhuana Macedo, Verenna Barros pelas palavras de motivação e aos meus amigos que me apoiaram na estadia em Salvador, Mariana, Geraldo e Roberta, por tornarem os dias mais leves.

À FAPESB pela provisão da bolsa de doutorado.

A todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim e pelo sucesso deste trabalho.

“Sei que tudo tem seu tempo, e sei que o tempo é curto e a estrada é longa demais, é preciso ser como o vento, sem olhar pra traz, semear a paz, dessa luz maior”.

Santos, Tairine M. M Polimerização de Metacrilato de Metila em Presença de CO<sub>2</sub> Supercrítico para Incorporação *in situ* de Óleo de Copaíba, 2020. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

## RESUMO

A polimerização do metacrilato de metila (MMA) na presença de dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>) foi estudada como alternativa para incorporar o óleo de copaíba (*Copaiba ssp.*) em partículas de polimetacrilato de metila (PMMA). A utilização de scCO<sub>2</sub> para a obtenção de micropartículas com simultânea incorporação de bioativos oferece uma perspectiva promissora, para reduzir o número de etapas do processo, permitir melhor controle da distribuição de tamanhos, além de eliminar o solvente residual. Neste trabalho, as partículas de PMMA foram produzidas através da polimerização por dispersão em scCO<sub>2</sub> na presença de poli (dimetil siloxano) vinil terminal (PDMS-V), como agente surfactante, e peróxido de benzoíla (BPO), como iniciador. Para garantir uma fase única no início da polimerização, é preciso que o monômero, o iniciador e o surfactante sejam completamente miscíveis em CO<sub>2</sub>, formando um sistema homogêneo. Por isso, foi feito um estudo prévio de equilíbrio de fases do sistema em estudo. Dados inéditos de equilíbrio de fases a alta pressão para o sistema binário CO<sub>2</sub> + MMA e para o ternário CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V foram medidos utilizando o método estático sintético em uma célula de equilíbrio de aço inoxidável com volume variável. A partir desses dados, adotou-se a faixa de pressão de 160 a 180 bar, a 80 °C, e as reações foram realizadas por quatro horas. Diferentes concentrações de surfactante em relação ao monômero e do monômero em relação ao volume total foram testadas, para se observarem os respectivos efeitos na distribuição de tamanhos e morfologia das partículas de PMMA. Os resultados indicam que partículas esféricas de PMMA contendo até 5% m/m de óleo de copaíba, 10% m/m de PDMS-V, 2% m/m de BPO em relação ao monômero e 10% m/m de MMA podem ser preparadas. Observou-se ainda que a presença de óleo de copaíba afetou a polimerização, pois os diâmetros médios das partículas contendo o óleo de copaíba variaram de 151,8 a 257,1 µm, ou seja, maiores que o diâmetro médio das partículas obtidas com 10% m/m de PDMS-V (28,6 µm a 34,1 µm) e 10% m/m de MMA (42,5 µm a 48,4 µm).

**Palavras-Chave:** dióxido de carbono supercrítico; polimerização em dispersão; metacrilato de metila; poli (metacrilato de metila); micropartículas poliméricas; óleo de copaíba.

Santos, Tairine M. M Polimerização de Metacrilato de Metila em Presença de CO<sub>2</sub> Supercrítico para Incorporação *in situ* de Óleo de Copaíba, 2020. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

## ABSTRACT

The methyl methacrylate polymerization (MMA) in the presence of supercritical carbon dioxide (scCO<sub>2</sub>) was studied as an alternative to incorporate the copaiba oil (*Copaiba* spp.) in particles of methyl polymethacrylate (PMMA). The use of scCO<sub>2</sub> to obtain microparticles with simultaneous incorporation of bioactive offers a promising perspective, to allow better control of the size distribution, in addition to eliminating the residual solvent. In this paper, the PMMA particles were produced through the polymerization by dispersal in scCO<sub>2</sub> in the presence of poly (dimethyl siloxane) terminal vinyl (PMDS-V) as surfactant agent and benzoyl peroxide as initiator. To ensure a unique phase in the polymerization initiation, it is necessary that the monomer, the initiator, and the surfactant be completely miscible in CO<sub>2</sub>, forming a homogeneous system., therefore a previous study of the phase balance of the system under study. Unpublished high pressure phase balance data for binary system CO<sub>2</sub> + MMA and to the ternary system CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V were executed using a syntactic-static method in a stainless-steel balance cell with variable volume. From these data, it was adopted the pressure range of 160 to 180 bar, to 80 °C and the reactions were performed for four hours. Different surfactants concentrations regarding to the monomer and from the monomer to the total volume were tested, to observe the respective effects on the size distribution and morphology of PMMA particles. The results indicate that the PMMA spherical particles containing up to 5% w/w of copaiba oil, 10% w/w of PDMS-V, 2% w/w of BPO regarding the monomer and 10% m/m of MMA can be prepared. It was also observed that the copaiba oil presence affected the polymerization, because the particles medium diameters containing the copaiba oil ranged from 151,8 to 257,1 µm, that is, larger than the particles medium diameters obtained with 10% of PDMS-V (28,6 µm to 34,1 µm) and 10% w/w of MMA (42.5 µm to 48.4 µm).

**Keywords:** supercritical carbon dioxide; dispersion polymerization, methyl methacrylate, poly (methyl methacrylate), polymeric microparticles, copaiba oil.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1: Representação esquemática de nanocápsulas/microcápsulas e nanoesferas/microesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das partículas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das partículas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas). _____	28
Figura 2. 2: Representação esquemática de métodos de preparação de sistemas poliméricos particulados. _____	30
Figura 2. 3: Representação esquemática da técnica de emulsificação-evaporação do solvente _____	31
Figura 2. 4: Esquema da técnica de <i>Salting-out</i> _____	32
Figura 2. 5: Representação esquemática da técnica de Deslocamento do solvente–precipitação _____	34
Figura 2. 6: Diagrama esquemático mostrando os componentes do meio reacional de uma polimerização por emulsão: grandes gotas de monômero, micelas de surfactante vazias, iniciador solúvel em água e partículas de polímero envoltas por surfactante. _____	40
Figura 2. 7: Estrutura química da unidade de repetição do polímero de Polimetacrilato de metila (PMMA) _____	41
Figura 2. 8: Representação do mecanismo da polimerização por dispersão em CO <sub>2</sub> supercrítico. _____	48
Figura 2. 9: Óleo-resina ou Óleo de Copaíba _____	53
Figura 3.1: Diagrama esquemático do aparato experimental. _____	59
Figura 3. 2: Esquema do conjunto dos equipamentos utilizados para a polimerização em meio supercrítico. _____	64
Figure 4. 1: High-pressure phase equilibria apparatus. _____	76
Figure 4. 2: Pressure-composition diagram for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2). _____	78
Figure 4. 3: Comparison between experimental data obtained for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) in this work with the literature [23] for the same system, at the temperature of 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K. _____	81
Figure 4. 4: Comparison between experimental data obtained for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 323.15 K. _____	84
Figure 4. 5: Comparison between experimental data obtained for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane)	

vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 333.15 K. _____	85
Figure 4. 6: Comparison between experimental data obtained for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 343.15 K. _____	86
Figure 4. 7: Comparison between experimental data obtained for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 353.15 K. _____	87
Figure 4. 8: Schematic representation of the chemical PDMS-V structure. _____	97
Figure 4. 9: High-pressure dispersion polymerization bench scale unit: 1) high-pressure jacketed stainless-steel reactor, 2) syringe pump and 3) thermostatic bath. _____	98
Figure 4. 10: Schematic representation of the scCO <sub>2</sub> dispersion polymerization mechanism. _____	102
Figure 4. 11: SEM micrographs of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 7% w/w (a, b, c) and PDMS-V=10% w/w (d, e, f), ratio to the monomer mass. _____	103
Figure 4. 12: <sup>1</sup> H NMR analysis of PMMA particles produced with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass, synthesized by dispersion polymerization in scCO <sub>2</sub> . _____	105
Figure 4. 13: SEM micrographs of PMMA particles produced with MMA= 12.5% w/w (a) and MMA= 15% w/w (b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass. _____	106
Figure 4. 14: SEM micrographs of PMMA particles produced in presence of Copaiba Oil= 5% w/w, ratio to the monomer mass, with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass. _____	107
Figure 4. 15: FTIR spectra of PMMA particles produced in absence and presence of copaiba oil and FTIR spectra copaiba oil. _____	108
Figure S1. Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 5.4% (a, b, c), ratio to the monomer mass. _____	117
Figure S2. Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 7% w/w (a, b, c), ratio to the monomer mass. _____	118

Figure S3. Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w (a, b, c), ratio to the monomer mass. \_\_\_\_\_ 119

Figure S4. Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA= 12.5% w/w (a, b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass. \_\_\_\_\_ 121

Figure S5. Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA= 15% w/w (a, b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass. \_\_\_\_\_ 121

Figure S6. Histograms in volumes of PMMA particles produced in presence of Copaiba Oil= 5% w/w (a, b), ratio to the monomer mass, with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass. \_\_\_\_\_ 123

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2. 1: Características dos processos de polimerização	36
Tabela 2. 2: Principais diferenças entre polimerização em Dispersão e em Emulsão	44
Tabela 2. 3: Abordagens comercializadas para aumento da biodisponibilidade de bioativos pouco solúveis em água.	52
Tabela 3.1: Condições experimentais para a polimerização em dispersão do MMA em scCO <sub>2</sub>	66
Table 4.1: Phase equilibrium results for the binary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2). VLE-BP denotes vapour-liquid-equilibrium, type bubble point, VLE-DP denotes vapour-liquid-equilibrium, type dew point, $T$ , system temperature, $P$ , system pressure, $\sigma$ is the standard deviation of the of triplicate measurements of phase transition pressure values in an individual experiment, i.e., divided by $\sqrt{n-1}$ , and $x_1$ , denotes the molar fraction of CO <sub>2</sub> .	79
Table 4.2: Phase equilibrium results for the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3) <sup>a</sup> , in PDMS-V free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10. VLE-BP denotes vapour-liquid-equilibrium, type bubble point or dew point (DP). LLE denotes liquid-liquid-equilibrium; VLLE denotes vapour-liquid-liquid equilibrium, $T$ , system temperature, $P$ , system pressure, $\sigma$ is the standard deviation of the of triplicate measurements of phase transition pressure values in a individual experiment (i.e., divided by $\sqrt{n-1}$ ) and $x_1'$ , denotes the molar fraction of CO <sub>2</sub> on an PDMS-V free-basis and $x_2'$ denotes molar fraction of MMA + PDMS-V free-basis <sup>b</sup> .	82
Table 4.3: Absolute values of composition for the ternary system CO <sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3). Mass fractions related to the data presented in Table 4.2 <sup>a</sup> .	83
Table 4. 4: Variable levels of the performed scCO <sub>2</sub> MMA dispersion polymerization.	101
Table 4. 5: Average molar masses of obtained PMMA particles.	104
Table S1. Residual MMA contents and average sizes of final PMMA particles.	120
Table S2. <sup>1</sup> H NMR chemicals shifts and assignments.	120
Table S3. Average sizes of final PMMA particles.	122

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

### Letras Latinas

T	Temperatura do sistema
P	Pressão do sistema
$x$	Fração molar
EI	Eficiência de Incorporação

### Letras Gregas

$\rho$	Densidade
$\sigma$	Desvio padrão
$w$	Fração de massa absoluta

### Abreviaturas

CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
scCO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono Supercrítico
MMA	Metacrilato de Metila
PMMA	Poli (metacrilato de metila)
PDMS-V	Poli (dimetil siloxano) vinil terminal
BPO	Peróxido de benzoíla
GPC	Cromatografia de permeação em gel
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
CG	Cromatografia em fase gasosa (CG).
DLS	Espalhamento dinâmico de luz (DLS),
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
RMN H <sup>1</sup>	Ressonância magnética nuclear de próton
VLE-BP	Transição de fase do tipo líquido-vapor ponto de bolha
VLE-DP	Transição de fase do tipo líquido-vapor ponto de orvalho
VLLE	Transição de fase do tipo líquido-líquido-vapor
LLE	Transição de fase do tipo líquido-líquido
RAP	Reator de alta pressão
SLC	Sistema de liberação controlada
PLS	Partículas lipídicas sólidas

# SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
1.1 Introdução	21
1.2 Objetivos	24
1.2.1 Objetivo Geral	24
1.2.2 Objetivos Específicos	24
1.3 Estrutura do trabalho	25
<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>26</b>
2.1 Introdução	27
2.2 Sistemas Poliméricos Particulados	27
2.3 Técnicas de Preparação de Partículas a Partir de Polímeros Pré-Formados	30
2.3.1 Emulsificação–Evaporação do Solvente	31
2.3.2 Salting-Out e Emulsificação–Difusão do Solvente	32
2.3.3 Deslocamento do Solvente–Precipitação	33
2.4 Técnicas de Preparação de Partículas Poliméricas a Partir de Monômero Dispersos	35
2.4.1 Polimerização em Emulsão	39
2.5 Polimerização do Metacrilato de Metila (MMA) por Dispersão	40
2.5.1 Polimerização do MMA por Dispersão a Baixa Pressão	42
2.5.2 Tecnologia Supercrítica	45
2.5.3 Polimerização do MMA por Dispersão a Alta Pressão	47
2.6 Incorporação de Bioativos Via Polimerização <i>in situ</i> Usando scCO <sub>2</sub>	50
2.6.1 Óleo de Copaíba	53
2.7 Considerações	55
<b>CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>57</b>
3.1 Introdução	58
3.2 Determinação do Equilíbrio de Fases do Sistema MMA + PDMS-V + scCO <sub>2</sub>	58
3.2.1 Materiais	58
3.2.2 Aparato Experimental	59
3.2.3 Procedimento Experimental	60
3.3 Polimerização em Dispersão do MMA na Presença de ScCO <sub>2</sub>	63
3.3.1 Materiais	63
3.3.2 Aparato Experimental	63
3.3.3 Procedimento Experimental	64
3.4 Caracterização das Partículas Poliméricas de PMMA	66
3.4.1 Materiais	66
3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	66
3.4.3 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC/SEC)	67

3.4.4 Cromatografia Gasosa (GC)	67
3.4.5 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	67
3.4.6 Espectroscopia de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR)	68
3.4.7 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN $H^1$ )	68
3.4.8 Eficiência de Incorporação	68
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>70</b>
4.1 INTRODUÇÃO	71
<b>4.2 – EQUILÍBRIO DE FASE A ALTA PRESSÃO DE SISTEMAS CONTENDO DIÓXIDO DE CARBONO, METACRILATO DE METILA E POLI(DIMETILSILOXANO)</b>	<b>72</b>
Abstract	73
4.2.1 Introduction	73
4.2.2 Experimental	75
4.2.2.1 Materials	75
4.2.2.2 Phase equilibrium apparatus and procedure	75
4.2.3 Results and Discussion	78
4.2.3.1 Binary system $CO_2$ + MMA	78
4.2.3.2 Ternary system $CO_2$ + MMA + PDMS-V	81
4.2.4 Conclusions	88
<b>4.3 – POLIMERIZAÇÃO POR DISPERSÃO DE METACRILATO DE METILA EM <math>CO_2</math> SUPERCRÍTICO: UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA INCORPORAÇÃO <i>IN SITU</i> DO ÓLEO DE COPAÍBA</b>	<b>92</b>
Abstract	93
4.3.1 Introduction	93
4.3.2 Materials and Methods	97
4.3.2.1 Materials	97
4.3.2.2 Dispersion Polymerization reactions	97
4.3.3 Characterization	99
4.3.3.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)	99
4.3.3.2 Gel Permeation Chromatography (GPC)	99
4.3.3.3 Gas Chromatography (GC)	99
4.3.3.4 Dynamic Light Scattering (DLS)	100
4.3.3.5 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	100
4.3.3.6 Proton Nuclear Magnetic Resonance ( $^1H$ NMR)	100
4.3.4 Encapsulation Efficiency	100
4.3.5 Results and Discussion	101
4.3.5.1 The Effect of PDMS-V Concentration	102
4.3.5.2 The Effect of MMA Concentration	105
4.3.5.3 In situ Encapsulation of Copaiba Oil through $scCO_2$ MMA Dispersion Polymerization	106

4.3.6 Conclusion _____	108
4.3.7 Supporting Information _____	116
<b>CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES _____</b>	<b>124</b>
5.1 Conclusões _____	125
5.2 Sugestões _____	126
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____</b>	<b>128</b>
<b>APÊNDICES _____</b>	<b>147</b>
Apêndice A 1. Lista de Publicações _____	148
Apêndice A 2. Cálculo das frações molares usadas para o Equilíbrio de Fases ____	149
Apêndice A 2.1: Valores das frações molares para o sistema binário CO <sub>2</sub> + MMA, obtidos através da base do cálculo do apêndice A1 _____	150
Apêndice A 2.2: Valores das frações molares para o sistema ternário CO <sub>2</sub> + MMA + PDMS-V, obtidos através da base do cálculo do apêndice A1 _____	152

# **CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO**

## 1.1 Introdução

Estudos, nos últimos 50 anos, têm demonstrado a potencialidade do uso de polímeros como veículo carreador de moléculas bioativas, pouco solúveis e instáveis, em diversas aplicações na medicina, odontologia e outras áreas da saúde. No entanto, o processamento de polímeros que proporcionem maior eficácia e segurança dos bioativos incorporados ainda constitui um desafio para a indústria farmacêutica. A perspectiva de multiplicação da produção de sistemas poliméricos carreadores de bioativos deve ser acompanhada, sobretudo, do desenvolvimento de novos processos em substituição aos processos convencionais. Métodos de preparação desse tipo de sistema baseados em técnicas de extração/evaporação de solventes orgânicos vêm sendo paulatinamente substituídos por técnicas ambientalmente amigáveis, como as que utilizam o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico.

O dióxido de carbono supercrítico apresenta algumas vantagens e soluções para problemas encontrados com a utilização de técnicas convencionais, tais como, o atendimento aos requisitos de tecnologia mais limpa, evitando danos ao meio ambiente, o processamento de materiais a temperaturas amenas, o que é adequado quando se utilizam compostos termossensíveis, além da possibilidade de fácil recuperação do solvente supercrítico após o processo, e da diminuição dos gastos com energia térmica. Por isso, são cada vez mais investigados como alternativa aos processos tradicionais, em especial na indústria farmacêutica. O CO<sub>2</sub> é o fluido supercrítico mais utilizado, pois apresenta propriedades e características bastante atrativas, tais como baixo custo, baixa toxicidade, não inflamável, ser prontamente disponível, facilidade na reciclagem e, mais precisamente, as suas condições críticas facilmente acessíveis ( $T_c = 31,28 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 73,8 \text{ bar}$ ) contribuem para a relevância de sua utilização como solvente na reação polimérica.

Em particular, algumas tentativas relevantes e promissoras têm sido feitas para incorporar princípios ativos ou produtos naturais em polímeros utilizando o dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>), apresentando resultados satisfatórios (HERTZ *et al.*, 2006; MATSUYAMA *et al.*, 2003; KIM; PAXTON; TOMASKO, 1996). A incorporação de bioativos em polímeros por impregnação ou revestimento usando scCO<sub>2</sub> como carreador aponta para várias rotas tecnológicas de destaque. Entretanto, poucos estudos foram realizados envolvendo a produção de polímero, formação de partículas e a simultânea incorporação de bioativos/produtos naturais em uma única etapa, usando scCO<sub>2</sub>. Do ponto de vista industrial, esta estratégia é interessante, pois reduz o número de etapas nos

processos de produção, evitando perdas, manipulação do material e aumentando a produtividade. Além dessas vantagens, o processo usando CO<sub>2</sub> supercrítico permite ajustar variáveis do processo para produzir partículas isentas de solvente residual, fisicamente mais estáveis e com estreita distribuição de tamanhos.

A polimerização por dispersão é um importante processo industrial e um dos métodos que vem sendo estudado para a síntese de polímeros em scCO<sub>2</sub> (LU *et al.*, 2004). No entanto, a polimerização por dispersão de monômeros em scCO<sub>2</sub> enfrenta alguns problemas no controle do tamanho das partículas dos polímeros obtidos, que devem ser adequadamente solucionados antes da produção em escala comercial. Um parâmetro de processo importante é a proporção da concentração do surfactante em relação ao monômero, que afeta o tamanho, a morfologia do polímero e a pressão do sistema. Por esse motivo, os componentes da reação e as condições de operação devem ser adequadas para que as partículas poliméricas sejam formadas em torno dos princípios ativos, com a possibilidade de ajustar o tamanho e morfologia das partículas formadas ao final.

O processamento de produtos naturais, DNA e proteínas usando a tecnologia do dióxido de carbono supercrítico tem atraído o interesse da indústria farmacêutica, devido às condições brandas de temperatura, além do processamento dos materiais ocorrer de forma mais rápida, em função as propriedades peculiares que esse fluido supercrítico apresenta, entre as quais a baixa viscosidade, a alta difusividade e o elevado poder de solubilização. Destaca-se ainda a grande eficiência de separação entre as substâncias extraídas e o CO<sub>2</sub> supercrítico, com alta seletividade, propiciando produtos com alto grau de pureza (MISHIMA *et al.*, 2000).

O uso dos polimetacrilatos, em especial o poli (metacrilato de metila) (PMMA), como polímero estrutural de veículo carreador, para incorporar fármacos ou bioativos, oferece vantagens, como propriedades de biocompatibilidade, não toxicidade e a facilidade de modificação da superfície química das partículas para direcionamento específico (CHATZIDOUKAS *et al.*, 2003; MUELLER *et al.*, 2005a). Além disso, têm sido amplamente utilizados como veículos para encapsulação de princípios ativos e fabricação de produtos farmacêuticos, incluindo os bioativos anti-inflamatórias (SAHU, *et al.*, 2018; BOULEDJOUIDJA *et al.*, 2017), os antimicrobianos (GOPALAKRISHNAN *et al.*, 2020) e as vacinas (CAPUTO *et al.*, 2009), e também aplicadas como cimento ósseo (MAITZ, 2015) e preenchimentos para cirurgia estética (BETTENCOURT; ALMEIDA, 2012). A incorporação de fitoterápicos também desperta crescente interesse nos campos acadêmico e industrial, por exemplo, o uso de óleo de

copaíba para uso medicinal.

A copaíba (*Copaifera ssp.*) é encontrada em algumas regiões da América do sul, principalmente no Brasil (floresta amazônica, floresta atlântica e cerrado) e em alguns países da África (Congo, Camarões, Guiné e Angola). Seu óleo resina é composto por uma mistura de sesquiterpenos (fração volátil) e diterpenos (fração não volátil), nos quais trans- $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -copaeno são os principais constituintes da fração volátil. Em 2006, foi criada a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, quando diversos serviços de saúde no Brasil passaram a utilizar fitoterápicos para o tratamento dos pacientes (FIGUEREDO *et al.*, 2014). A fitoterapia é uma forma de terapia medicinal que vem crescendo nesses últimos anos, a partir do uso de produtos naturais (PEDROSA *et al.*, 2001). É interessante observar que muitos desses compostos já foram utilizados para a preparação de medicamentos destinados ao uso oral e tópico. Por esse motivo, sua aplicação em veículos carreadores apresenta-se promissora em aplicações terapêuticas (PASQUEL REÁTEGUI *et al.*, 2017; VEIGA *et al.*, 2007; VEIGA *et al.*, 2001).

Entretanto, os processos de polimerização envolvendo a preparação simultânea de partículas de PMMA e bioativos ou misturas de bioativos em meio supercrítico são pouco conhecidos e necessitam ser investigados, pois a presença do scCO<sub>2</sub> pode afetar significativamente a cinética de polimerização, através do aumento da temperatura e pressão que leva ao aumento da taxa da reação e a um maior rendimento (LU *et al.*, 2004). O conhecimento de fases do sistema é uma condição importante para a formação de PMMA em presença de scCO<sub>2</sub>, pois possibilita assegurar as condições de operação para que o sistema se encontre em uma fase homogênea no início da reação. Nesse contexto, torna-se necessário estudar o comportamento de fases dos sistemas binário CO<sub>2</sub> + metacrilato de metila (MMA) e ternário CO<sub>2</sub> + MMA + poli (dimetil siloxano) vinil terminal (PDMS-V) a alta pressão antes do processo de polimerização para assegurar a eficiência e segurança da reação. Alguns dados de equilíbrio de fases a alta pressão do sistema CO<sub>2</sub> + MMA estão disponíveis na literatura (UZUN *et al.*, 2005). No entanto, esses dados são dependentes do método de preparação e da forma como foi medida a amostra (MCHUGH; LORA, 1999; ZWOLAK; LIOE; LUCIEN, 2005). Os dados de equilíbrio de fases para o sistema CO<sub>2</sub> + MMA disponíveis não são suficientes e, por esse motivo, a determinação de novos dados em outras temperaturas e pressões foi necessária. Além disso, os autores não relataram o efeito da adição de um surfactante ao sistema, necessário para a polimerização, e que pode alterar as propriedades do meio reacional.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o processo de produção de partículas de PMMA através da polimerização MMA em presença de scCO<sub>2</sub>, para a incorporação *in situ* de bioativos do óleo resina de copaíba (*Copaifera ssp.*). Foi investigado principalmente o efeito da variação da concentração do surfactante e do monômero na distribuição de tamanhos e morfologia das partículas, além da estabilidade física do óleo incorporado nas partículas de PMMA.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar as condições de polimerização em dispersão do metacrilato de metila (MMA) na presença de scCO<sub>2</sub> para diferentes concentrações de surfactante (PDMS-V) e monômero (MMA), na presença e ausência de óleo de copaíba.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Investigar experimentalmente os dados de equilíbrio de fases para o sistema binário CO<sub>2</sub> + MMA e sistema ternário CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V, em diferentes temperaturas, pressões e composições.
- Avaliar o efeito da adição do surfactante (PDMS-V) no comportamento de fases dos sistemas em estudo (ternário) para diferentes razões mássicas;
- Determinar, a partir do equilíbrio de fases, as condições experimentais para o início da polimerização em dispersão usando scCO<sub>2</sub>;
- Investigar experimentalmente a polimerização em dispersão do metacrilato de metila (MMA) na presença de scCO<sub>2</sub>, variando a concentração de surfactante e monômero;
- Desenvolver o procedimento de incorporação do óleo de copaíba *in situ* em PMMA através da técnica de polimerização em dispersão usando scCO<sub>2</sub>;

### 1.3 Estrutura do trabalho

O presente trabalho está dividido em 5 capítulos independentes, mas que interagem em uma sequência lógica, buscando a sua unidade sobre o tema abordado. O primeiro capítulo é composto por uma introdução e os objetivos do trabalho.

No Capítulo 2, é apresentada uma revisão bibliográfica referente ao tema. Inicialmente, é feita uma breve descrição sobre os sistemas poliméricos particulados. Em seguida, são abordadas as técnicas para a produção de partículas poliméricas a partir do polímero pré-formado e a partir de monômeros dispersos. A seção seguinte trata do estudo da polimerização em dispersão do MMA a baixa pressão. Posteriormente, são abordados o estudo da tecnologia supercrítica, a polimerização em dispersão do MMA a alta pressão, e a incorporação de bioativos via polimerização *in situ* em scCO<sub>2</sub>. O último tópico é dedicado às características do óleo de copaíba detalhando a sua importância.

No Capítulo 3 trata-se dos materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do trabalho experimental e foi dividido em 5 seções.

O Capítulo 4 trata dos resultados e discussões, onde foi dividido em duas partes o capítulo 4.1 e 4.2 que tratam dos resultados e da discussão em formato de dois artigos publicados. O conteúdo do capítulo 4.1 corresponde ao conteúdo do artigo publicado no periódico *Journal of Supercritical Fluids* intitulado “*High pressure phase equilibrium data for carbon dioxide, methyl methacrylate and poly (dimethylsiloxane) systems*”, abordando o estudo de equilíbrio de fases a alta pressão para o sistema binário CO<sub>2</sub> + MMA e para o sistema ternário CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V. E o conteúdo do capítulo 4.2 corresponde ao conteúdo do segundo artigo, publicado no periódico *Industrial & Engineering Chemistry Research* denominado “*Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical CO<sub>2</sub>: A Preliminary Evaluation of In Situ Incorporation of Copaiba Oil*”, que apresenta os resultados obtidos no processo de polimerização por dispersão do MMA na presença de scCO<sub>2</sub>, como uma técnica alternativa para incorporar *in situ* o óleo de copaíba, usando o PDMS-V como agente dispersante e o BPO como iniciador.

O Capítulo 5 apresenta as considerações finais, conclusões e sugestões para trabalhos futuros. Além disso, apresentam-se as referências bibliográficas, os apêndices e o anexo, ao final da tese.

## **CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

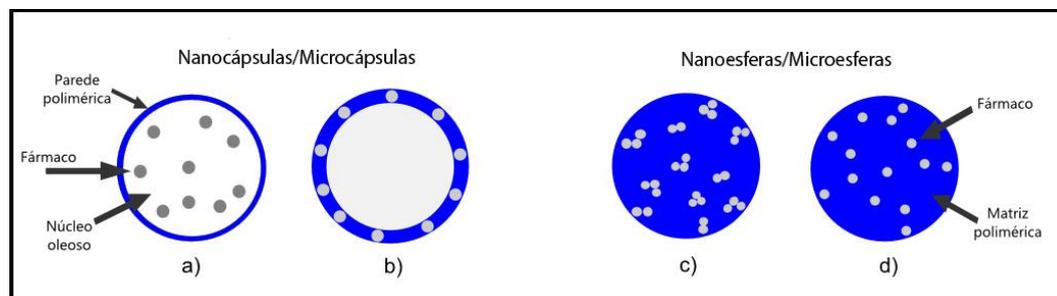
## 2.1 Introdução

Neste capítulo, são apresentados os fundamentos necessários ao desenvolvimento do processo de incorporação *in situ* do óleo de copaíba em partículas de PMMA produzidas via polimerização em presença de scCO<sub>2</sub>. Discutem-se inicialmente alguns conceitos importantes sobre os sistemas poliméricos particulados, descrevendo-se as técnicas de produção de partículas poliméricas através do polímero pré-formado, entre as quais: emulsificação/evaporação do solvente, deslocamento de solvente, *salting-out*, emulsificação/difusão do solvente e a produção de partículas poliméricas usando fluido supercrítico. Em seguida, são abordadas as técnicas de formação de partículas poliméricas a partir de monômeros dispersos, como a polimerização em emulsão, a polimerização em miniemulsão e a polimerização em dispersão. Posteriormente, é apresentada a polimerização do MMA por dispersão, abordando-se a polimerização do MMA a baixa pressão, a tecnologia supercrítica e o processo de polimerização do MMA por dispersão a alta pressão.

## 2.2 Sistemas Poliméricos Particulados

Os sistemas poliméricos particulados, com tamanho variando da escala micrométrica a manométrica, têm sido amplamente utilizadas como sistemas carregadores de bioativos, proteínas e peptídeos, devido à sua manipulação simples e sua capacidade de proteção do princípio ativo (SEVERINO *et al.*, 2011). Além de possuir vantagens como gastrorresistência, melhor biodisponibilidade, menor toxicidade e grande versatilidade de aplicação na área biológica, faz-se presente em medicamentos, cosméticos, vacinas e fitoterápicos (DELIE; BLANCO-PRÍETO, 2005; SHAHANI *et al.*, 2010). Esses sistemas particulados diferem entre si segundo a composição e a organização estrutural, conforme a representação esquemática da diferença entre ambas, ilustrada na Figura 2.1 (BERKLAND *et al.*, 2001; PETITTI *et al.*, 2008).

**Figura 2. 1:** Representação esquemática de nanocápsulas/microcápsulas e nanoesferas/microesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das partículas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das partículas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas).



Fonte: adaptado de Schaffazick *et al.* (2003)

As nanocápsulas/microcápsulas são constituídas por um envoltório polimérico disposto ao redor de um núcleo lipídico, onde é possível identificar um núcleo distinto, podendo o princípio ativo estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. Nesse caso, o ativo fica envolvido por uma membrana que isola o núcleo do meio externo (parede polimérica) (LIMAYEM *et al.*, 2006). Por outro lado, as nanoesferas/microesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica sólida, onde o ativo pode ficar retido ou adsorvido, não havendo uma separação do ativo e do polímero (SOPPIMATH *et al.*, 2001).

Os polímeros, como poli(álcool vinílico) (PVA), polietilenoglicol (PEG), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e PMMA, têm sido amplamente utilizadas como veículos para o encapsulamento de bioativos e a fabricação de produtos farmacêuticos, incluindo o encapsulamento de anti-inflamatórios, antimicrobiano e vacinas, além de serem aplicados como cimento ósseo e cargas para cirurgia estética. As tecnologias para preparação de carreadores, que além de carregar podem proteger o princípio ativo evitando a sua degradação precoce, têm proporcionado a oportunidade de superar limitações relativas às propriedades físico-químicas do bioativo, como a solubilidade, à potencialização do efeito terapêutico e ao controle da absorção, além de possibilitar a redução da toxicidade local (ZANETTI; TOMÉ, 2005). No entanto, a preparação simultânea do polímero e o encapsulamento do bioativo continuam sendo um desafio. O tamanho da partícula produzida no processo é relevante, pois influencia na forma de administração do bioativo. Por exemplo, para aplicações intramusculares ou subcutâneas, os diâmetros das partículas devem variar entre 20 e 100  $\mu\text{m}$ , enquanto, quando

administradas por via intravenosa, devem apresentar tamanhos menores que 5  $\mu\text{m}$  (HANS; LOWMAN, 2002).

Veronese e colaboradores (1988) prepararam microesferas utilizando o poliorganofosfazeno composto por fenilalanina etil éster/imidazol nas proporções de 71/29 e 80/20 m/m, como substituintes do fósforo na cadeia principal do polifosfazeno, para a liberação lenta de naproxeno no tratamento de inflamações agudas e crônicas. Foram considerados três métodos de preparação de microesferas afim de comparação: secagem por pulverização, evaporação por emulsão/solvente e extração por evaporação/emulsão/solvente. Verificou-se que as micropartículas obtidas por secagem por pulverização possuíam uma distribuição estreita com um diâmetro médio de 2 a 5  $\mu\text{m}$ . Foram consideradas as microesferas obtidas por evaporação de solvente, para as experiências *in vivo*, realizadas por implante subcutâneo em ratos, que demonstraram um nível constante de naproxeno no plasma, podendo ser mantido por até 400 h em uma concentração adequada para atividade anti-inflamatória.

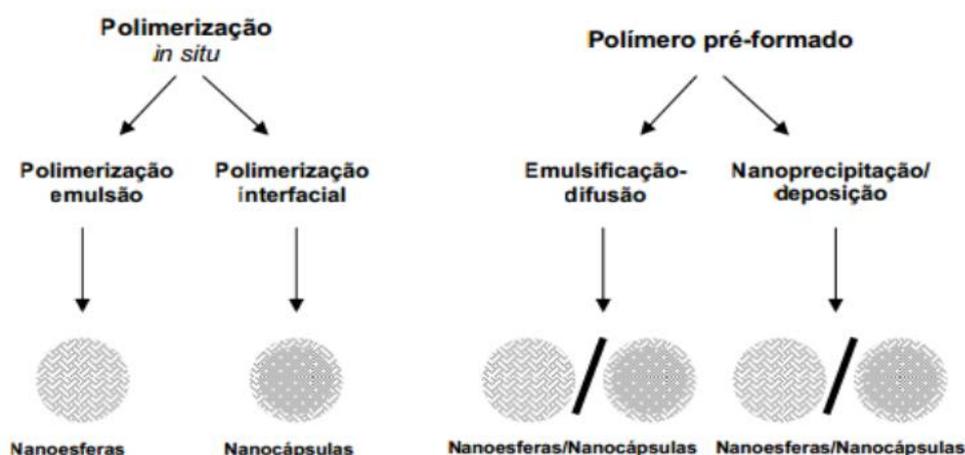
Fundueanu e colaboradores (2005) prepararam microesferas termo responsivas de polímeros acrílicos usando duas técnicas com uma abordagem original, as técnicas de evaporação simultânea de solvente e técnicas de reticulação em suspensão. As microesferas obtidas retêm as propriedades de um copolímero. A indometacina, como fármaco modelo, foi incluída nas mesmas esferas pelo método de evaporação do solvente, em busca de uma cinética de liberação modificada. Em seguida, a influência da temperatura e do ciclo de temperatura na liberação do fármaco foi investigada por cromatografia líquida.

Costa e colaboradores (2012) sintetizaram materiais binários baseados em copolímeros de metacrilato de metila reticulados com divinilbenzeno (MMA-DVB), compostos por partículas magnéticas de ferro, usando a gelatina como agente de suspensão através da técnica de polimerização em suspensão. Foram estudados a razão molar do polímero em relação ao reticulado (MMA-DVB), o tipo de agente de suspensão, a morfologia e distribuição dos tamanhos médios das partículas, assim como o teor de ferro adicionado ao copolímero. Os resultados de MEV mostraram que as partículas de ferro ficaram localizadas apenas na superfície das partículas poliméricas e apresentaram propriedades superparamagnéticas, com magnetização de saturação entre 8,0 e 13,0  $\text{emu.g}^{-1}$ .

Os sistemas poliméricos particulados podem ser produzidos por diversos métodos, conforme a literatura (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012). De modo geral, são

empregadas técnicas para a incorporação de princípios ativos em polímeros, que podem ser classificados em 2 grupos: métodos baseados na precipitação de polímeros pré-formados (MARCHAIS *et al.*, 1998; ESPUELAS *et al.*, 1997; SANTOS-MAGALHÃES *et al.*, 2000) e métodos baseados na polimerização de monômeros dispersos (GALLARDO *et al.*, 1993; CHOUINARD *et al.*, 1994; LENAERTS *et al.*, 1995; SAKUMA *et al.*, 1997 e LAMBERT *et al.*, 2000), como mostra a figura 2.2.

**Figura 2. 2:** Representação esquemática de métodos de preparação de sistemas poliméricos particulados.



Fonte: Jager, 2008.

Outra técnica promissora é a incorporação via polimerização *in situ* usando o CO<sub>2</sub> como fluido em meio supercrítico (BOYÈRE; JÉRÔME; DEBUIGNE, 2014). A presença de scCO<sub>2</sub> no meio da reação pode afetar a cinética da polimerização, permitindo a produção de partículas de poliméricas sem solvente residual e uma distribuição de tamanho de partícula mais estreita (nano ou micro) (LU *et al.*, 2004). Dessa forma, nas próximas seções, esses sistemas serão descritos de forma mais detalhada.

### 2.3 Técnicas de Preparação de Partículas a Partir de Polímeros Pré-Formados

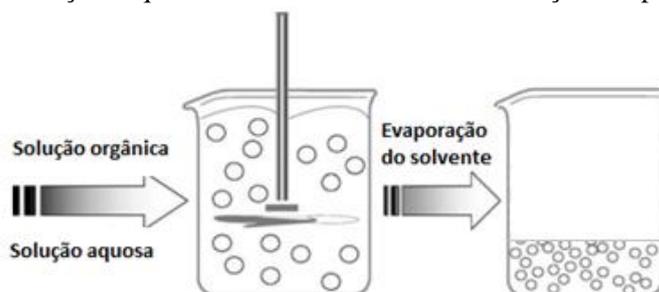
As técnicas de produção de sistemas poliméricos particulados a partir do polímero pré-formado podem ser classificadas em quatro tipos: emulsificação-*evaporação* do solvente, deslocamento do solvente-*precipitação*, emulsificação-*difusão* do solvente e *salting-out*. Essas técnicas utilizam uma solução orgânica na fase interna e uma fase aquosa externa, em que é comum apresentar agentes estabilizadores da dispersão das

partículas durante sua preparação. Além disso, todas as quatro técnicas são preferencialmente empregadas para bioativos de natureza lipofílica (SOPPIMATH *et al.*, 2001).

### 2.3.1 Emulsificação–Evaporação do Solvente

A emulsificação-evaporação do solvente é uma técnica amplamente utilizada para a preparação de nanopartículas a partir de uma dispersão de polímeros pré-formados, sendo o primeiro método desenvolvido para a obtenção destas partículas (NAGAVARMA *et al.*, 2012; RAO; GECKELER, 2011). Neste método, o polímero é dissolvido num solvente orgânico volátil como, por exemplo, diclorometano, clorofórmio ou acetato de etila. A técnica consiste na preparação de uma emulsão do tipo óleo/água (O/A), a fase orgânica é formada por um solvente orgânico apolar em que o polímero e a fase aquosa que, posteriormente é dispersa utilizando-se um agente de dispersão (tensoativo), como, por exemplo, o poli (álcool vinílico), o polissorbato-80 ou lauril sulfato de sódio, entre outros (PINTO REIS *et al.*, 2006; SOPPIMATH *et al.*, 2001). Após a formação de uma emulsão estável, contendo as duas fases (oleosa e aquosa), o solvente orgânico é subsequentemente evaporado, utilizando uma fonte de energia, como, por exemplo, pelo aumento da temperatura sob pressão (homogeneização), por meio de agitação contínua, utilizando ultrassom (SOPPIMATH *et al.*, 2001; SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012b), induzindo a precipitação do polímero como micro ou nanoesferas, a depender da velocidade de agitação, do tipo do solvente, concentração da solução e da natureza do tensoativo. A natureza do tensoativo é que determinará se a emulsão será O/A ou A/O. Na Figura 2.3 está esquematizado uma representação de um típico sistema de emulsificação-evaporação do solvente (PINTO REIS *et al.*, 2006).

**Figura 2. 3:** Representação esquemática da técnica de emulsificação-evaporação do solvente

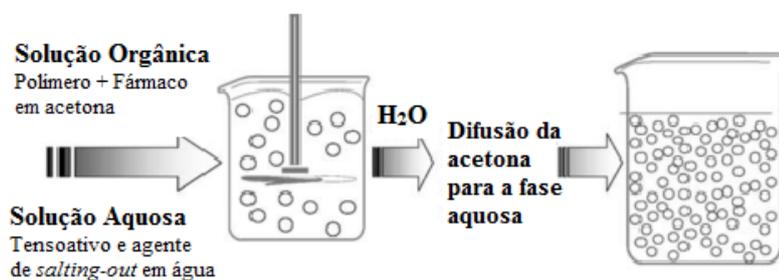


Fonte: Adaptado de Pinto Reis *et al.* (2006)

### 2.3.2 Salting-Out e Emulsificação–Difusão do Solvente

A técnica de *salting-out* baseia-se na separação de um solvente miscível, como por exemplo álcool (substância polar), de uma solução aquosa através de um efeito de *salting-out*, resultando em uma precipitação, separação da fase líquida ou na formação de nanopartículas. O efeito de *salting-out*, ocorre quando adicionamos sais neutros a uma solução, ocorrendo um aumento da força iônica do sistema. Com isso, as substâncias solúveis em água são excluídas da fase aquosa pela adição de sais, resultando em uma precipitação, separação da fase líquida ou na formação de micro ou nanoesferas. É muito utilizada para a separação de proteínas com base no princípio de que as proteínas são menos solúveis em concentrações elevadas de *sais* neutros (efeito da força iônica) (WHEATLEY e LEWANDOWSKI, 2010). As moléculas de água, ocupadas em sua interação com os íons, "abandonam" a estrutura proteica. Como consequência, temos: maior interação proteína-proteína, diminuição da solubilidade em meio aquoso e, conseqüentemente, precipitação da proteína. Obtêm-se no final uma dispersão aquosa de micro ou nanoesferas que pode ser separadas por ultracentrifugação ou ultrafiltração (QUINTANAR-GUERRERO, 1998). As principais desvantagens deste método é que são aplicados exclusivamente a fármacos lipofílicos e as extensas etapas de lavagem das partículas formadas nanopartículas. O procedimento está ilustrado na Figura 2.4.

**Figura 2. 4:** Esquema da técnica de *Salting-out*



Fonte: Adaptado de Pinto Reis *et al.* (2006)

A técnica de emulsificação-difusão do solvente, proposta com base no uso de solventes orgânicos parcialmente miscíveis em água, pode ser considerada como uma modificação da técnica de *salting-out*, não sendo considerada, pois a emulsificação-difusão, evita o uso de sais e eletrólitos e o processo da lavagem das partículas formadas (ARAÚJO *et al.*, 2009; PINTO REIS *et al.*, 2006). A emulsão é constituída por três fases:

orgânica, aquosa e diluição. A fase orgânica (interna) é constituída por um solvente orgânico parcialmente miscível como, por exemplo, álcool benzílico, carbonato de propileno ou acetato de etilo. Nesta fase encontra-se também o polímero que é dissolvido no solvente saturado, na qual é disperso ou dissolvido o princípio ativo. A fase aquosa é composta pelo agente estabilizante e a fase diluída contém apenas água (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2011; ALLOUCHE, 2013). A fase interna é emulsificada, sob agitação intensa, numa solução aquosa. Com o decorrer da reação a depender do ponto de ebulição do solvente orgânico, este pode ser eliminado por evaporação ou por ultrafiltração, obtendo-se, no final, a dispersão aquosa de nanopartículas (AVGOUSTAKIS, 2004).

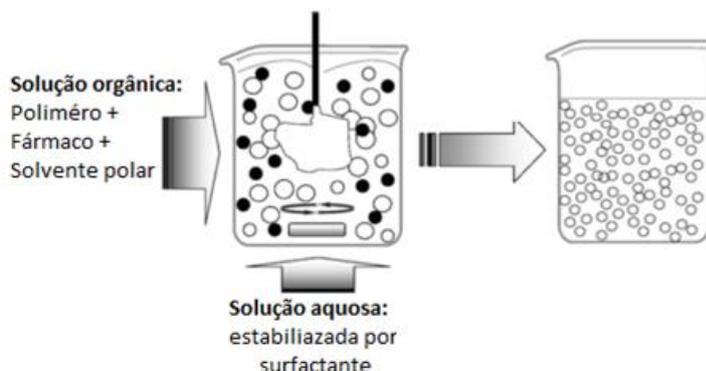
Podem ser obtidas nanoesferas ou nanocápsulas por emulsificação-difusão do solvente. Para preparar nanocápsulas, o princípio ativo lipofílico é previamente dissolvido num óleo, que é adicionado ao solvente orgânico parcialmente hidro miscível. As características físico-químicas das nanopartículas obtidas por emulsificação-difusão do solvente são afetadas pela solubilidade do princípio ativo, pela concentração do polímero, e pela natureza e concentração do tensoativo e agitação (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012).

### 2.3.3 Deslocamento do Solvente–Precipitação

A técnica de preparação de partículas por deslocamento do solvente também conhecida como nanoprecipitação, é um método semelhante à emulsificação, onde o polímero se encontra dissolvido na fase aquosa externa, ocorrendo à precipitação ou a deposição do polímero pré-formado na interface entre a água e a fase orgânica de uma emulsão do tipo óleo/água (O/A) e foi desenvolvida por Fessi *et al.* (1989). Nessa técnica, a fase orgânica é constituída por um polímero dissolvido num solvente orgânico polar, como, por exemplo, acetona, acetonitrila, entre outros, no qual se encontra disperso ou dissolvido o princípio ativo (LEGRAND *et al.*, 2007; SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012). A fase aquosa é formada por uma solução aquosa, contendo um tensoativo (surfactante ou estabilizante), como, por exemplo, o acetato de polivinilo (PVA). A fase orgânica (solvente + polímero + princípio ativo) é então, dispersa na fase aquosa, sob agitação, ocorrendo à emulsificação espontânea, essa pode ser adicionada em uma única vez, em pequenas porções, por gota a gota ou por taxa de adição controlada. A nanoprecipitação acontece de forma instantânea, pois enquanto ocorre a remoção do

solvente orgânico, forma-se as partículas, como resultado da precipitação do polímeropré-formado a partir de uma solução orgânica e a difusão do solvente orgânico no meio aquoso na presença ou na ausência de um agente tensioativo, como mostra a Figura 2.4 (PINTO REIS *et al.*, 2006; SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012; BESHEER *et al.*, 2009).

**Figura 2. 5:** Representação esquemática da técnica de Deslocamento do solvente–precipitação



Fonte: Adaptado de Pinto Reis *et al.* (2006)

Alguns parâmetros podem influenciar nas características físico-químicas, como morfologia e tamanho das nanopartículas obtidas pela técnica de deslocamento do solvente. É necessário antes conhecer a solubilidade do princípio ativo, natureza do solvente orgânico, massa molar e concentração do polímero. Assim como também, natureza e concentração do tensoativo, temperatura da fase externa e a velocidade de injeção da fase interna na fase externa, sendo possível a obtenção de nanoesferas e nanocápsulas (PINTO REIS *et al.*, 2006; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2011; ALI; LAMPRECHT, 2013).

Caliceti e colaboradores (2000) prepararam microesferas à base de polifosfazeno para administração de insulina, seguindo três procedimentos diferentes: (A) evaporação da suspensão-solvente; (B) evaporação dupla de emulsão-solvente; (C) suspensão: dupla evaporação de emulsão-solvente. Os métodos A e C permitiram maior carga protéica do que o procedimento B. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrou que todos os procedimentos de preparação atingem micropartículas com formato esférico e com superfície porosa. Nesse estudo foi demonstrado que é possível preparar microesferas carregadas de insulina usando um polifosfazeno biodegradável e biocompatível, permitindo a exploração de novas formulações de insulina úteis no controle do diabetes.

Os processos de polimerização a partir do polímero pré-formado utilizam técnicas convencionais de preparação de partículas poliméricas, que apresentam algumas desvantagens/limitações, como o uso de solventes orgânicos (tóxicos e não aceitos ambientalmente), a necessidade de etapas adicionais para a remoção do solvente empregado, assim como o uso de altas temperaturas, que podem degradar os materiais termossensíveis e/ou promover reações indesejáveis. Além disso, a utilização dessas técnicas leva à obtenção de partículas com uma alta distribuição de tamanho (BRAGA *et al.*, 2015; CHAMPEAU *et al.*, 2015a).

Nesse contexto, está crescendo o interesse na produção de partículas poliméricas através da polimerização em meio scCO<sub>2</sub> visando a incorporação de bioativos. Os processos usando scCO<sub>2</sub> apresentam algumas vantagens, quando comparados aos métodos convencionais tratados neste capítulo, pois possibilitam a realização dos processos usando temperaturas próximas à ambiente, e oferecem uma diversidade nas condições operacionais, como a alteração da temperatura e/ou pressão, resultando em uma mudança na densidade. Nas seções seguintes, o uso da tecnologia supercrítica é abordado de forma mais detalhada (BRAGA *et al.*, 2015; SILVA, 2018).

#### **2.4 Técnicas de Preparação de Partículas Poliméricas a Partir de Monômero Dispersos**

A polimerização é o conjunto de reações onde as moléculas simples (monômeros) reagem entre si para formar macromoléculas. Os tipos de polimerização foram divididos por Flory (1953) e Carothers (Mark 1929), em dois grupos: polimerização via adição (poliadição) e a polimerização via condensação (policondensação) (BILLMEYER, 1963). Há a formação de polímeros de adição, quando ocorre a adição de moléculas de um só monômero com uma ligação dupla entre 2 átomos de carbono, como, por exemplo, a ureia e o formaldeído, enquanto os polímeros de condensação são resultados de uma reação que envolveu a eliminação de pequenas moléculas. É possível romper a estrutura de um polímero por meio de agentes físicos ou químicos, reduzindo o seu grau de polimerização (LEITE, 2008). Na Tabela 2.1, estão relacionadas as principais características dos processos de polimerização de adição e condensação.

**Tabela 2. 1:** Características dos processos de polimerização

<i>Processo</i>	<i>Características</i>	<i>Exemplo*</i>
<b><i>Poliadição</i></b>	Todos os átomos das moléculas do monômero compõem a estrutura do polímero	LDPE HDPE PP PS BR
	Não há formação de subprodutos	
	Reação em cadeia, 3 componentes reacionais: iniciação, propagação e terminação	
	Mecanismos hemolíticos ou heterolítico ou por coordenação	
	Velocidade de reação rápida, com formação imediata de polímeros	
	Concentração de monômero diminui progressivamente	
	Grau de polimerização alto, da ordem $10^5$	
<b><i>Policondensação</i></b>	Átomos do(s) monômeros são perdidos	PET PA PC PR
	Há subprodutos da reação	
	Reação em etapas	
	Mecanismo heretolítico	
	Velocidade da reação lenta, sem formação imediata de polímero	
	Grau de polimerização, na ordem $10^4$	

\*Plásticos de importância industrial: Polietileno de baixa densidade (LDPE); Polietileno de alta densidade (HDPE); Polipropileno (PP); Poliestireno (PS); Polibutadieno (BR); Poli (tereftalato de etileno) (PET); Poliamida (PA); Policarbonato (PC); Resina fenólica (PR).

Fonte: Adaptado MANO; MENDES, 2004.

Os processos de polimerização podem ser classificados de acordo com: o número de monômero, o tipo de reação química, a cinética de polimerização ou o tipo de arranjo físico. Um dos principais processos empregadas em reações de polimerização é por meio do arranjo físico e dividido em dois grandes grupos: sistemas homogêneos e sistemas heterogêneos. A divisão é feita conforme as condições de operação, tanto no nível laboratorial quanto em escala industrial. As técnicas de polimerização que empregam o sistema homogêneo são: polimerização em massa e em solução. Já as técnicas que abordam o sistema heterogêneo são: polimerização em lama, emulsão, suspensão, interfacial, em fase gasosa e em dispersão. Técnicas de polimerização heterogêneas que resultam na precipitação de cadeias poliméricas em partículas dentro da fase contínua da reação progrediram significativamente nos últimos 50 anos. Paralelamente, melhorias na

síntese de estabilizadores adequados para dispersões de látex permitiram aos pesquisadores controlar o tamanho, a distribuição de tamanho e a composição das partículas preparadas por esses processos. (RICHEZ et al., 2013).

Uma das vantagens dos processos quando se emprega os arranjos físicos é que durante o processo de polimerização é possível obter um controle de massa molar e de sua distribuição, assim como obter um bom rendimento na reação. Em todos os casos é necessário ter um iniciador solúvel no meio onde deverá iniciar a reação de polimerização. O uso de polímeros empregados na produção de partículas poliméricas a partir da polimerização de monômeros dispersos em meio heterogêneo, como copolímeros do ácido metacrílico, ésteres acrílicos ou metacrílicos, tem sido amplamente utilizada na área farmacêutica para incorporação de princípios ativos. (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012). Alguns fatores como a hidrofobicidade, carga superficial e perfil de degradação da composição polimérica e a massa molar, carga e absorção ou incorporação do princípio ativo influenciam na biodisponibilidade do produto formado. Quintanar-Guerrero e colaboradores (1998) apontam desvantagens nestes métodos, tais como o uso de polímeros não biodegradáveis, que geram subprodutos não totalmente biocompatíveis, além de resíduos tóxicos provenientes dos monômeros, oligômeros, tensoativos residuais ou catalisadores presentes na reação. Podem ocorrer ainda reações com o fármaco provocando degradação de outros componentes das partículas.

Haldorai e colaboradores (2010), produziram nanomateriais de argila montmorilonita natural (MMT) dispersos em poli (etilenotereftalato) (PET) através de métodos de polimerização *in situ*. No caso de nanocompósitos de PET / MMT foram preparados pelo método de adição de argila da reação de esterificação (ES), argilas de MMT não modificadas foram dispersas em água e, em seguida, o etileno glicolmonômero de PET antes da preparação dos nanocompósitos de bis (2-hidroxietil) tereftalato (BHET), que posteriormente foram submetidos à polimerização *in situ*. Para os nanocompósitos preparados pelo método do reator de policondensação (PC), quantidades selecionadas de argila foram dispersas em etanol, com agitação no interior do reator. Uma porção de BHET triturada foi então adicionada ao reator de PC e a mistura combinada foi agitada para alcançar a dispersão. O BHET restante foi adicionado e misturado, o etanol foi evaporado por aquecimento e então foi realizada a polimerização *in situ*. A análise morfológica por difratometria de raios X e microscopia eletrônica de transmissão (MET) confirmou a presença de estruturas de argila esfoliada e intercalada nos nanocompósitos

preparados através dos métodos de adição de argila ES e PC. Nanocompositos contendo menores concentrações de argila apresentaram aumento nas propriedades da barreira ao oxigênio em comparação aos valores obtidos para o PET não modificado.

Desde a década de 1990, os polímeros biodegradáveis e não biodegradáveis, vem sendo utilizados para a administração de medicamentos juntamente com a degradação de microtransportadores ou aplicações macroscópicas (KAPOOR *et al.*, 2015; GOMBOTZ; PETTIT, 1995). Apesar do amplo número de polímeros disponíveis na biomedicina, é difícil atender a todos os requisitos de um bom dispositivo e ao mesmo tempo atender os requisitos econômicos. Além disso, existem problemas inerentes a alguns tipos de polímeros: a polimerização geralmente é um processo estatístico, e o controle da distribuição da massa molar para diferentes reações químicas. Embora os polímeros sejam não tóxicos, existem preocupações frequentes sobre os demais monômeros restantes da polimerização incompleta e outros componentes, como produtos de degradação, subprodutos e plastificantes. Nesse contexto, o uso do monômero Metacrilato de metila (MMA) tem sido bastante relatado na literatura, por possuir um baixo teor de contaminantes residuais, onde trabalhos abordam a polimerização *in situ* a baixa pressão (MAITZ, 2015).

Mendes e colaboradores (2012) produziram nanopartículas de poli (metacrilato de metila) para uso no encapsulamento de bioativos. As nanopartículas de polímero foram produzidas utilizando a técnica de polimerização por miniemulsão. A polimerização em miniemulsão do monômero mostrou estabilidade e o tamanho médio foi cerca de 90 nm. As nanopartículas de PMMA foram testadas quanto à toxicidade na cepa de células leucêmicas humanas e não mostraram efeito adverso na viabilidade celular. Portanto, eles concluíram que as nanopartículas de poli (metacrilato de metila) são adequadas para encapsular agentes antitumorais.

Sahu e colaboradores (2018) produziram nanopartículas de poli (metacrilato de metila) (PMMA-NPs) por polimerização em emulsão e a curcuminóides (Curs), oleorresinas de Curcuma longa, foi incorporada as partículas de PMMA-NPs. As Curs possuem propriedades anticarcinogênicas e anti-inflamatórias, mas possuem alta toxicidade, baixa solubilidade aquosa e suscetibilidade à degradação de fluidos corporais, sendo grandes impedimentos para a sua administração clínica. No estudo, os autores verificaram a presença dos três componentes das oleorresinas por cromatografia em camada fina. Os NPs eram esféricos com diâmetros de  $192,66 \pm 5$  nm (vazio) e  $199,16 \pm 5$  nm (carregado). A carga do bioativo e a eficiência do encapsulamento foi de 6% e 93%,

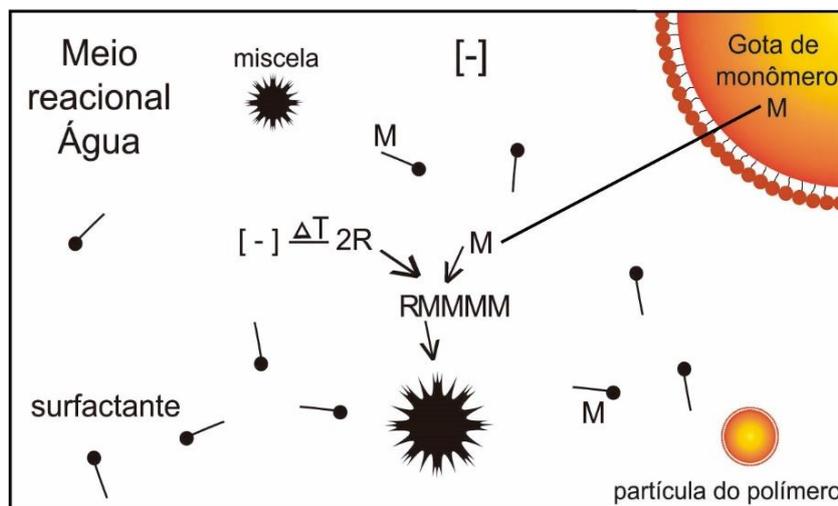
respectivamente. A liberação do bioativo por até 10 dias foi estimada, acoplado em tampão, solução salina e soro. A liberação mais alta de aproximadamente 55% foi observada por 3 dias em tampão que exibia a maior biodisponibilidade. Os resultados revelaram que a morte celular, dependente da dose e do tempo no caso das partículas de PMMA-NPs carregados, era comparável à das curcuminóides livres. De acordo com o estudo, os PMMA-NPs carregados com bioativos parecem ser altamente adequados para quimioterapia eficaz, localizada e segura.

#### **2.4.1 Polimerização em Emulsão**

A polimerização em emulsão é um processo que utiliza um monômero, um iniciador hidrossolúvel, solvente (água) e emulsificante, para proporcionar um meio adequado para a formação de micelas. O seu meio é heterogêneo na qual os monômeros encontram-se dispersos e são polimerizados por radicais livres originados da decomposição do iniciador solúvel ou parcialmente solúvel na fase contínua. O produto formado pela polimerização em emulsão é uma dispersão estável, num meio aquoso, recebendo o nome de látex (CHERN, 2006; MANO, MENDES, 2004).

A polimerização em emulsão apresenta algumas vantagens, como: a obtenção de um látex que apresenta diferentes propriedades coloidais (morfologia, distribuição de tamanhos de partículas, concentração de partículas, entre outros.), e polímeros com diferentes propriedades (composição, estrutura, distribuição de massa molar, entre outros). É uma técnica importante no ponto de vista industrial e muito utilizada quando comparada a outros métodos de polimerização. Esta apresenta algumas desvantagens como: o iniciador tem que ser hidrossolúvel, necessidade do uso de coagulante e a dificuldade na purificação do polímero (OLIVEIRA, 2010). A Figura 2.5 mostra um diagrama esquematizando os componentes do meio reacional para a realização de uma polimerização por emulsão.

**Figura 2. 6:** Diagrama esquemático mostrando os componentes do meio reacional de uma polimerização por emulsão: grandes gotas de monômero, micelas de surfactante vazias, iniciador solúvel em água e partículas de polímero envoltas por surfactante.



Fonte: Canevarolo Jr. (2006)

Mestiri e colaboradores (1993) foram capazes de encapsular pelo método da emulsão simples, um composto pouco solúvel, como a cisplatina, utilizando o PMMA com alta eficiência de incorporação, de tamanhos pequenos e possuindo uma boa distribuição do bioativo, sendo viável a liberação controlada de acordo com parâmetros apropriados para o processo. Partículas diferentes foram avaliadas em diversas condições de preparação, variando-se a natureza e a concentração do agente emulsionante, a composição da fase aquosa, o solvente orgânico, a concentração da solução de polímero e a adição de um agente de porosidade (PEG 4000).

Bonfá e colaboradores (2011) obtiveram nanopartículas de PMMA, com  $195 \pm 15$  nm de diâmetro, usando o polisorbato 20 (Tween 20), como surfactante. A necessidade da eliminação do surfactante do produto final, devido a sua toxicidade, dificilmente completamente removido, é o que justifica a rara aplicação do método de preparação do PMMA por polimerização em emulsão para aplicações biomédicas (RAO e GECKELER, 2011).

## 2.5 Polimerização do Metacrilato de Metila (MMA) por Dispersão

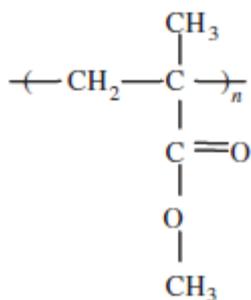
O PMMA vem sendo utilizado no desenvolvimento de nano/micropartículas em diversas áreas biomédicas (COELHO *et al.*, 2010). o PMMA é um importante candidato

como um material biomédico devido à sua biocompatibilidade, estabilidade e por ser não-reabsorvível, e as publicações recentes têm mostrado um aumento no interesse de suas aplicações como um sistema transportador de partículas para entrega de bioativos. Além disso, algumas patentes relatam a preparação de partículas de PMMA com possíveis aplicações como transportadores de bioativos (TATSUYA, 1995; CUI *et al.*, 2010).

O PMMA, também conhecido como poli (metil 2-metilpropenoato) foi o primeiro acrílico empregado como biomaterial, inclusive em processos de revestimento farmacêutico, devido a sua biocompatibilidade (ZHANG *et al.*; 2004). As primeiras aplicações de PMMA como um material de transporte de partículas estavam no desenvolvimento de nanopartículas para fins de vacinação (KREUTER, 1974; KREUTER e SPEISER, 1976a, b; KREUTER *et al.*, 1976; KREUTER e LIEHL, 1978) e em grânulos para preencher defeitos relativos à ressecção cirúrgica de osteomielite crônica (KLEMM, 1976).

O polímero de PMMA, geralmente é obtido através da reação de adição via radicais livres do monômero metacrilato de metila (MMA) (Figura 2.6). O mecanismo para a reação de polimerização do PMMA ocorre basicamente em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação, o iniciador (como por exemplo o BPO), gera os radicais livres através da quebra de ligação (seja por calor ou incidência de luz), formando um centro ativo que garante o crescimento da cadeia polimérica. A etapa de propagação é onde ocorre a incorporação das unidades monoméricas às cadeias ativas, permitindo a propagação da polimerização e aumento da massa molar. Por fim ocorre a etapa de terminação, onde o centro ativo perde a sua atividade, formando assim cadeias poliméricas inativas (OLIVEIRA; NELE; PINTO, 2013).

**Figura 2. 7:** Estrutura química da unidade de repetição do polímero de Polimetacrilato de metila (PMMA)



Fonte: Bettencourt e Almeida (2012)

O PMMA é classificado como um material de fácil processamento, muitas vezes usado na substituição de vidros, possui uma temperatura de transição vítrea de 105 °C e apresenta uma característica bastante hidrofóbica (STICKLER e RHEIN, 1992; JOHNSON *et al.*, 1986). Os melhores solventes orgânicos para o PMMA são parcialmente substituídos por hidrocarbonetos como o tricloroetileno (EVCHUK *et al.*, 2005).

Existem na literatura alguns efeitos adversos graves, como reações alérgicas e hipersensibilidade, associados ao uso de PMMA, com base na observação de vários anos de prática em ortopedia, em que o PMMA foi usado como um implante de substituição total do quadril e como um agente de estabilização vertebral nos pacientes com osteoporose (CARVALHO *et al.*, 2009; SCHADE e ROUKIS, 2010). Outras aplicações biomédicas de PMMA incluem a sua utilização como um material protético na correção dentária e mandibular (SIVAKUMAR e RAO, 2000) e como um implante permanente para a lente intraocular após cirurgia de catarata (CARVALHO *et al.*, 2009).

### **2.5.1 Polimerização do MMA por Dispersão a Baixa Pressão**

Historicamente, o processo de polimerização por dispersão foi desenvolvido a partir da polimerização por precipitação, onde ocorre um processo semelhante de precipitação em uma cadeia polimérica em crescimento dentro de uma fase contínua, onde o monômero é dissolvido inicialmente, originando assim partículas poliméricas de tamanho não controlado. A polimerização por precipitação realizada na presença de estabilizadores adequados, produziu partículas de látex de polímero bem controladas e coloidalmente estáveis. As experiências iniciais foram realizadas em solventes orgânicos, mas esse método foi adaptado a solventes polares com grande sucesso. Em particular, a possibilidade de misturar diferentes solventes para ajustar as condições do solvente nas quais o polímero precipita para formar partículas foi extensivamente investigado. No entanto, a síntese em solventes não polares permaneceu de interesse dos acadêmicos por seu potencial em criar dispersões de partículas com tamanhos controlados (RICHEZ *et al.*, 2013).

A polimerização em dispersão é um sistema inicialmente homogêneo que contém o monômero, um solvente orgânico, o iniciador solúvel na fase orgânica e um agente estabilizante e ao decorrer da reação este sistema se torna heterogêneo, pois o polímero formado durante a polimerização é insolúvel no solvente orgânico. Os monômeros são dispersos na fase contínua na forma de pequenas gotas através da ação de agentes de

suspensão. A polimerização é então iniciada nas gotas de monômero pelos iniciadores que são transformadas em glóbulos, em seguida as partículas poliméricas formadas absorvem monômeros e radicais presentes na fase contínua. Os processos de polimerização em dispersão produzem partículas com tamanhos na faixa de 1 a 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro (ODIAN, 2004). A seleção do solvente orgânico depende, sobretudo, de sua miscibilidade com os outros reagentes do sistema reacional. O ideal é que o monômero, o agente estabilizante e o iniciador da polimerização apresentem completa solubilidade no solvente, enquanto o polímero seja insolúvel no solvente e precipite durante a polimerização (ARAÚJO, 2000).

Na literatura está relatado diversos trabalhos para a produção de partículas poliméricas por polimerização em dispersão a baixa pressão. Tipicamente, são usados como solventes, álcoois como o etanol e o metanol, em diferentes concentrações, para condução de polimerizações de monômeros como o acrilonitrila, o acrilato de butila, a acrilamida, entre outros (ARAÚJO, 2000; SÁENZ, 1999; CAO, 2000). Onde é possível destacar os dois principais monômeros mais utilizados, metacrilato de metacrilato (MMA) e estireno (SM).

Zhang e colaboradores (2006) prepararam partículas uniformes de poliestireno (PSt) com o tamanho de 1,9  $\mu\text{m}$  por polimerização por dispersão, para posteriormente copolimerizar as partículas de PSt com o estireno (St) e ácido metacrílico (MAA) para produzir microesferas portadoras de carboxil. As microesferas PSt/(St/MAA) monodispersas do tamanho de microns foram preparadas com sucesso via copolimerização de dispersão semeada em meio aquoso de álcool com AIBN como iniciador. Teores de MAA entre 54 e 97 mg/g foram detectados a partir das partículas PSt/(St/MAA) produzidas sob diferentes condições. O meio de dispersão possui excelente influência na cinética da polimerização, devido ao seu efeito na partição de monômeros, solventes e iniciador em a fase de partículas, provavelmente, bem como na conformação do agente de dispersão na superfície das partículas.

Entretanto entre todos os processos, a polimerização em emulsão é a mais utilizada, onde o monômero e a fase contínua são imiscíveis. Variantes da polimerização em emulsão que levam à preparação de partículas em suspensão incluem polimerização por miniemulsão e suspensão, todos esses são processos usados principalmente com fases contínuas polares. O processo de polimerização por dispersão vem sendo amplamente utilizado para produzir partículas de látex bem controladas em solventes não polares

(RICHEZ *et al.*, 2013). A Tabela 2.2 demonstra as principais diferenças entre a polimerização em dispersão e a polimerização em emulsão.

**Tabela 2. 2:** Principais diferenças entre polimerização em Dispersão e em Emulsão

Polimerização em DISPERSÃO	Polimerização em EMULSÃO
<b>Monômero miscíveis nos solventes.</b>	A água é o meio dispersante.
<b>Iniciador: Radical livre, solúvel no monômero.</b>	Iniciador: Solúvel na fase aquosa.
<b>Os monômeros são agentes de suspensão.</b>	Os monômeros possuem solubilidade limitada na fase aquosa e incham o polímero formado.
<b>Cada gota atua como micro reatores de polimerização em massa resfriados por água (rápida remoção de calor).</b>	Emulsificante: Nucleação, crescimento das partículas e a manutenção à estabilidade coloidal das partículas formadas e gotas de monômero.
<b>A polimerização é iniciada nas gotas de monômeros pelos iniciadores.</b>	
<b>As gotas de monômeros são transformadas em glóbulos.</b>	

Fonte: Adaptado Mano, Mendes (2004)

Um dos principais objetivos para o desenvolvimento da polimerização em dispersão era permitir à indústria aumentar significativamente o conteúdo de polímeros nas formulações de revestimento de superfície sem aumentar significativamente a viscosidade dos sistemas. Especificamente, em meados da década de 1960, as empresas envolvidas na indústria de revestimentos começaram a produzir partículas estáveis bem controladas dos polímeros necessários em solventes não polares (RICHEZ *et al.*, 2013). Duas empresas principais estiveram envolvidas no desenvolvimento inicial da polimerização por dispersão, principalmente como consequência de sua implicação na indústria de revestimentos; uma empresa britânica, Imperial Chemical Industries (ICI) e uma empresa norte-americana, Rohm & Haas. A maioria dos exemplos de polimerização por dispersão nessas patentes foram baseadas no uso de metacrilato de metila (MMA) como monômero, com a adição ocasional de outros acrilatos como co-monômeros, como metacrilato de 2-etoxi etil (2EMA) ou acrilato de etila (EA).

Klein e colaboradores (2003) prepararam partículas de polimetacrilato de metila (PMMA), através da polimerização em dispersão do metacrilato de metila (MMA),

usando o polidimetilsiloxano terminados em metacriloxipropil, como estabilizante em solução de hexano. O trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da massa molar do estabilizador, da concentração do estabilizador e da concentração do monômero no tamanho da partícula e na polidispersidade. Obtiveram partículas de PMMA esféricas e monodispersas (menos de 5% de polidispersividade) com a variação de diâmetro das partículas de 0,4 a 1,5  $\mu\text{m}$ , com pouca alteração na polidispersividade, alterando a concentração do estabilizador ou a carga do monômero (razões de massa de estabilizador/monômero de 0,02 a 0,08).

O estudo dos processos de polimerizações por dispersão, baseados em monômeros de MMA em solventes polares, são bastante discutidos na literatura. A química do meio dispersante apolar também se desenvolveu ainda mais nos últimos anos. Inicialmente, com base principalmente em dodecano e solvente hexano, mais polimerizações de dispersão foram realizadas em outros solventes, como dióxido de carbono supercrítico ( $\text{scCO}_2$ ) (RICHEZ *et al.*, 2013).

### 2.5.2 Tecnologia Supercrítica

A tecnologia supercrítica vem sendo amplamente proposta para a produção de materiais nanoestruturados e a polimerização de monômeros dispersos. A utilização de processos de polimerização para produzir produtos de uma forma fácil e sem a presença de resíduos é uma área de pesquisa relativamente recente, sendo uma das vantagens a estreita distribuição de tamanho das partículas obtidas, o que é de extrema importância na determinação da aplicação de polímeros (REVERCHON *et al.*, 2009; PARK e SHIM, 2003). A produção de partículas poliméricas usando o  $\text{scCO}_2$  é um método promissor para a incorporação de princípios ativos, pois apresenta diversas vantagens em relação aos métodos tradicionais, tais como controle da morfologia, aumento na escala de produção, elevado rendimento e, ao final do processo, não é necessário o aumento da temperatura para eliminar o solvente, já que o mesmo é removido quando a pressão diminui, além de reduzir o número de etapas do processo. A síntese de micropartículas poliméricas com morfologia controlada, através da polimerização em dispersão em fluido supercrítico, vem sendo uma estratégia muito aplicável a monômeros solúveis em  $\text{scCO}_2$ , onde existem diversas opções de monômero e surfactantes, para a realização da polimerização. O bom rendimento na polimerização usando um monômero menos solúvel pode ser obtido usando estabilizadores, moléculas anfifílicas que possuem a capacidade de formar

agregados na fase supercrítica. Estes são capazes de estabilizar os monômeros e os oligômeros em crescimento até que estes atinjam uma determinada massa molar (AGUIAR-RICARDO, 2012).

Alguns polímeros, em presença do CO<sub>2</sub> supercrítico, podem ser expandidos e plastificados, o que reduziria sua temperatura de transição vítrea. Dessa forma, a eliminação de impurezas, monômero residual, iniciador, água e da mistura de aditivos pode ocorrer mais facilmente, pois é possível “limpar” as partículas com o próprio scCO<sub>2</sub>, e o entumescimento do polímero facilita a eliminação de contaminantes tóxicos, além de evitar a formação de espuma (ELVIRA, et al., 2004; DOMINGO et al., 2003). Ainda, a cinética de polimerização pode ser favorecida, visto que a difusão do monômero nas partículas poliméricas pode ser beneficiada em função da plastificação (PARK e SHIM, 2003). Disso, surge o desafio para a eliminação de solventes orgânicos, através da realização de processos usando fluidos supercríticos, geralmente usando-se o CO<sub>2</sub>. Assim, a incorporação de partículas de forma limpa e eficaz é de grande interesse.

Fluidos supercríticos têm recentemente despertado grande interesse, uma vez que, em comparação com solventes orgânicos, tornam o processo limpo, evitando possíveis danos ao meio ambiente, sendo possível obter produtos com uma melhor qualidade (fármacos, cosméticos, dentre outros). O uso do scCO<sub>2</sub> destaca-se, devido a suas excelentes propriedades e características, tais como baixo custo, não tóxico, não inflamável, prontamente disponível, facilmente reciclado e, como um solvente, que possui difusividade típica de um gás, densidade típica de um líquido, permite o processamento de forma versátil, podendo ser realizado a temperaturas próxima da temperatura ambiente, além de ter a facilidade na variação das condições de pressão e/ou temperatura, fatores importantes para o processamento eficaz (BRAGA *et al.*, 2015). Particularmente, devido às suas condições críticas relativamente brandas ( $T_c = 31.28\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 73,8\text{ bar}$ ), o CO<sub>2</sub> é muitas vezes considerado como um meio de processamento altamente vantajoso para a incorporação de bioativos via polimerização (KEMMERE e MEYER, 2005).

O CO<sub>2</sub> supercrítico é uma molécula apolar, possui uma constante dielétrica baixa, e não participa fortemente em interações de van der Waals, o que o torna um solvente fraco para muitos reagentes altamente polares e de elevada massa molar, como os polímeros. Como a precipitação do polímero, no processo de polimerização em dispersão, acontece quando as partículas poliméricas atingem certa massa molar, os polímeros sintetizados em meio supercrítico apresentam uma baixa polidispersividade. As técnicas

que empregam o  $\text{scCO}_2$  possuem algumas restrições, sendo necessário o uso de surfactantes. A maior parte dos surfactantes usados nos processos de polimerização em dispersão em  $\text{scCO}_2$  têm uma cadeia alquílica, o que torna interessante o uso de surfactantes fluorados (PFOA) ou à base de silicone (PDMS). Esses surfactantes fornecem uma melhor estabilidade, em comparação aos hidrocarbonetos, sendo mais eficazes na estabilização para as polimerizações radiculares de diferentes monômeros, pois formam interações reversíveis por pontes de hidrogênio com as cadeias em crescimento, dada a sua elevada solubilidade em  $\text{scCO}_2$ , no final da reação (DESIMONE; KEIPER, 2001).

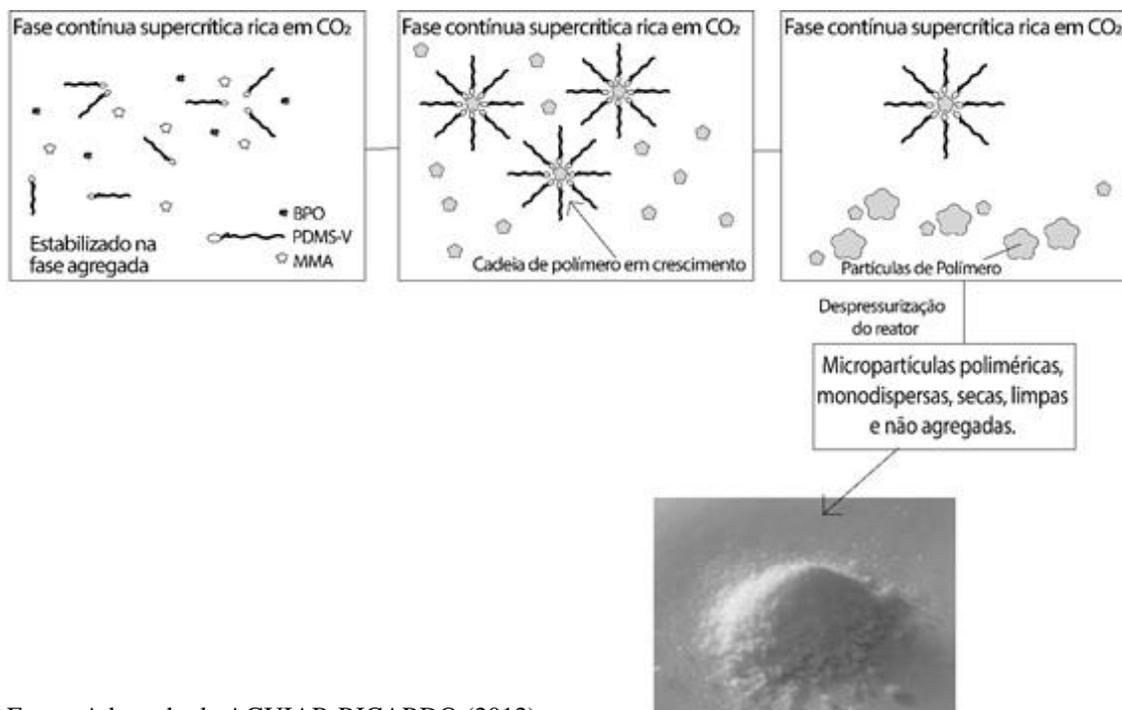
### 2.5.3 Polimerização do MMA por Dispersão a Alta Pressão

Diferentemente do processo de polimerização em suspensão, o processo de polimerização por dispersão deve ser um sistema inicialmente homogêneo, que contém o monômero, iniciador e agente estabilizante. À medida que a reação se processa, esse sistema torna-se heterogêneo devido à formação do polímero, que na sua maioria é insolúvel em  $\text{scCO}_2$ , pois ao atingirem certa massa molar as partículas poliméricas precipitam na forma de partículas esféricas livres bastante monodispersas (YUE *et al.*, 2004). O agente estabilizante deve conter o grupo funcional que tenha afinidade com o  $\text{scCO}_2$ , que é apolar, e afinidade com o monômero, já que o seu papel é manter o mesmo disperso no meio reacional para que, à medida que a polimerização se processe, as cadeias se formem de maneira uniforme. Já o iniciador deve ser totalmente solúvel no monômero, pois é responsável por iniciar a reação a partir da liberação de radicais livres originados da sua dissociação, que se ligam às cadeias poliméricas em crescimento, ligando-se a outras cadeias sucessivamente (AGUIAR-RICARDO, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O monômero MMA tem como sua forma polimérica o PMMA, que possui como características positivas a sua boa biocompatibilidade, além de permitir fácil modificação da superfície química das partículas, o que torna esse polímero amplamente aplicado, sobretudo na área biomédica. Na polimerização por dispersão em meio supercrítico, tem-se inicialmente um sistema homogêneo, no qual as condições de temperatura e pressão devem ser previamente estudadas através do equilíbrio de fases, onde se encontra o monômero, o iniciador, o surfactante e o solvente. A escolha do monômero, iniciador e do agente estabilizante dependem da sua solubilidade no solvente escolhido, nesse caso, os mesmos devem ser solúveis no  $\text{scCO}_2$ . Enquanto isso, as cadeias poliméricas formadas

de PMMA devem ser insolúveis no scCO<sub>2</sub> (HAN; PARK; LEE, 2009), ao contrário da sua forma monomérica, obtendo-se um sistema heterogêneo, como mostra a figura 2.7.

**Figura 2. 8:** Representação do mecanismo da polimerização por dispersão em CO<sub>2</sub> supercrítico.



Fonte: Adaptado de AGUIAR-RICARDO (2012)

Dessa forma, faz-se necessário o uso de um estabilizante, para promover o crescimento uniforme das cadeias poliméricas. O estabilizante típico da polimerização em dispersão é constituído por um polímero com características anfifílicas. (MACHADO; LIMA; PINTO, 2007; DESIMONE; KEIPER, 2001). O estabilizante deve ser capaz de envolver o monômero, promovendo a sua dispersão na fase contínua. O início da reação é promovido pela presença de um iniciador, onde os radicais livres originados da sua dissociação se ligam às cadeias poliméricas em crescimento, ligando-se a outras cadeias sucessivamente (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Rosell e colaboradores (2005), produziram partículas de PMMA através da polimerização de radical livre de MMA em scCO<sub>2</sub> usando um perfluoropoliéter terminado em ácido disponível comercialmente como um estabilizador (Krytox 157 FSL). Os autores analisaram a variação na taxa de agitação, obtendo uma dispersão instável a uma taxa de agitação moderada (acima de 25 rpm). No entanto, quando condições estáveis são alcançadas, o comportamento cinético normal é observado, levando a formação de

partículas poliméricas, com tamanho uniforme na faixa de poucos microns e distribuição da massa molar relativamente ampla.

Mcallister e colaboradores (2016) estudaram o controle do tamanho e da morfologia das partículas usando o poli (dimetilsiloxano) terminado em metacrilato (PDMS-MA) como estabilizador na polimerização em dispersão do MMA em scCO<sub>2</sub>. Além disso, estudaram uma nova abordagem em scCO<sub>2</sub>, onde adicionaram o monômero no meio da reação para permitir uma redução da variabilidade lote a lote, bem como reduzir o grau de agregação entre as partículas. Os resultados mostraram a obtenção de partículas cujo diâmetro variou de 0,3 a 5,3 µm. Isso foi obtido combinando o controle do monômero inicial e das cargas do estabilizador, demonstrando que essa abordagem deve ser facilmente aplicável a muitos outros estabilizadores. Além disso, a adição de uma segunda alíquota de monômero para atingir alta massa molar e conversão usando condições iniciais que, de outra forma, levariam a uma baixa massa molar e rendimento. Os resultados mostram que, após a lavagem em dodecano, menos de 15% m/m do PDMS-MA inicial permaneceram nas amostras, quando concentrações de surfactantes entre 5 a 20% m/m foram utilizadas. Isso ocorreu possivelmente porque uma fração do PDMS-MA adicionado à polimerização foi copolimerizada e a maior parte do PDMS-MA não foi incorporada ao produto final.

Oliveira e colaboradores (2016) estudaram o efeito da concentração do surfactante nas polimerizações em dispersão do MMA em scCO<sub>2</sub>. As polimerizações foram realizadas a 160 bar e 80 °C, usando o azobisisobutironitrila (AIBN) como iniciador e o polidimetilsiloxano vinil terminal (PDMS-V) como agente de dispersão. Os autores foram capazes de produzir partículas de polímero com diâmetros médios variando de 11,6 a 72,3 µm. Os resultados confirmaram a adequação do processo e do estabilizador para a produção de partículas de PMMA.

Na literatura é possível observar a existência de alguns estudos que abordam o uso da polimerização em scCO<sub>2</sub> (NEILL *et al.*, 1988; NEILL; YATES; JOHNSTON, 1988; QUADIR *et al.*, 1988; CHATZIDOUKAS; PLADIS; KIPARISSIDES, 2003; XU; HAN; YAN, 2003; GALIA *et al.*, 2004; HERTZ *et al.*, 2005; HERTZ *et al.*, 2006; GRIGNARD *et al.*, 2008; HOJJATI; CHARPENTIER, 2010; YANG *et al.*, 2010; GUO; ZHOU; LV, 2013; MCALLISTER *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016; LÓPEZ-DOMÍNGUEZ *et al.*, 2020).

O grupo de pesquisa de Hertz e colaboradores (2005; 2006) descreveram resultados sobre a síntese de zircônia estabilizada com ítrio (YSZ) em scCO<sub>2</sub> e seu

encapsulamento com poli (imetilsiloxano)-poliacrilato-frisado (PDMS-g-PA) ou PMMA em scCO<sub>2</sub>. Foram utilizados para as reações o MMA, como monômero, o AIBN, como iniciador, e o PDMS-g-PA, como surfactante e como polímero para a encapsulação. Foi demonstrado que a separação de fases e a polimerização permitem o revestimento das partículas do óxido e modificam claramente suas propriedades. Por outro lado, o uso de um surfactante como o PDMS-g-PA permite a ancoragem do monômero MMA e promove a polimerização na superfície da partícula. A escolha do surfactante é considerada um parâmetro chave para um processo de encapsulação efetivo. Este trabalho ofereceu novas perspectivas para a síntese e encapsulação de pós cerâmicos em scCO<sub>2</sub>.

Partículas de PMMA têm sido utilizadas como veículos para aplicações de entrega de bioativos devido à sua manipulação simples, no entanto, a preparação simultânea de PMMA e a incorporação do princípio ativo permanecem um desafio. Um processo promissor é a incorporação via polimerização *in situ* em scCO<sub>2</sub>. A presença do scCO<sub>2</sub> no meio de reação pode afetar a cinética da polimerização permitindo a produção de nanopartículas de PMMA sem solvente residual e com uma distribuição de tamanho de partícula mais estreita (LU *et al.*, 2004). Por esse motivo, o interesse por incorporar fitoterápicos a matriz polimérica do PMMA é um grande desafio. A exemplo de um fitoterápico que vem demonstrando grande interesse no seu uso industrial é o óleo de copaíba, por suas propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, anticâncer e de cuidados com a pele.

## 2.6 Incorporação de Bioativos Via Polimerização *in situ* Usando scCO<sub>2</sub>

O uso de partículas poliméricas é um método convencional para a proteção da superfície dos princípios ativos contra a oxidação e para evitar a aglomeração do pó durante o manuseio e processamento. Estas partículas englobam uma vasta gama de aplicações na indústria farmacêutica, eletrônica, alimentícia, de cosméticos e biomédicos, em que as técnicas convencionais de revestimento de partículas geralmente envolvem grandes quantidades de solventes orgânicos (ESMAEILI; CHAOUKI *et al.*, 2012), que podem causar sérias preocupações ambientais. Além disso, depois do procedimento de revestimento, o tratamento posterior, como a filtração, secagem, moagem, peneiração, leva a um aumento de custo total.

Disso surge o desafio para a eliminação de solventes orgânicos, através da realização de processos usando fluidos supercríticos, em emulsões do tipo H<sub>2</sub>O/scCO<sub>2</sub>. A

água é utilizada em pequenas quantidades para aumentar o poder de solvatação do CO<sub>2</sub>, quando utilizado na extração de compostos polares (HARADA *et al.*, 2008; DE OLIVEIRA, 2015). Assim, a encapsulação de partículas de forma limpa e eficaz é de grande interesse. Fluidos supercríticos têm recentemente despertado grande interesse, uma vez que, em comparação com solventes orgânicos, tornam o processo limpo, evitando possíveis danos ao meio ambiente. Os métodos utilizados para produção de partículas utilizando a tecnologia supercrítica são: Expansão Rápida de Soluções Supercríticas (RESS), o Gás Antissolvente (GAS), o Solvente-Antissolvente Supercrítico (SAS) e o Dispersão Assistida da Solução por Fluido Supercrítico (SEDS) e a Precipitação a partir de Soluções Saturadas por Gases (PGSS) (BRAGA *et al.*, 2015). Recentemente, a utilização desses processos mostrou-se bem-sucedida para uma ampla variedade de substâncias termossensíveis (óleos essenciais, fragrâncias, compostos farmacêuticos ativos e tintas) e matrizes (madeira, polímeros, algodão e lentes de contato). Os óleos essenciais, por exemplo, podem sofrer degradação a altas temperaturas, utilizadas no processo de secagem do solvente (acima de 80 °C), o que pode ser evitado usando-se CO<sub>2</sub> supercrítico (BAKRY *et al.*, 2016).

Almeida e colaboradores (2013) demonstraram que foi possível impregnar microesferas de diferentes tipos de amido, com o óleo essencial de orégano usando SSI (impregnação por solvente supercrítico) com scCO<sub>2</sub>. As reações foram realizadas em diferentes condições, como pressão (80–150 bar), temperatura (40–50 °C), tempo de impregnação (3–24 h) e proporção de massa de óleo essencial/amido (0,4–3). Os resultados do estudo demonstraram que a impregnação supercrítica é um processo atraente para a impregnação de matrizes naturais, como grânulos de amido, com óleos essenciais de orégano. As condições amenas de operação evitam a degradação do óleo essencial e a alta difusividade do scCO<sub>2</sub> na matriz sólida de amido garante uma eficiente impregnação do óleo essencial, com alta atividade antioxidante do produto, também durante o armazenamento. Além disso, o processo é relativamente fácil de escalonar, para a produção de ingredientes potencialmente benéficos para a saúde, podendo ser utilizado na indústria de alimentos.

Baker e colaboradores (2005) utilizaram o método de emulsão assistida em CO<sub>2</sub> para carregar progesterona em micropartículas de poliestireno com a superfície grafitada com poli (N-vinilpirrolidona), a partir de suspensão aquosa do látex emulsificada com CO<sub>2</sub> com SAM 185, um surfactante polimérico. Chong e colaboradores (2009) utilizaram

o método de precipitação com fluido supercrítico e obtiveram partículas esféricas ou fibras utilizando olefina cíclica de metaloceno com vários solventes. Dependendo da concentração do polímero nos solventes e do diagrama de fases, onde a precipitação ocorreu, são obtidos diferentes tamanhos de partículas. Assim como Gonzáles-Padilha e colaboradores (1975) ao usar esse mesmo método, fibras constituídas por micropartículas de polímero coalescidas foram obtidas ao se utilizar o ácido poli-L-láctico, polimetacrilato de metila e policaprolactona (DMC), obtendo fibras que apresentaram superfície escamosa e área superficial extremamente alta.

O processo de produção de sistemas farmacêuticos particulados ainda apresenta muitos desafios para a ciência. No entanto, a literatura tem relatado o sucesso de alguns processos de produção de partículas nanométricas e micrométricas, usando o fluido supercrítico. O scCO<sub>2</sub> é o preferido pela indústria farmacêutica, pois possui a capacidade de melhorar a solubilidade de bioativos lipofílicos, o que pode favorecer a comercialização dos fármacos. Alguns desses produtos ainda estão em desenvolvimento (SHEKUNOV, *et al.*, 2006; CHATTOPADHYAY, *et al.*, 2006; SHEKUNOV, *et al.*, 2005). Outros produtos já estão disponíveis no mercado, como mostra a tabela 2.3.

**Tabela 2. 3:** Abordagens comercializadas para aumento da biodisponibilidade de bioativos pouco solúveis em água.

<i>Categoria</i>	<i>Produtos comercializados</i>	<i>Aplicação</i>	<i>Referência</i>
<i>Nanopartícula</i>	Rapamune®	Utilizado pela medicina como imunossupressor	Merisko-Liversidge; Liversidge; Cooper, (2003)
	Emend®	Prevenção de náuseas e vômitos	Liversidge; Cundy (1995)
<i>Partículas compostas (dispersão sólida, solução sólida)</i>	Elyzol®	Antibiótico	Johnsson et al. (2006)
	Carbatrol®	Anticonvulsivante	Yasuji; Takeuchi; Kawashima, (2008)
<i>Formulação semelhante a líquido</i>	Vfend®	Antifúngico	Zia; Rajewski; Stella, (2001)
	Geodon®	Tratamento da esquizofrenia	Rajewski et al, (1995)

FONTE: adaptado, Johnsson *et al.* (2006)

Os fluidos supercríticos utilizados para aplicações farmacêuticas estão descritos em importantes artigos de revisão (JUNG; PERRUT, 2001; PERRUT, 2000; YASUJI;

TAKEUCHI; KAWASHIMA, 2008; BAKRY et al., 2016). Nesses artigos, observa-se que a tecnologia supercrítica pode ser usada para produzir partículas com diâmetros dentro de uma faixa estreita de tamanhos, o que pode ser vantajoso para produtos farmacêuticos. Além disso, há duas vantagens adicionais da tecnologia do fluido supercrítico: requerer pouco ou nenhum solvente orgânico e usar temperaturas amenas. Os fabricantes têm aproveitado ao máximo estas e outras vantagens oferecidas pela tecnologia supercrítica, sobretudo com o emprego do CO<sub>2</sub>.

### 2.6.1 Óleo de Copaíba

As árvores de copaíba, são plantas pertencentes ao gênero *Copaifera*, são comuns à América Latina e África Ocidental (Congo, Camarões, Guiné e Angola), sendo típicas no Brasil, das regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica (floresta amazônica, floresta atlântica e cerrado). As copaibeiras são árvores que chegam a viver cerca de 400 anos e chegam a possuir a altura de 25 a 40 metros e diâmetro entre 0,4 e 4 metros, com folhagem densa e constituída por flores pequenas e frutos secos (SANTANA *et al.*, 2014; ARAÚJO JÚNIOR *et al.*, 2005). Da árvore de copaíba é extraído um óleo-resina ou como popularmente é conhecido o óleo de copaíba, que a depender da espécie a cor varia de amarelo ouro a marrom, trata-se ainda de um líquido transparente e viscoso (Figura 2.8). Esse óleo natural apresenta uma certa variedade nos seus componentes de amplo emprego medicinal. As bioatividades do óleo de copaíba foram confirmadas pela presença de diterpenos (fração não volátil), flavonóides e predominância dos sesquiterpenos (fração volátil), como o  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno,  $\beta$ -bisaboleno e  $\beta$ -cariofileno. O  $\beta$ -bisaboleno possui propriedades anti-inflamatória e analgésica e o  $\beta$ -cariofileno é descrito na literatura como anti-edêmico, anti-inflamatório, bactericida e insetífugo (OLIVEIRA; LAMEIRA; ZOGHBI, 2006).

**Figura 2. 9:** Óleo-resina ou Óleo de Copaíba



Fonte: PASCOAL *et al.*, (2017)

O óleo de Copaíba (*Copaifera ssp*) têm sido bastante utilizado com diversas funções, principalmente na medicina popular, indígena e na indústria farmacêutica (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009), para a preparação de medicamentos destinados a uso oral e tópico (GOMES *et al.*, 2007). Diversos estudos demonstram o interesse do uso do óleo de copaiba com a finalidade de comprovar a sua ação antimicrobiana sobre bactérias formadoras da placa dental (PIERI, 2007; VALDEVITE *et al.*, 2007). PIERI (2007) testou *in vitro* a atividade antimicrobiana do óleo de copaíba, sobre a bactéria *Streptococcus pyogenes*, que são as principais causadora das inflamações de garganta, onde obteve resultados positivos na inibição do crescimento deste microrganismo.

Pascoal *et al.* (2017) relata a incorporação do óleo de copaíba em curativos comerciais baseados em biopolímeros (Spongostan® e Promogran®) usando o método de impregnação/deposição com solvente supercrítico (SSI/SSD) como um tratamento alternativo tópico para leishmaniose cutânea. Os métodos de SSI / SSD forneceu uma faixa de 0,06 a 4,7 mg de óleo de copaíba por mg dos biopolímeros, permitindo a identificação de uma variedade de concentrações de óleo de copaíba que podem ser realizadas por esse método para esses curativos comerciais. O processo de carregamento do óleo de copaíba em curativos comerciais usando scCO<sub>2</sub>, mostrou-se uma alternativa promissora para o uso desses curativos capazes de realizar liberação controlada no tratamento de feridas provocados por leishmaniose cutânea.

Bonan *et al.* (2015) demonstrou que é possível obter partículas de micro e nanofibras de poli (ácido láctico) (PLA) e polivinilpirrolidona (PVP) carregadas com óleo

de Copaíba (*Copaifera ssp*), produzidas por sopro em solução (SBS). A adição de PVP nas misturas de PLA/PVP aumentou o diâmetro das fibras e reduziu o ângulo de contato medido devido à natureza hidrofílica da PVP. A cromatografia em óleo de copaíba confirmou sua composição complexa, tendo o  $\beta$ -cariofileno como principal constituinte. Testes de liberação controlada *in vitro* mostraram que a fibra do PLA tem uma liberação de óleo muito baixa, enquanto o nanofibras PLA/PVP apresentou uma taxa de liberação dependente da proporção da mistura. Isso está de acordo com estudos *in vitro* com colônias microbianas nas quais o tamanho da zona de inibição era proporcional à quantidade de PVP contida nas misturas. Esses resultados demonstram o uso promissor das fibras em sistemas de liberação controlada de agentes ativos, como o óleo de copaíba, e podem ser utilizados em futuras aplicações biomédicas.

Devido às suas propriedades medicinais e seu baixo custo, a utilização do óleo de copaíba em matrizes poliméricas para aplicações farmacêuticas tem sido amplamente relatada. Nesse sentido, a incorporação do óleo de copaíba em poliméricos para aplicação de uso oral e tópico de vem se mostrando uma estratégia experimental promissora.

Os processos de polimerização envolvendo PMMA em meio supercrítico, seguido da incorporação de um bioativo, são pouco conhecidos e necessitam ser mais bem estudados, uma vez que a presença do  $scCO_2$  pode afetar significativamente a cinética de polimerização. Uma condição importante para a formação de PMMA a alta pressão em presença de  $scCO_2$  é ter conhecimento do comportamento de fases do sistema, a fim de escolher as condições de operação que assegurem um sistema homogêneo no início da reação. Vários autores relatam a necessidade de estudar, antes do início do processo de polimerização, o comportamento de fases dos sistemas e a possível interferência do uso de surfactantes na polimerização.

## 2.7 Considerações

Há muitos estudos sobre as técnicas para a produção de nano e micropartículas poliméricas a baixa pressão, onde a discussão sobre as condições operacionais, distribuição de tamanho das partículas e morfologia, são bastante discutidos. Contudo, na literatura existe um número menor de trabalhos, quando se trata sobre a produção de partículas poliméricas em meio supercrítico, onde as condições operacionais influenciam no tamanho, na distribuição de tamanho e morfologia. Tais características levam a um aumento na taxa de dissolução do bioativo no organismo e aumento da sua

biodisponibilidade, possibilitando reduzir a dosagem e conseqüentemente os efeitos colaterais, além de minimizar os custos. Por conta disso, vem se desenvolvendo um grande interesse em novas tecnologias para a incorporação de diversos bioativos assim como o uso de fitoterápicos. Um processo que vem ganhando destaque é a incorporação via polimerização *in situ* em scCO<sub>2</sub>. Nos últimos 30 anos, a utilização de fluidos supercríticos com o emprego do CO<sub>2</sub> vem se mostrando uma alternativa adequada para a produção de materiais biofarmacêuticos, como vacinas, proteínas, peptídeos e DNA, com ampla aplicação na indústria farmacêutica. Para isso, foi necessário realizar o estudo do comportamento de fases com a obtenção de dados de equilíbrio para o sistema binário scCO<sub>2</sub> + MMA, para comparar com o sistema ternário scCO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V. A investigação do sistema ternário foi motivação adicional para este trabalho devido à falta de estudos na literatura sobre a influência do surfactante PDMS-V na transição de fases do sistema. O estudo do equilíbrio de fases teve o intuito de investigar os efeitos das condições operacionais para a realização da polimerizações em dispersão do MMA em scCO<sub>2</sub>

No presente levantamento bibliográfico, constatou-se que não há, até então, nenhum estudo sobre a incorporação do óleo de copaíba utilizando o PMMA via polimerização *in situ* em presença de CO<sub>2</sub> supercrítico. Foram encontrados apenas trabalhos envolvendo a incorporação de outros fármacos e óleos usando o PMMA, assim como a utilização da tecnologia supercrítica em outros sistemas, ou seja, há perspectivas promissoras para o desenvolvimento do sistema de incorporação aqui proposto.

## **CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS**

### 3.1 Introdução

O objetivo deste capítulo é descrever os procedimentos de equilíbrio de fases a alta pressão, a síntese de PMMA a alta pressão e a incorporação do óleo de copaíba via polimerização *in situ* a alta pressão, além dos métodos de análise e caracterização das partículas poliméricas, incluindo-se a avaliação da quantidade de óleo incorporado.

Na seção 3.2 são relatados os materiais utilizados, o aparato experimental e a metodologia empregada nos estudos de equilíbrio de fases em presença de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico, sem iniciador. Na seção 3.3, são descritos os materiais utilizados, o aparato experimental e a metodologia empregada na etapa de polimerização do PMMA em dispersão em scCO<sub>2</sub>, na presença e ausência do óleo de copaíba. Na seção 3.4 são descritas as análises realizadas com o propósito de caracterizar a morfologia, determinar as massas molares médias, distribuição de massa molar, determinar a quantidade de monômero residual, a distribuição do tamanho das partículas, a identificação dos grupos funcionais e estruturas químicas das partículas obtidas. Na seção 3.5 são descritas as análises para determinação da eficiência de incorporação do óleo de copaíba no polimetacrilato de metila.

### 3.2 Determinação do Equilíbrio de Fases do Sistema MMA + PDMS-V + scCO<sub>2</sub>

#### 3.2.1 Materiais

São apresentados a seguir os materiais utilizados no preparo das soluções empregadas no estudo de equilíbrio de fases. Os materiais foram utilizados como recebidos, sem nenhuma etapa de purificação adicional.

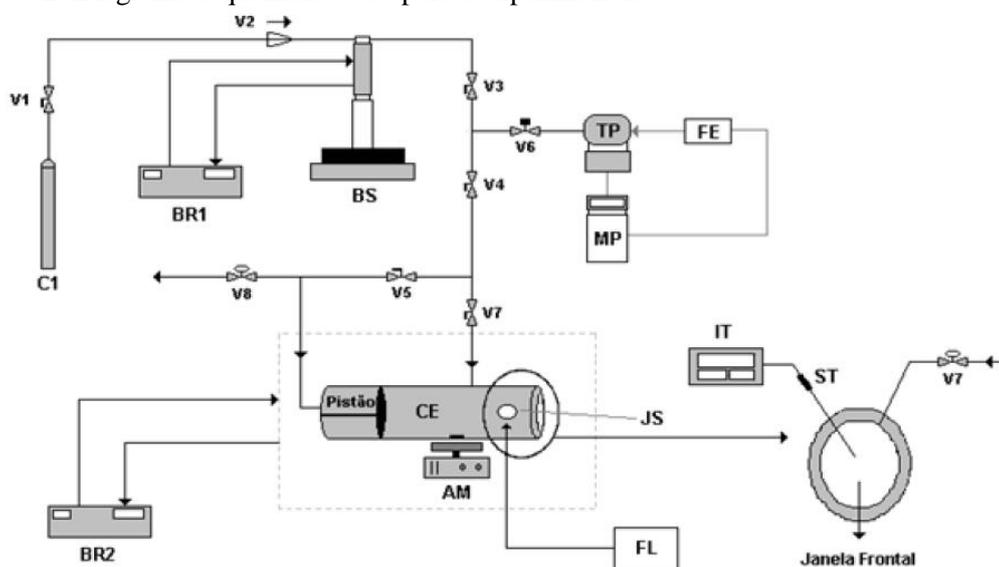
1. Metacrilato de metila (MMA), fornecido pela Sigma-Aldrich (Brasil), com pureza mínima de 99%;
2. Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), fornecido pela White Martins (Brasil), com pureza de 99,99%;
3. Poli (dimetil siloxano) vinil terminal (PDMS-V) fornecido pela Sigma-Aldrich (Brasil), com pureza > 99% e Mw = 25.000 g/mol.

### 3.2.2 Aparato Experimental

As medidas experimentais de equilíbrio de fases a altas pressões foram realizadas em uma célula de equilíbrio de aço inoxidável com volume variável interno, localizado no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica - LATESC, dos Programas de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos e Engenharia Química da UFSC. O aparato e procedimento experimentais, foram descritos em uma variedade de estudos e amplamente validados por Lanza (2004), Bender (2014) e Rebelatto *et al.*, (2015). A célula está equipada com duas janelas de safira (uma para entrada de luz e outra para observação visual), um transdutor de pressão absoluta (Smar, modelo LD 301), um programador portátil (Smar, modelo HT 201) para aquisição de pressão e uma bomba de seringa (ISCO, modelo 260D), como ilustrado no diagrama esquemático do aparato experimental da Figura 3.1.

A célula de equilíbrio também contém um pistão móvel usado para ajustar a pressão final e evitar queda de pressão durante as execuções experimentais. Este aparelho pode ser operado com segurança até 275 bar com incertezas de pressão de  $\pm 0,1$  bar, fornecidas pelos sistemas indicadores. O CO<sub>2</sub> é fornecido à célula de equilíbrio por uma bomba de seringa, previamente resfriada a 7 °C em um banho termostático. Neste trabalho, o método adotado foi o estático sintético, identificando visualmente as transições de fase através da manipulação da pressão utilizando uma bomba de seringa e CO<sub>2</sub> como fluido.

**Figura 3.1:** Diagrama esquemático do aparato experimental.



Fonte: Lanza (2004).

As siglas apresentadas na Figura 3.1 representam: **C1**: reservatório de solvente (podendo este ser um cilindro de propano, butano, GLP ou CO<sub>2</sub>); **V1**: válvula de esfera (tem como objetivo isolar o cilindro da bomba); **BR1**: banho de recirculação, utilizado para manter a camisa da bomba a uma temperatura constante; **BS**: bomba de alta pressão da marca ISCO, modelo 260D; **CE**: célula de equilíbrio de volume variável construída em aço inoxidável, encamisada e polida internamente; **JS**: janela de safira, encontrada na parte frontal da célula e no orifício de entrada de luz; **V2**: Válvula de uma via, utilizada com a finalidade de evitar o retorno do solvente para o cilindro; **V3, V4 e V6**: válvulas de esferas, sendo a válvula **V3** de fundamental importância para o isolamento do sistema; **V7**: válvula de alimentação do solvente na célula de equilíbrio; **V8**: válvula de descarga ou alívio, utilizada em casos de emergência ou no momento da despressurização do sistema; **BR2**: banho com recirculação para aquecimento da célula; **IT**: indicador de temperatura; **TP**: transdutor de pressão diferencial; **MP**: monitor de pressão; **FE**: fonte de alimentação de energia; **AM**: sistema de agitação; **FL**: fonte de luz; **ST**: termopar (Lanza 2004; Rebelatto, 2018).

### 3.2.3 Procedimento Experimental

O experimento tem início com o carregamento da bomba seringa com o CO<sub>2</sub> usado como solvente. Inicialmente deve ser feita a transferência do CO<sub>2</sub> do cilindro (C1) para a câmara interna da bomba (BS). Dentro da câmara da bomba, é adicionada uma grande quantidade de CO<sub>2</sub>, utilizada para ajustar a composição do sistema e como fluido pressurizador. É importante ressaltar que a quantidade de CO<sub>2</sub> transferida deve ser a maior possível para não ser necessária a repetição do procedimento de carga na bomba.

A temperatura do banho de recirculação (BR1) é ajustada em 7 °C para que a temperatura na câmara da bomba permaneça constante e a pressão na bomba seja mantida em 150 bar. As válvulas V3 e V4 são abertas para que ocorra a pressurização de toda a linha. Após a estabilização do fluxo de CO<sub>2</sub> no sistema, é iniciada a montagem da célula de equilíbrio. Primeiramente, é feito o ajuste do pistão, de forma que possa deslizar no interior da célula e vedar a passagem de fluido para a parte frontal e vice-versa. A barra de agitação magnética é então adicionada e, posteriormente, é pesada a massa de monômero e inserida na célula. As roscas são fechadas e em seguida a célula é colocada adequadamente na unidade experimental (sobre o agitador magnético) sem que as tubulações do termopar e da alimentação sejam conectadas.

O método estático sintético consiste na introdução de uma mistura de composição conhecida no interior da célula, mantida a uma temperatura constante, onde o contato

entre as fases é dada pela homogeneização do sistema pelo agitador magnético, até o atingir o equilíbrio (FONSECA; DOHRN; PEPER, 2011). Foram estudados dois sistemas, um binário  $\text{CO}_2 + \text{MMA}$  e um ternário  $\text{CO}_2 + \text{MMA} + \text{PDMS-V}$ , que envolveu o monômetro (MMA), o surfactante (PDMS-V) e  $\text{CO}_2$ . Para determinar a massa de cada componente, foi realizado o seguinte procedimento: para a medição do monômero e PDMS-V, foi utilizada uma balança analítica (Shimadzu, Modelo AY220) com uma precisão de 0,0001 g e para o solvente ( $\text{CO}_2$ ), a pressão da bomba seringa é ajustada em 150 bar e a temperatura de 7 °C, sendo possível determinar nessas condições o valor da densidade de  $\text{CO}_2$  (a bomba controla o volume adicionado e não a massa). A quantidade de dióxido de carbono transferida para a célula é contabilizada pelo deslocamento de volume na bomba seringa. Conhecendo-se o volume, pressão e temperatura do solvente ( $\text{CO}_2$ ) transferido, a densidade pode ser determinada e é possível calcular a massa de  $\text{CO}_2$ , deslocando-se o volume da bomba de seringa. A densidade do  $\text{CO}_2$ , em condições fixas de temperatura e pressão, foi obtida através de NIST Chemistry Webbook (NIST, 2020). Após a etapa de montagem da célula, é passado um pouco de  $\text{CO}_2$  a baixa pressão para retirar da célula o ar residual, em seguida é adicionado à célula o MMA (para o sistema binário) e a mistura de MMA e PDMS-V (para o sistema ternário) são transferidos para o interior da célula, utilizando uma seringa, através do orifício onde é conectado o termopar. Após o fechamento da célula, o volume de  $\text{CO}_2$  que é transferido pela bomba seringa para a célula é calculado pelo decréscimo do volume interno da bomba pela abertura da V7, mantendo a temperatura e pressão constantes do sistema até a pressão desejada, pois com base na sua densidade é possível calcular a massa de solvente que foi adicionada. Para isso, foi avaliado o fluxo da bomba ( $\pm 0,01 \text{ mL/min}$ ) por no mínimo 30 minutos. Após o sistema se encontrar em equilíbrio, a válvula V7 foi aberta lentamente, abastecendo a célula com a entrada de  $\text{CO}_2$ , até o valor pré-estabelecido da composição global (cálculos no apêndice 2) desejada ser atingindo no volume da câmara da bomba. Enquanto se realizou a carga do  $\text{CO}_2$ , nenhuma pressão foi aplicada no fundo do pistão, para que a célula obtivesse o volume máximo no início do experimento. Após pressurização, a mistura na célula foi agitada continuamente com um agitador magnético e uma barra de agitação revestida com Teflon. A mistura é aquecida por meio do banho com recirculação para aquecimento da célula (BR2) até a temperatura desejada e a pressão foi aumentada até um sistema monofásico ser observado visualmente. A temperatura no interior da célula foi então medida através do termopar (ST) e monitorada pelo indicador de temperatura (IT). O termopar e indicador foram calibrados de modo que a temperatura

do sistema sempre fosse baseada no indicador (IT). Os dados de equilíbrio da fase experimental foram extrapolados com base dos dados existentes na literatura, na faixa de temperatura de 50 a 80 °C, sendo a primeira temperatura avaliada de 50 °C e as demais temperaturas 60, 70 e 80 °C na sequência e pressões de até 251,8 bar. O sistema permaneceu em repouso por cerca de 30 minutos até atingir o equilíbrio térmico. O ajuste fino da pressão foi feito usando um pistão, até que uma formação incipiente de uma nova fase fosse visualmente observada, indicando o ponto de transição da pressão. A transição de fase foi realizada movendo-se o pistão.

Para o sistema binário CO<sub>2</sub> + MMA, a fração molar investigada variou de 0,6949 a 0,9499, conforme a literatura. A transição entre as fases líquida e fase vapor foi investigada no ponto de bolha, quando a primeira bolha aparece no topo da célula, e no ponto de orvalho, quando uma fina névula e/ou gotícula de líquido surge dentro da célula. Para o sistema ternário (CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V) foi tratado como um sistema binário (CO<sub>2</sub> + MMA), ou seja, em base livre de PDMS-V, na razão de massa PDMS-V para MMA de 1:10, a fração molar total de CO<sub>2</sub> variou de 0,6833 a 0,9444 na base livre de PDMS-V (cálculos no apêndice 2), com razão de massa PDMS-V/MMA constante de 1:10. No sistema ternário CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V, o equilíbrio líquido-vapor (ELV) foi investigado no ponto de bolha, enquanto a transição de fase líquido-líquido (ELL) e a transição de fase líquido-líquido-vapor (ELLV) foram investigadas alterando a pressão, a uma temperatura constante. Quando o equilíbrio líquido-líquido (ELL) apareceu, o ponto de transição foi identificado a partir do surgimento de uma nova fase que se estendia pelo topo da célula, seguida pela turvação completa do sistema. A despressurização foi seguida pelo aparecimento de uma terceira fase (vapor) no topo da célula, caracterizando o equilíbrio líquido-líquido-vapor (ELLV).

De acordo com o método sintético, nenhuma amostra foi retirada das fases. A incerteza nas medições de pressão foi de aproximadamente  $\pm 1$  bar e a temperatura da mistura no interior da célula foi de  $\pm 0,98$  °C. Estima-se que as incertezas associadas às composições globais das misturas sejam inferiores a 0,5% em massa.

### 3.3 Polimerização em Dispersão do MMA na Presença de $\text{scCO}_2$

#### 3.3.1 Materiais

São apresentados a seguir os materiais utilizados no processo de polimerização em dispersão, do metacrilato de metila (MMA) em  $\text{scCO}_2$ , na presença e ausência do óleo de copaíba. Os reagentes utilizados nesta etapa do trabalho foram utilizados como recebido, sem nenhuma etapa de purificação.

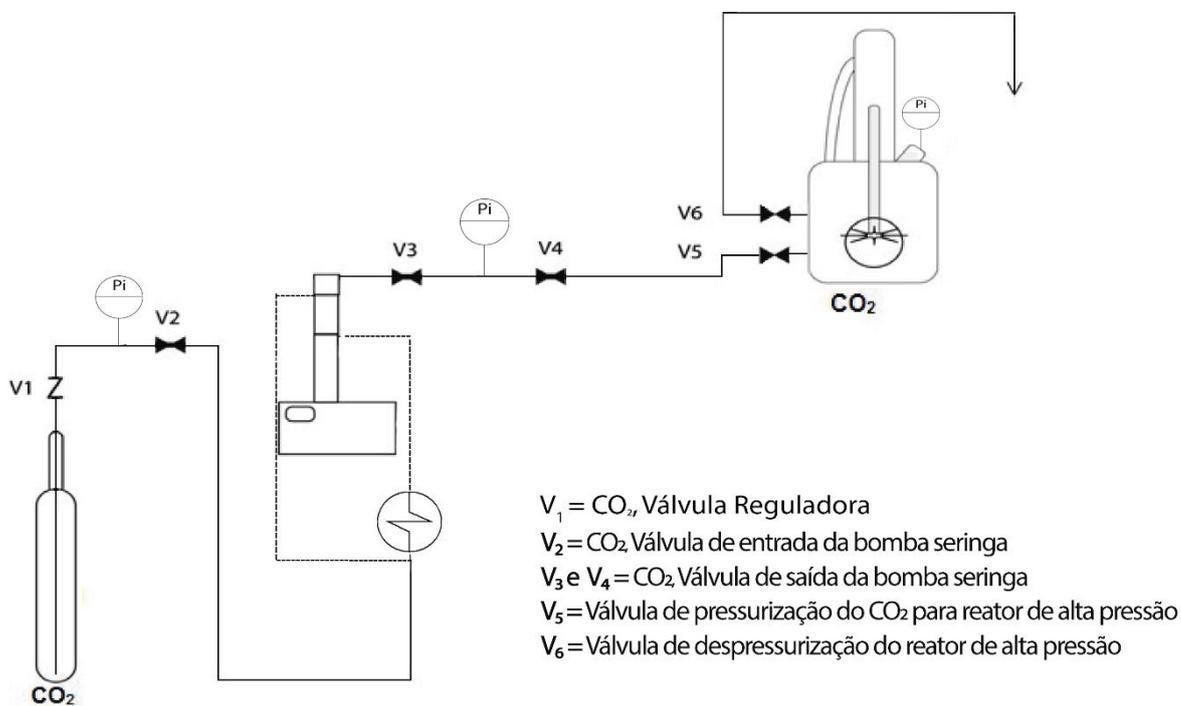
1. Metacrilato de Metila (MMA), fornecido pela Sigma-Aldrich com pureza mínima de 99%;
2. Dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), fornecido pela White Martins, com pureza de 99,99%;
3. Polidimetilsiloxano Vinil Terminal (PDMS-V), fornecido pela Sigma-Aldrich com pureza mínima de 99%;
4. Peroxido de Benzoíla (BPO), fornecido pela Dinâmica Química Contemporânea, com pureza mínima de 95%;
5. O óleo de copaíba (extraído mecanicamente da copaíba, sem o uso de solventes) foi doado pelo Laboratório de Pesquisa em Assuntos Médicos (LAPEMM) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

#### 3.3.2 Aparato Experimental

As corridas experimentais da polimerização por dispersão do MMA em  $\text{scCO}_2$  foram realizadas em um reator de alta pressão (RAP) de aço inox encamisado do modelo R250 W, Reactor Assay, fabricado pela Thar Technologies Inc/WATERS (Pittsburgh, EUA). Possui um volume interno de  $250 \text{ cm}^3$  e uma janela de safira que permite a visualização da mistura reacional. A temperatura de reação é medida por um termopar localizado no interior do reator e possui um agitador com hastes acoplado ao reator (aproximadamente 900 rpm) possuindo um dispositivo de aquecimento para ajuste das condições de temperatura e controle de agitação. O reator pode ser operado até a pressão máxima de 400 bar e temperatura máxima de  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 0,1 \text{ bar}$  e  $\pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente). O  $\text{CO}_2$  que alimenta o reator é previamente resfriado em um banho termostático, até alcançar a temperatura de aproximadamente  $5^\circ\text{C}$  é bombeado na condição de líquido subresfriado, usando-se uma bomba seringa da marca Teledyne-

ISCO (modelo 260D, Lincoln EUA).. A Figura 3.2 mostra o esquema do conjunto de equipamentos utilizados, instalados no Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica (LNS, localizado na Escola Politécnica-UFBA).

**Figura 3. 2:** Esquema do conjunto dos equipamentos utilizados para a polimerização em meio supercrítico.



Fonte: da Autora (2020)

Como suporte, foram utilizados dois equipamentos auxiliares: uma bomba seringa fabricada pela TELEDYNE ISCO, Série D, modelo 260D, para pressurizar o reator com o  $\text{CO}_2$ , capaz de quantificar a quantidade de  $\text{CO}_2$  bombeada; e um banho termostático com circulação (QUIMIS), utilizado para o subresfriamento do  $\text{CO}_2$  até  $5^\circ\text{C}$ , antes de ser bombeado.

### 3.3.3 Procedimento Experimental

As reações de polimerização por dispersão do MMA em meio supercrítico foram conduzidas em um reator de aço inox a alta pressão (RAP), da marca Thar/WATERS, cujo interior pode ser observado através de janelas de safira. O módulo de compressão consiste em um cilindro de  $\text{CO}_2$ , banho termostático e bomba seringa. A temperatura de reação é medida com um termopar localizado no interior do reator. A dispersão é mantida

por um módulo de agitação magnética, que possui uma haste com pás acopladas, com a velocidade da reação fixada.

As polimerizações em dispersão de MMA em scCO<sub>2</sub> foram realizadas na presença e ausência do óleo de copaíba. Nos experimentos realizados sem a presença do óleo de copaíba, foi utilizada uma bomba de vácuo para retirada de ar remanescente do reator, que poderia interferir na reação. Em seguida, os reagentes (monômero, iniciador e surfactante) foram pesados, misturados e introduzidos no reator previamente aquecido a 35 °C. Na presença de óleo de copaíba, os reagentes (monômero, iniciador e surfactante) e óleo de copaíba foram pesados, misturados e introduzidos no reator de alta pressão de maneira semelhante. Ambas as execuções experimentais (com e sem óleo de copaíba) foram realizadas a 35 °C.

Depois de hermeticamente fechado, o reator é alimentado com CO<sub>2</sub> de maneira gradual até atingir uma pressão de aproximadamente 65 bar. Em seguida, o reator é aquecido simultaneamente e quantidades de CO<sub>2</sub> são adicionadas lentamente, até que as condições da reação sejam atingidas. A alimentação de CO<sub>2</sub> é interrompida quando o sistema estabiliza nas condições pretendidas (160-180 bar e 80 C°,  $\rho_{\text{CO}_2} = 470 \text{ g/L}$ ). Na sequência, a polimerização é realizada por 4 h (o tempo foi ajustado depois da realização de estudos prévios). Com o fim da polimerização, o reator é resfriado e completamente despressurizado para as condições ambientais, e o produto (material sólido) é recuperado. Após isso, o material polimérico sólido é lavado com n-hexano para remoção do resíduo do agente estabilizador (PDMS-V), filtrado a vácuo e seco à temperatura ambiente. As condições experimentais foram obtidas a partir de um prévio estudo do diagrama de fases do sistema.

Os experimentos realizados investigaram o efeito da variação da concentração do estabilizante (PDMS-V) em relação ao monômero (MMA) e o efeito da variação da concentração do monômero (MMA) na incorporação *in situ* do óleo de copaíba. As condições experimentais foram estabelecidas conforme trabalhos da literatura e estão resumidas na Tabela 3.1 (OLIVEIRA et al., 2016; MCALLISTER et al., 2016). Todas as corridas experimentais foram realizadas em triplicata.

**Tabela 3.1:** Condições experimentais para a polimerização em dispersão do MMA em scCO<sub>2</sub>

<b>Formulação</b>	Monômero (MMA)= 10% m/m, 12,5% m/m e 15% m/m, em relação à massa total do sistema
	<b><math>\rho</math>MMA= 940 g/L (80 °C)</b>
	Iniciador (BPO)= 2% m/m, em relação à massa do monômero
	Surfactante (PDMS-V)= 1,7%, 5,4% m/m, 7% m/m, 10% m/m e 12% m/m, em relação à massa do monômero
	Óleo de Copaíba= 3% m/m, 5% m/m e 7% m/m, em relação à massa do monômero

### 3.4 Caracterização das Partículas Poliméricas de PMMA

#### 3.4.1 Materiais

São apresentados a seguir os materiais utilizados no preparo das soluções empregadas para as análises listadas abaixo. Os reagentes utilizados nesta etapa do trabalho foram utilizados como recebido, sem nenhuma etapa de purificação.

1. Tetra-hidrofurano (THF), fornecido pela Sigma-Aldrich (Alemanha) com pureza mínima de 99,99%, e utilizado na análise de cromatografia de permeação em gel (GPC/SEC);
2. Acetona, fornecida pela Sigma-Aldrich (Alemanha) com pureza mínima de 99,99%, e utilizada na análise de cromatografia gasosa (GC).
3. Lauril sulfato de sódio (LSS), fornecido pela Vetec Química Fina com pureza mínima de 90%, e utilizado na análise de espalhamento dinâmico de luz (DLS).

#### 3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi usada para identificar a morfologia das partículas de PMMA puras e PMMA contendo o Óleo de Copaíba. O aparelho utilizado foi da marca Tescan equipado com um cátodo de tungstênio aquecido (série VEGA3, Libušina, CZE). As amostras foram inicialmente colocadas em fita dupla face de carbono e depois revestidas com uma camada de Au sob argônio por 300s, a uma taxa de decomposição de 5 nm/min, em um dispositivo de pulverização (QUORUM

modelo Q150R ES, East Sussex, Reino Unido). As análises foram realizadas no modo de campo amplo com uma tensão de aceleração de 5,0 kV.

### **3.4.3 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC/SEC)**

As análises de GPC foram realizadas a 35 °C, com soluções preparadas com 0,15 mg de amostras de polímero seco e 3 mL de THF, a uma vazão de 0,5 mL/min e uma pressão de 17,2 bar. As soluções de polímero foram filtradas com membranas de Teflon com tamanho de poro de 0,45 µm. Os volumes de injeção foram iguais a 300 µL. As análises GPC foram realizadas em um cromatógrafo Viscotek, modelo VE2001 (São Paulo, Brasil), equipado com 4 colunas Phenomenex com poros de 500, 103, 105 e 106 Å e um detector refratométrico Viscotek, modelo VE3580, para determinar as massas molares. A calibração foi realizada com padrões de poliestireno com massas molares médias variando de 500 a 1,0 x 10<sup>6</sup> Da.

### **3.4.4 Cromatografia Gasosa (GC)**

A presença do monômero residual foi determinada com um cromatógrafo a gás (GC), modelo 6890N, fornecido pela Agilent (Santa Clara, EUA). As amostras foram solubilizadas em acetona. O conteúdo residual de MMA foi determinado com uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações conhecidas. Uma vez solubilizadas, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar (De Leo) a 60 °C.

### **3.4.5 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)**

As análises de espalhamento dinâmico de luz (DLS) foram realizadas com um analisador de tamanho de partícula CILAS 1190L (Madison, EUA), equipado com três fontes de laser e um laser colimado operando na faixa de 0,04 a 2500,00 µm. A avaliação dos tamanhos e formas das partículas foi realizada com software proprietário fornecido pelo fabricante do equipamento DLS. As amostras foram analisadas em dispersões aquosas líquidas preparadas com aproximadamente 1% m/m de surfactante lauril sulfato de sódio (SLS).

### 3.4.6 Espectroscopia de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas com um analisador Shimadzu, modelo IR Prestige-21 (Kyoto, Japão), na faixa de comprimento de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , a fim de identificar a composição química das cadeias poliméricas e avaliar a incorporação no óleo de copaíba nas partículas de PMMA. Além disso, as amostras de PMMA foram preparadas com brometo de potássio (KBr) e avaliadas no modo de operação de transmissão. Os espectros de FTIR foram registrados como médias de 32 varreduras com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.4.7 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN $\text{H}^1$ )

A espectroscopia de RMN é uma técnica analítica que se baseia na absorção e reemissão de radiação eletromagnética em uma frequência específica, na presença de um forte campo magnético. Vários núcleos podem ser estudados pelas técnica de RMN, mas os mais comuns disponíveis são os de carbono e hidrogênio. É possível obter informações sobre o número de átomos magneticamente distintos do isotópo estudado, bem como a composição de um material e o tipo de ligação química que uma determinada espécie química está realizando. Por exemplo, quando se estudam os núcleos de hidrogênio (protons), é possível determinar o ambiente químico, a quantidade dos diferentes tipos de prótons não equivalentes, assim como obter informações sobre a estrutura e estado de reação (DIEGUEZ *et al.*, 2018).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton (RMN  $\text{H}^1$ ) foram registrados em um Varian Gemini 500 MHz ( $^1\text{H}$ : 500MHz e  $^{13}\text{C}$ : 125MHz) e um Bruker DRX400 UltraShield ( $\text{H}^1$ : 400MHz e  $\text{C}^{13}$ : 100MHz). Todas as amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

### 3.4.8 Eficiência de Incorporação

A quantidade de óleo na superfície das partículas de PMMA carregadas com óleo de copaíba, foram avaliadas através do método descrito em BAE; LEE, 2008 e PASQUEL REÁTEGUI *et al.*, 2017. Para realizar os testes de extração, foram adicionados 20 mL de etanol (Neon, P.A.) em 0,1 g das partículas de PMMA carregadas com óleo de copaíba. Para extrair o óleo da superfície das partículas de PMMA, a mistura foi agitada

manualmente por 2 min à temperatura ambiente. Depois, a mistura vazou em um microfiltro (1,4  $\mu\text{m}$ ). O pó retido foi subsequentemente lavado com 20 mL de etanol (três ciclos). Essa metodologia foi implementada porque as partículas de PMMA são insolúveis em etanol e, portanto, o óleo incorporado permanece protegido dentro das partículas, permitindo que apenas o óleo externo seja arrastado pelo solvente. O solvente foi removido por evaporação e o óleo não incorporado (óleo de superfície) foi calculado de acordo com a Eq. 3.1, os testes foram realizados em triplicata.

$$EI (\%) = \frac{(\text{óleo}_{total} - \text{óleo}_{superfície})}{\text{óleo}_{superfície (TOTAL)}} \times 100$$

onde EI é a eficiência de incorporação,  $\text{óleo}_{total}$  é a massa total de óleo usada para preparar a emulsão (g) e  $\text{óleo}_{superfície}$  é a massa de óleo extraído das partículas (g).

## **CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4.1 INTRODUÇÃO

Este capítulo apresenta uma compilação dos resultados experimentais sob a forma de dois artigos publicados. O primeiro foi publicado no “*Journal of Supercritical Fluids*” e o segundo “*Industrial & Engineering Chemistry Research*” na ordem em que foram realizados.

O primeiro artigo tratou sobre estudo das transições de fase de alta pressão para o sistema binário dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) + metacrilato de metila (MMA) e para o sistema ternário  $\text{CO}_2$  + MMA + poli (dimetilsiloxano) terminado em vinil (PDMS-V). Afim de determinar as condições de temperatura, pressão e composição capazes de assegurar a existência de um sistema homogêneo antes do início da reação de polimerização. Alguns dados de equilíbrio de fases a alta pressão do sistema  $\text{CO}_2$  + MMA estão disponíveis na literatura, porém não cobrem toda a faixa de temperatura e pressão desejada no presente trabalho e não abordam a possível interferência do surfactante na reação (ZWOLAK et al., 2005; MCHUGH e LORA 1999). Desse modo, as condições temperatura, pressão e composição para o início da reação foram previamente determinadas por meio de um estudo de comportamento de fases do sistema binário  $\text{scCO}_2$  + MMA e do sistema ternário  $\text{scCO}_2$  + MMA + PDMS-V.

O segundo artigo estudou o processo de polimerização por dispersão *in situ* de metacrilato de metila (MMA) na presença de  $\text{scCO}_2$ , utilizando o BPO, como iniciador e o PDMS-V como surfactante, na presença e ausência do óleo de copaíba (*Copaifera sp.*). O trabalho teve como objetivo avaliar como a variação da concentração do monômero e surfactante afetam o processo de polimerização. A incorporação do óleo de copaíba foi uma motivação adicional, afim, de analisar qual a influência do bioativo no meio reacional, usado como uma molécula modelo complexa, no processo de polimerização em dispersão em  $\text{scCO}_2$  e também analisar, se o processo de incorporação *in situ* é efetivo.

#### **4.2 – EQUILÍBRIO DE FASE A ALTA PRESSÃO DE SISTEMAS CONTENDO DIÓXIDO DE CARBONO, METACRILATO DE METILA E POLI(DIMETILSILOXANO)**

O conteúdo dessa seção corresponde na íntegra ao conteúdo do seguinte artigo: SANTOS, T.M.M.; REBELATTO, E.A.; CHAVES, B.B.; LANZA, M.; OLIVEIRA, J.V.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.C.M.; VIEIRA DE MELO, S.A.B. High pressure phase equilibrium data for carbon dioxide, methyl methacrylate and poly (dimethylsiloxane) systems. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 346-352, 2019.

## HIGH-PRESSURE PHASE EQUILIBRIUM DATA FOR CARBON DIOXIDE, METHYL METHACRYLATE AND POLY (DIMETHYLSILOXANE) SYSTEMS

### Abstract

This paper investigates high-pressure phase transitions for the binary system carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) + methyl methacrylate (MMA) and for the ternary system CO<sub>2</sub> + MMA + poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated (PDMS-V). The experiments were carried out using the static-synthetic method in a stainless steel equilibrium cell with a variable-volume, including piston and sapphire window, at temperatures of 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K and the molar fraction ranging from 0.6949 to 0.9499 and 0.6833 to 0.9444 for the binary and ternary systems, respectively. For the binary system, phase transition was determined from the liquid region to the two-phase region. High miscibility of carbon dioxide in MMA was observed with a significant volumetric expansion of the liquid phase. The surfactant PDMS-V was added to this binary system in order to investigate its effect on the phase behavior. For the ternary system CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V, phase transitions were observed from the liquid homogeneous phase until the two-phase region. The results indicate that the addition of PDMS-V led to a small increase in the phase transition pressure, and for the liquid-liquid region a large increase in the phase transition pressure of the system occurred at all temperatures.

**Keywords:** High pressure, phase transition, supercritical CO<sub>2</sub>, methyl methacrylate, poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated.

### 4.2.1 Introduction

Poly (methyl methacrylate) (PMMA) nanoparticles have been used as vehicles for drug delivery applications due to their simple manipulation, however, the simultaneous preparation of PMMA and encapsulation of the drug remains a challenge. A promising process is encapsulation via in situ polymerization in a supercritical fluid medium. The presence of supercritical carbon dioxide in the reaction medium can affect the kinetics of the polymerization enabling the production of PMMA nanoparticles with no residual solvent and a narrower particle size distribution [1].

The use of carbon dioxide in the supercritical state is a promising alternative for polymerization and copolymerization processes [2-4] due to its low environmental impact

when compared to organic solvents traditionally used, non-flammability, non-toxic and low cost. Furthermore, it has a low critical temperature, close to room temperature, which prevents the degradation of thermo labile molecules [5-6].

Synthesis and processing using supercritical carbon dioxide (scCO<sub>2</sub>) has been the focus of several studies [7-12] over recent decades. scCO<sub>2</sub> has been widely used in the preparation of biomedical devices due to its high biocompatibility and many industrial applications, such as in pharmaceuticals, cosmetics, polymers, catalysts, dental materials, prosthesis, among others [13-18].

Although supercritical carbon dioxide is considered an interesting alternative for polymerization processes, scale up and process design require a knowledge of both the reaction kinetics and phase behaviour of the system scCO<sub>2</sub> + monomer + surfactant at operating conditions [3, 19, 20]. Carbon dioxide is usually highly soluble in many organic solvents under conditions of high pressure and moderate temperatures [21]. Additionally, the dissolution of CO<sub>2</sub> in typical organic solvents is also accompanied by a significant volumetric expansion of the liquid phase. This phenomenon affects the design of the high-pressure polymerization reactor where it should be possible to observe the interface between the phases and provide enough room to mix the reactants.

CO<sub>2</sub> is a non-polar molecule, has a low dielectric constant and does not strongly participate in van der Waals interactions. Therefore, CO<sub>2</sub> is a weak solvent for many highly polar materials and high molecular weight, such as polymers [22, 23]. In order to overcome these CO<sub>2</sub> limitations, it is necessary to use polymeric surfactants, which are amphiphilic molecules, i.e. they contain a 'CO<sub>2</sub>-philic' and a 'CO<sub>2</sub>-phobic' part. Fluorocarbons and siloxanes surfactants are interesting because they provide a better stability when compared to hydrocarbons, being more effective in the stabilization of free radical polymerizations of different monomers [24, 25]. Some works have reported that fluorocarbon, poly (1,1-dihydroperfluorooctyl acrylate) [poly (FOA)], siloxane, and poly(dimethylsiloxane) (PDMS) based homopolymers, macromonomers, and copolymers are employed successfully as surfactant in free radical dispersion polymerization of methyl methacrylate (MMA), styrene, and other soluble monomers in CO<sub>2</sub> [26-29].

Moreover, amphiphiles form reversible hydrogen bonding interactions with the growing chains due to their high solubility in scCO<sub>2</sub> at the end of the reaction [11]. According to DeSimone and Keiper (2001), the solvent density has an impact on the

micellization of amphiphilic copolymers in CO<sub>2</sub>, because the critical micellar concentration increases when the CO<sub>2</sub> density rises [23].

Some authors have studied the phase behavior of systems containing CO<sub>2</sub> and MMA at high pressure for a wide range of temperatures [2-4, 30]. However, depending on the sample preparation and measurement method, the results of these experiments can differ considerably [3-4, 30-31]. Correlation of CO<sub>2</sub> + MMA phase equilibrium data is not satisfactory and for this reason, extrapolation to other temperatures is not recommended. Furthermore, these authors do not report the effect of adding a surfactant to the system, which is needed for polymerization and can change the properties of the medium reaction. In the present work, new vapour-liquid equilibrium data of the binary system scCO<sub>2</sub> + MMA were measured at the same temperatures reported in the literature. This is because MMA polymerization is typically performed with the addition of surfactant and at temperatures in the 323.15-353.15 K range. The study of the data for the binary system (CO<sub>2</sub> + MMA) was necessary to compare with the ternary system (CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V). The investigation of the ternary system scCO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V was the motivation for this work due to the lack of studies in the literature about the influence of the surfactant PDMS-V on the phase transition of the system. The phase behavior of this ternary system was determined under the same conditions of pressure and temperature as used in the binary system.

## **4.2.2 Experimental**

### **4.2.2.1 Materials**

Methyl methacrylate (MMA) (purity > 99 %) was purchased from Sigma-Aldrich (Brazil), vinyl terminated poly (dimethylsiloxane) (PDMS) (purity > 99 %, M<sub>w</sub>= 25,000 g/mol) was purchased from Sigma-Aldrich (Brazil) and carbon dioxide (99.99 %) was obtained from White Martins (Brazil). All the chemicals were used as received.

### **4.2.2.2 Phase equilibrium apparatus and procedure**

The experimental runs were carried out in high-pressure phase transition circulation-type apparatus consisting of a stainless steel equilibrium cell with an internal variable-volume. The experimental apparatus and procedure has been described in a



the solvent ( $\text{CO}_2$ ) transferred, the density was determined and it was possible to calculate the mass of  $\text{CO}_2$  by displacement the volume of the syringe pump.

The ternary system ( $\text{CO}_2 + \text{MMA} + \text{PDMS-V}$ ) was treated as a binary system ( $\text{CO}_2 + \text{MMA}$ ), that is, in poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10. For the binary system ( $\text{CO}_2 + \text{MMA}$ ), the molar fraction investigated was varied from 0.6949 to 0.9499; and for the ternary system  $\text{CO}_2$  (1) + MMA (2) + PDMS-V (3) the overall mole fraction of  $\text{CO}_2$ , was varied from 0.6833 to 0.9444 in free base of PDMS-V with mass ratio PDMS-V/MMA constant of 1:10. After the cell closure, an amount of  $\text{CO}_2$  was pumped in using a syringe until the desired pressure. After pressurization, the mixture in the cell was continuously stirred with a magnetic stirrer and a Teflon-coated stirring bar. The mixture in the cell was heated to the desired temperature and the pressure was increased until a one-phase system was visually observed. The system rested for about 30 min until it reached thermal equilibrium. Fine tuning of pressure was done by using a piston, until an incipient formation of a new phase was visually observed, indicating the pressure transition point. The phase transition was performed by moving the piston.

The experimental phase equilibrium data was obtained in the temperature range of 323.15 to 353.15 K and pressures up to 25.18 MPa. For the binary system  $\text{CO}_2 + \text{MMA}$ , the vapour-liquid equilibrium phase transition was investigated at bubble point (VLE-BP transition), and the dew point (VLE-DP transition) was determined; and for the ternary system  $\text{CO}_2 + \text{MMA} + \text{PDMS-V}$ , vapor-liquid equilibrium (VLE) with bubble point transition (BP), liquid-liquid and liquid-liquid-vapour equilibrium phase transition were investigated by changing pressure at a constant temperature. When the liquid-liquid equilibrium (LLE) appeared, the transition point was identified from the appearance of a new phase which stretched across the top of the cell, followed by the complete system clouding. Depressurization was followed by the appearance of a third vapor phase at the top of the cell, characterizing the vapor-liquid-liquid equilibrium (VLLE).

According to the synthetic method no samples were withdrawn from the phases. The uncertainty in pressure measurements was approximately  $\pm 0.10$  MPa and temperature of the mixture inside the cell was  $\pm 0.98$  K. The uncertainties associated with the global compositions of the mixtures were estimated to be lower than 0.5% on a mass basis.

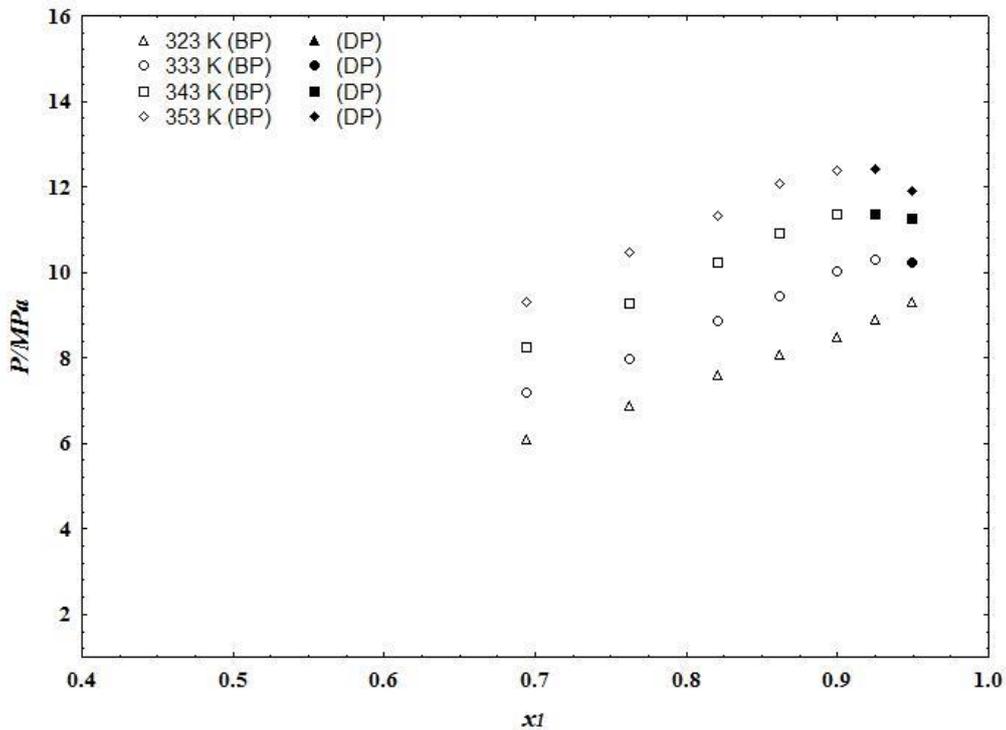
### 4.2.3 Results and Discussion

#### 4.2.3.1 Binary system CO<sub>2</sub> + MMA

Experimental phase transition data for the system CO<sub>2</sub> + MMA were measured at four different temperatures, 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K, and the system pressure ranged from 6.09 to 12.35 MPa, as shown in Table 4.1 and illustrated in Figure 4.2. Each piece of isothermal data was obtained in triplicate in the same sample.

Table 4.1 describes the results of the phase transition in terms of pressure and the phase transition type: Vapour-liquid transitions such as bubble point (BP) and dew point (DP). Experimental error was represented by the standard deviation. Data from the vapour-liquid equilibrium phase transition show that for carbon dioxide mole fractions of up to 0.8997, the VLE-BP transition was observed and it was characterized by the formation of bubbles at the top of the cell during the depressurization of the system. For carbon dioxide mole fractions investigated above 0.9250, the VLE-DP was observed, which is characterized by the appearance of a fine mist and/or liquid droplets at the top of the equilibrium cell.

**Figure 4. 2:** Pressure-composition diagram for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2).



**Table 4.1:** Phase equilibrium results for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2). VLE-BP denotes vapour-liquid-equilibrium, type bubble point, VLE-DP denotes vapour-liquid-equilibrium, type dew point,  $T$ , system temperature,  $P$ , system pressure,  $\sigma$  is the standard deviation of the of triplicate measurements of phase transition pressure values in an individual experiment, i.e., divided by sqrt ( $n-1$ ), and  $x_1$ , denotes the molar fraction of CO<sub>2</sub>.

$T/K$	$P/MPa$	$\sigma/MPa$	Transition type	$T/K$	$P/MPa$	$\sigma/MPa$	Transition type
$x_1= 0.6949$				$x_1= 0.8997$			
323.15	6.09	0.02	VLE-BP	323.15	8.47	0.03	VLE-BP
333.15	7.19	0.03	VLE-BP	333.15	10.00	0.04	VLE-BP
343.15	8.22	0.02	VLE-BP	343.15	11.35	0.03	VLE-BP
353.15	9.30	0.02	VLE-BP	353.15	12.35	0.05	VLE-BP
$x_1= 0.7624$				$x_1= 0.9250$			
323.15	6.87	0.01	VLE-BP	323.15	8.89	0.06	VLE-BP
333.15	7.96	0.01	VLE-BP	333.15	10.27	0.05	VLE-BP
343.15	9.25	0.02	VLE-BP	343.15	11.35	0.03	VLE-DP
353.15	10.45	0.02	VLE-BP	353.15	12.40	0.02	VLE-DP
$x_1= 0.8211$				$x_1= 0.9499$			
323.15	7.60	0.02	VLE-BP	323.15	9.29	0.06	VLE-BP
333.15	8.86	0.01	VLE-BP	333.15	10.22	0.05	VLE-DP
343.15	10.32	0.01	VLE-BP	343.15	11.23	0.03	VLE-DP
353.15	11.31	0.02	VLE-BP	353.15	11.90	0.02	VLE-DP
$x_1= 0.8618$							
323.15	8.05	0.01	VLE-BP				
333.15	9.43	0.01	VLE-BP				
343.15	10.90	0.03	VLE-BP				
353.15	12.05	0.04	VLE-BP				

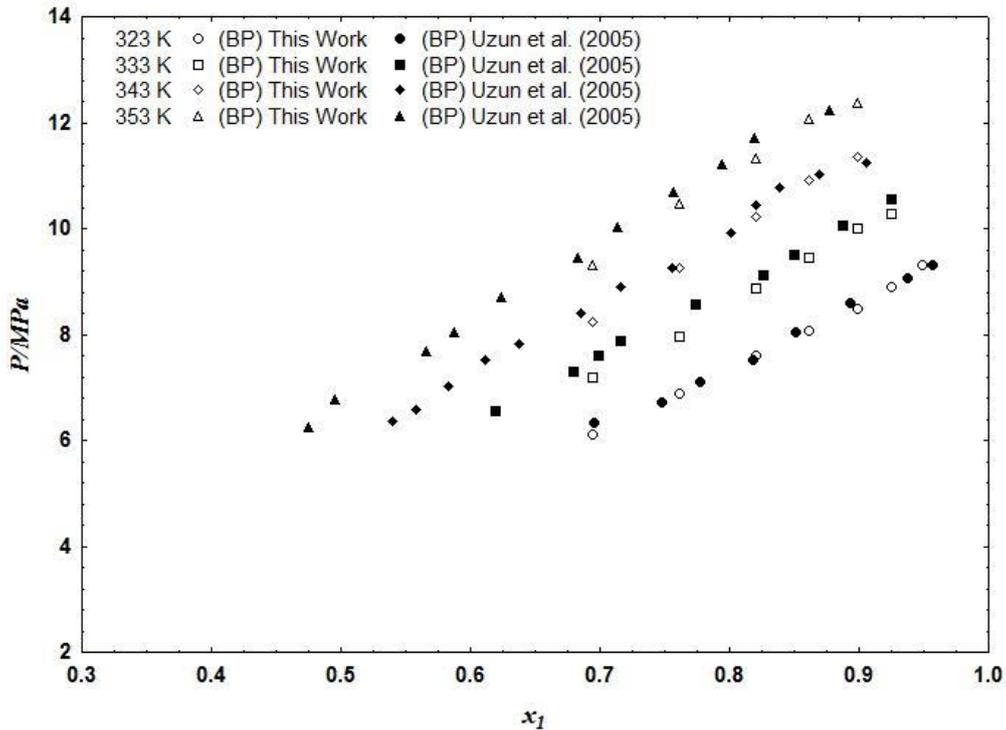
<sup>a</sup> Variable expanded uncertainties with 95% of level of confidence  $T: \pm 0.98$  K;  $P: \pm 0.10$  MPa.

The P-x diagram for the system CO<sub>2</sub> + MMA, in Figure 4.2, shows the experimental points through the pressure diagram versus the molar composition in the range of studied temperatures (323.15 to 353.15 K). For this binary system, a high miscibility of carbon dioxide in MMA was achieved with a significant volumetric expansion of liquid phase of approximately 200 %, which is in agreement with the literature [3]. According to Lora and McHugh (1999), CO<sub>2</sub> has a high solubility in MMA, probably due to the formation of a complex between the weak link of the carboxyl group in the MMA and the oxygen and carbon in CO<sub>2</sub>. Vapour-liquid phase transition (bubble point pressure) seems to exhibit a linear relationship between temperature and pressure. The dispersion polymerization of MMA in scCO<sub>2</sub> is influenced by the high miscibility of MMA which is soluble in CO<sub>2</sub> at a pressure and temperature of 12.40 MPa and 353.15 K.

However, PMMA is insoluble in CO<sub>2</sub> at pressures and temperatures greater than 2,500 bar and 528.15 K. Moreover, MMA is miscible in CO<sub>2</sub> densities above 0.460 g/cm<sup>3</sup> [40]. Therefore, in order to assure a homogeneous phase at the onset of the high-pressure polymerization of MMA in a supercritical CO<sub>2</sub> medium the experimental runs should be carried out at pressures and temperatures above 10.22, 11.23 and 11.90 MPa, and 333.15, 343.15 and 353.15 K, respectively.

Uzun et al. (2005) presented phase equilibrium data of the binary system CO<sub>2</sub> + MMA at temperatures of 323.15, 333.15, 343.15, and 353.15 K (the same as in this work) and pressures in the range of 6 to 13 MPa. They also make a comparison between the works of Lora and McHugh (1999), which used the synthetic method to study the equilibrium phase data of the binary system CO<sub>2</sub> + MMA, at temperatures of 313.15, 353.15 and 378.65 K and pressures in the range of 1 to 13.6 MPa, and the works of Zwolak et al. (2005), which used the static method at temperatures of 308.15, 313.15, 323.15, 333.15 K and pressures in the range of 1 to 8 MPa to investigate the vapour-liquid equilibrium for CO<sub>2</sub> + MMA. For higher temperatures, the values of the phase transition pressure found in the Uzun et al. (2005) works are higher than those obtained by Lora and McHugh (1999) and Zwolak et al. (2005). The presence of these significant discrepancies between the data sets occurs because the liquid and vapour phase sampling for the CO<sub>2</sub> + MMA system at high pressures was not reported in these studies. Therefore, only the data for this system reported in Uzun et al. (2005) were considered for comparison with the present work, as shown in Figure 4.3.

**Figure 4. 3:** Comparison between experimental data obtained for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) in this work with the literature [23] for the same system, at the temperature of 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K.



#### 4.2.3.2 Ternary system CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V

Experimental phase transition data for the system CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V were investigated by changing pressure at the four constant temperatures measured, 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K, which are the same isotherms as the binary system. Table 2-3 describes the values for each experimental point measured in triplicate of the phase transition in terms of pressure, and also describes the phase transition type of phase equilibrium: vapour-liquid equilibrium (VLE) with bubble point transition (BP), liquid-liquid and liquid-liquid-vapour equilibrium phase transition. Table 4.2 shows the experimental phase transition data measured for the system carbon dioxide (1) + methyl methacrylate (2) + PDMS-V (3), in + PDMS-V free-basis, at the PDMS-V to methyl methacrylate mass ratio of 1:10. Table 4.3 describes the mass fractions related to the data presented in Table 4.2.

**Table 4.2:** Phase equilibrium results for the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3)<sup>a</sup>, in PDMS-V free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10. VLE-BP denotes vapour-liquid-equilibrium, type bubble point or dew point (DP). LLE denotes liquid-liquid-equilibrium; VLLE denotes vapour-liquid-liquid equilibrium,  $T$ , system temperature,  $P$ , system pressure,  $\sigma$  is the standard deviation of the of triplicate measurements of phase transition pressure values in a individual experiment (i.e., divided by sqrt (n-1)) and  $x_1'$ , denotes the molar fraction of CO<sub>2</sub> on an PDMS-V free-basis and  $x_2'$  denotes molar fraction of MMA + PDMS-V free-basis<sup>b</sup>.

$T/K$	$P/MPa$	$\sigma/MPa$	Transition type	$T/K$	$P/MPa$	$\sigma/MPa$	Transition type
$x_1' = 0.6833$ ( $x_2' = 0.3177$ )				$w_1' = 0.8993$ ( $w_2' = 0.1007$ )			
323.15	6.29	0.02	VLE-BP	323.15	9.02	0.02	VLE-BP
333.15	7.15	0.02	VLE-BP	333.15	11.80	0.04	LLE
343.15	8.20	0.01	VLE-BP	333.15	10.12	0.05	VLLE
353.15	9.21	0.03	VLE-BP	343.15	15.00	0.07	LLE
$x_1' = 0.7470$ ( $x_2' = 0.2530$ )				343.15	11.32	0.06	VLLE
323.15	6.91	0.02	VLE-BP	353.15	17.43	0.05	LLE
333.15	7.94	0.01	VLE-BP	353.15	12.39	0.07	VLLE
343.15	9.12	0.01	VLE-BP	$x_1' = 0.9243$ ( $x_2' = 0.0757$ )			
353.15	10.33	0.02	VLE-BP	323.15	12.06	0.03	LLE
$x_1' = 0.7924$ ( $x_2' = 0.2076$ )				323.15	95.3	0.05	VLLE
323.15	7.42	0.02	VLE-BP	333.15	15.00	0.07	LLE
333.15	8.62	0.01	VLE-BP	333.15	10.32	0.08	VLLE
343.15	10.00	0.02	VLE-BP	343.15	18.07	0.08	LLE
353.15	11.34	0.04	VLE-BP	343.15	11.40	0.07	VLLE
$x_1' = 0.8243$ ( $x_2' = 0.1757$ )				353.15	21.05	0.09	LLE
323.15	7.80	0.01	VLE-BP	353.15	12.18	0.09	VLLE
333.15	9.10	0.01	VLE-BP	$x_1' = 0.9444$ ( $x_2' = 0.0556$ )			
343.15	10.55	0.02	VLE-BP	323.15	15.71	0.04	LLE
353.15	11.85	0.02	VLE-BP	323.15	9.72	0.06	VLLE
$x_1' = 0.8591$ ( $x_2' = 0.1409$ )				333.15	18.88	0.05	LLE
323.15	8.15	0.01	VLE-BP	333.15	10.25	0.05	VLLE
333.15	9.47	0.02	VLE-BP	343.15	21.95	0.06	LLE
343.15	11.11	0.03	VLE-BP	343.15	11.39	0.06	VLLE
353.15	13.20	0.05	LLE	353.15	25.18	0.05	LLE
353.15	11.80	0.06	VLLE	353.15	12.29	0.08	VLLE
$x_1' = 0.8800$ ( $x_2' = 0.1200$ )							
323.15	8.54	0.01	VLE-BP				
333.15	10.00	0.02	VLE-BP				
343.15	12.65	0.04	LLE				
343.15	11.00	0.06	VLLE				
353.15	15.23	0.07	LLE				
353.15	12.21	0.06	VLLE				

<sup>a</sup> Variable expanded uncertainties with 95% of level of confidence  $T: \pm 0.98$  K;  $P: \pm 0.10$ MPa; PDMS-V to MMA mass ratio:  $\pm 0.0311$ .

**Table 4.3:** Absolute values of composition for the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3). Mass fractions related to the data presented in Table 4.2<sup>a</sup>.

$w_1$	$w_2$	$w_3$
0.4868	0.4619	0.0513
0.5647	0.3918	0.0435
0.6266	0.3361	0.0373
0.6734	0.2939	0.0327
0.7282	0.2446	0.0272
0.7633	0.2130	0.0237
0.7970	0.1827	0.0203
0.8430	0.1413	0.0157
0.8819	0.1063	0.0118

<sup>a</sup> Variable expanded uncertainties with 95% of level of confidence,  $w_1$ ,  $w_2$  and  $w_3$ :  $\pm 0.0010$

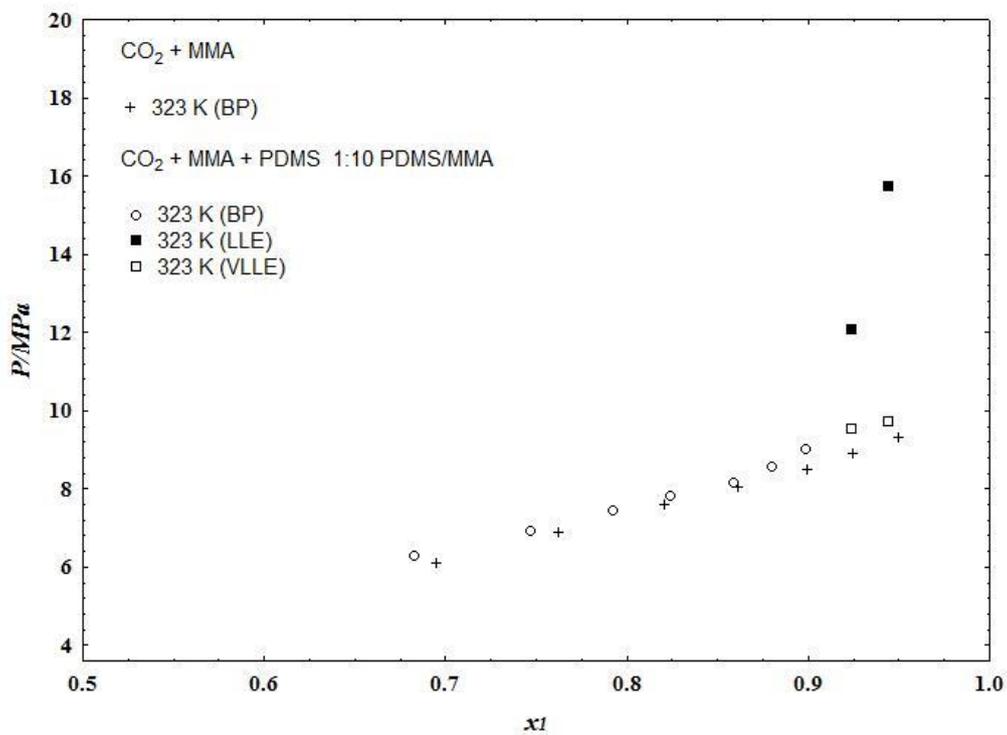
$w_1$  = absolute mass fraction for the CO<sub>2</sub>.

$w_2$  = absolute mass fraction for the MMA.

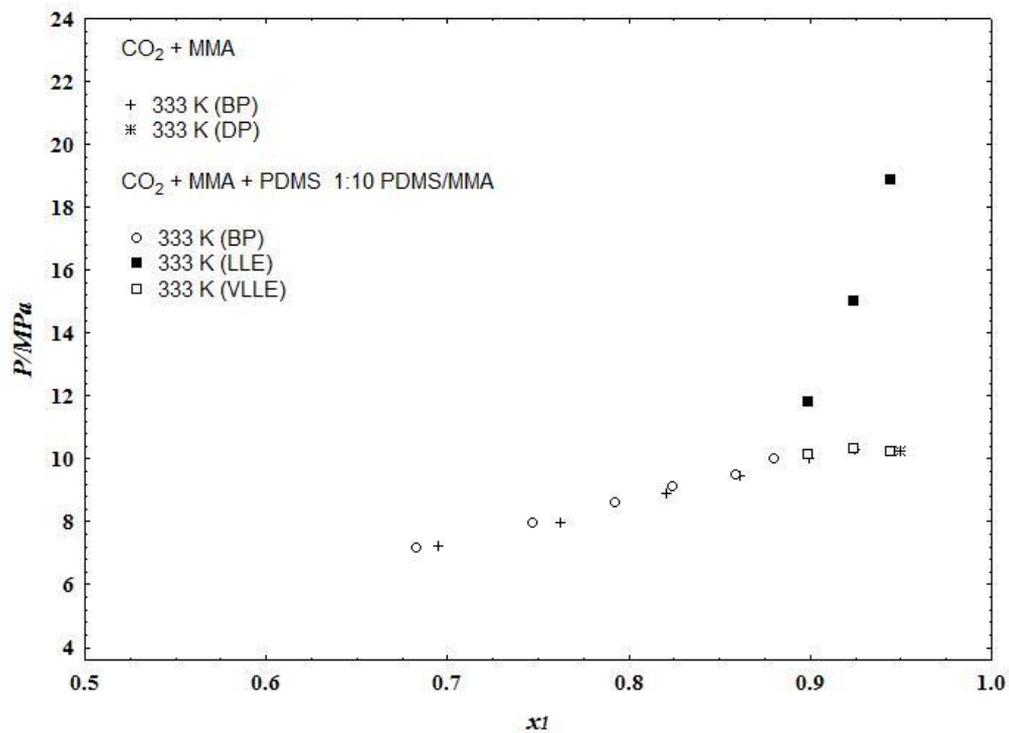
$w_3$  = absolute mass fraction for the PDMS-V.

For the isotherms at 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K as shown in figures 4.4-4.7, phase transitions of the VLE-BP type were observed until the carbon dioxide molar fractions of 0.8993, 0.8800, 0.8591 and 0.8243, respectively, which are in agreement with the CO<sub>2</sub> + MMA binary system previously studied. The transition of the LLE type phases was observed for the isotherms T = 323.15 K and 333.15 K, as shown in Figures 4 and 5, in carbon dioxide molar fractions above 0.9243 and 0.8993, respectively. While for the isotherms at 343.15 K and 353.15 K, as shown in Figures 6 and 7, LLE and VLLE phase transition were observed in carbon dioxide molar fractions above 0.8800 and 0.8591. The LLE and VLLE phase transitions were observed only in the CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V ternary system which differed from the data studied in the binary system for these isotherms.

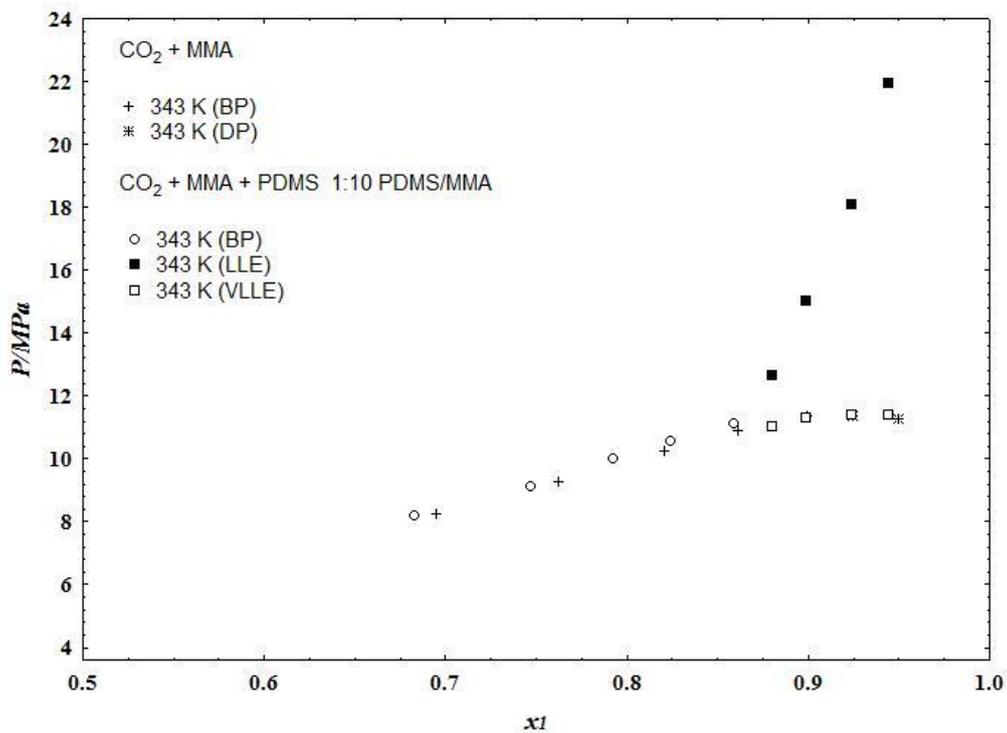
**Figure 4. 4:** Comparison between experimental data obtained for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 323.15 K.



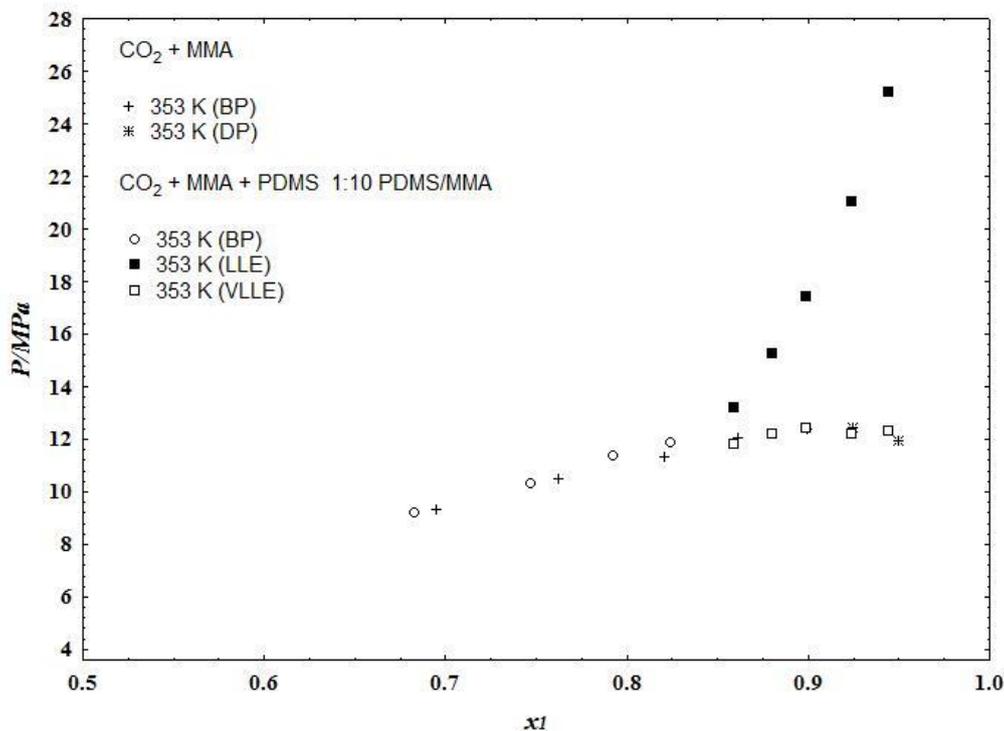
**Figure 4. 5:** Comparison between experimental data obtained for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 333.15 K.



**Figure 4. 6:** Comparison between experimental data obtained for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 343.15 K.



**Figure 4. 7:** Comparison between experimental data obtained for the binary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2), with the ternary system CO<sub>2</sub> (1) + MMA (2) + PDMS-V (3), Poly (dimethylsiloxane) vinyl terminated free-basis, at PDMS-V to MMA mass ratio of 1:10, at the temperature of 353.15 K.



The surfactant PDMS-V was added to the binary system because it is used in the polymerization process to develop stable growing chains continuously and uniform particles, with no agglomeration, making the polymerization of the MMA more stable. The effect of addition of PDMS-V on the phase behaviour of the system CO<sub>2</sub> + MMA was measured in terms of changes in the phase transition pressure of the system for each temperature. The results indicate that the addition of PDMS-V led to a small increase in the phase transition pressure and for the liquid-liquid region a large increase in the phase transition pressure of the system occurred at all temperatures. Phase separation is characterised by a solvent-rich phase (rich in carbon dioxide and monomer and poor in surfactant), which leads to an increase in pressure mixture critical points when PDMS-V is added, as expected. Indicating that MMA is a good solvent for PDMS-V. However, it was observed that in large molar fractions of CO<sub>2</sub> the solubility of PDMS-V was decreased due to the strong interaction between CO<sub>2</sub> and MMA. Therefore, it does not have MMA available in the reaction medium to solubilize the PDMS-V that decreases its solubility.

#### 4.2.4 Conclusions

High pressure phase transition is crucial for the polymerization of MMA in a supercritical fluid medium because the best choice of operating conditions can identify the adequate medium for homogeneous polymerization of MMA. This work reported new phase transition data for the systems CO<sub>2</sub> + MMA and CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V at 323.15, 333.15, 343.15 and 353.15 K and pressures in the range of 6.09 to 25.18 MPa. The addition of PDMS-V demonstrated a significant effect on the phase transition of the CO<sub>2</sub> + MMA system for larger carbon dioxide molar fractions (0.9243 and 0.9444) and for all the isotherms, observed phase transitions of type VLE, LEE and VLLE. The significant effect of the addition of PDMS-V on the phase transition of the CO<sub>2</sub> + MMA system is useful for defining operating conditions for the polymerization process of MMA and these new phase transition data for the binary system CO<sub>2</sub> + MMA are complementary to those available in the literature.

#### Acknowledgements

The authors are grateful for the financial support provided by CNPq (grant number 476403/2012-0), FAPESB and CAPES.

#### References

- [1] S. Lu, Z. Zhang, A. V. Nawaby, M. Day, A Kinetic Investigation of the in Situ Polymerization of Methyl Methacrylate Under Supercritical Fluid CO<sub>2</sub> Conditions Using High-Pressure DSC, *Journal of Applied Polymer Science*, 93, 1236-1239, 2004.
- [2] M. S. da Silva, M. Temten, S. Henriques, T. Casimiro, A. Aguiar-Ricardo, Phase behavior studies of 2-hydroxyethyl methacrylate and methyl methacrylate in high-pressure carbon dioxide, *J. Chem. Eng. Data* 52 (2007) 1970-1974.
- [3] G. Zwolak, L. Lioe, F.P. Lucien, Vapour-liquid equilibria of carbon dioxide + methyl methacrylate at 308, 313, 323, and 333 K, *Ind. Eng. Chem. Res.* 44 (2005) 1021-1026.
- [4] M. Lora, M.A. McHugh, Phase behavior and modeling of the poly methyl methacrylate–CO<sub>2</sub>–methyl methacrylate system, *Fluid Phase Equilibria* 157 (1999) 285–297.

- [5] F. Han, Y. Xue, Y. Tian, X. Zhao, L. Chen, Vapour-liquid equilibria of the carbon dioxide + acetone system at pressures from (2.36 to 11.77) MPa and temperatures from (333.15 to 393.15) K, *J. Chem. Eng. Data* 50 (2005) 36-39.
- [6] Z. Knez, E. Markocic, M. Leitgeb, M. Primožic, M.K. Hrnčić, M. Skerget, Industrial applications of supercritical fluids: A review, *Energy* 77 (2014) 235-243.
- [7] S.P. Nalawade, F. Picchioni, L.P.B.M. Janssen, Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications, *Prog. Polym. Sci.* 31 (2006) 19–43.
- [8] C.V. da Silva, V.J. Pereira, P.T.V. Rosa, E.C.M. Cabral-Albuquerque, S.A.B. Vieira de Melo, G.M.N. Costa, A.M.A. Dias, H.C. de Sousa, M.E.M. Braga, Effect of scCO<sub>2</sub> sorption capacity on the total amount of borage oil loaded by scCO<sub>2</sub> impregnation/deposition into a polyurethane-based wound dressing, *Journal Supercritical Fluids* 115 (2016) 1–9.
- [9] G. Sodeifian, N. Saadati Ardestani, S.A. Sajadian, S. Ghorbandoost, Application of supercritical carbon dioxide to extract essential oil from *Cleome coluteoides* Boiss: Experimental, response surface and grey wolf optimization methodology, *Journal Supercritical Fluids* 114 (2016) 55–63.
- [10] E. Reverchon, Supercritical antisolvent precipitation of micro and nanoparticles, *Journal supercritical Fluids* 15 (1999) 1–21.
- [11] A.J.B. McClain, D.E. Betts, D.A. Canelas, E.T. Samulski, J.M. Desimone, H.D. Cochran, G.D. Wignall, R. Triolo, Design of nonionic surfactants for supercritical carbon dioxide, *Science* 274 (20 Dec. 1996) 2049-2052.
- [12] A. K. Dillow, F. Dehghani, J.S. Hrkach, N.R. Foster, R. Langer, Bacterial inactivation by using near and supercritical carbon dioxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 10344–10348.
- [13] R.N. Davé, E. Bilgili, A. Cuitiño, L. Jallo, Special issue on pharmaceutical powders: Towards developing understanding of the influence of materials and processes on product performance, *Powder Technol* 236 (2013) 1–4.
- [14] T.K. Fahim, I.S.M. Zaidul, M.R. Abu Bakar, U.M. Salim, M.B. Awang, F. Sahena, K.C. a. Jalal, K.M. Sharif, M.H. Sohrab, Particle formation and micronization using non-conventional techniques-review, *Chem. Eng. Process. Process Intensif* 86 (2014) 47–52.
- [15] B. Yue, J. Yang, Y. Wang, C. Y. Huang, R. Dave, R. Pfeffer, Particle encapsulation with polymers via in situ polymerization in supercritical CO<sub>2</sub>, *Powder Technol* 146 (2004) 32–45.

- [16] K.M. Scholsky, Polymerization reactions at high pressure and supercritical conditions, *Journal Supercritical Fluids* 6 (1993) 103–127.
- [17] K. Gong, M. Braden, M. P. Patel, I. U. Rehman, Z. Zhang, J. A. Darr, Controlled release of chlorhexidine diacetate from a porous methacrylate system: Supercritical fluid assisted foaming and impregnation, *J. Pharm. Sci.* 96 (2007) 2048–2056.
- [18] M.P. Fernández-Ronco, J. Kluge, J. Krieg, S. Rodríguez-Rojo, B. Andreatta, R. Luginbuehl, M. Mazzotti, J. Sague, Improving the wear resistance of UHMWPE implants by in situ precipitation of hyaluronic acid using supercritical fluid technology, *Journal Supercritical Fluids* 95 (2014) 204–213.
- [19] C. Chatzidoukas, P. Pladis, C. Kiparissides, Mathematical modeling of dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide, *IEC Res.* 42 (2003) 743–751.
- [20] P.A. Mueller, G. Storti, M. Morbidelli, Detailed modelling of MMA dispersion polymerization in supercritical carbon dioxide, *Chem. Eng. Sci.* 60 (2005) 1911–1925.
- [21] P.A. Mueller, G. Storti, M. Morbidelli, The reaction locus in supercritical carbon dioxide dispersion polymerization. The case of poly (methyl methacrylate), *Chem. Eng. Sci.* 60 (2005) 377–397.
- [22] C. Lepilleur, E.J. Beckman, Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical CO<sub>2</sub>, *Macromolecules.* 30 (1997) 745–756.
- [23] J. M DeSimone, and J. S. Keiper, Surfactants and self-assembly in carbon dioxide. *Current Opinion in Solid State and Materials Science.* 5 (2001) 333–341.
- [24] M.R. Giles, R.M.T. Griffiths, A. Aguiar-Ricardo, M.M.C.G. Silva, S.M. Howdle, Fluorinated graft stabilizers for polymerization in supercritical carbon dioxide: the effect of stabilizer architecture, *Macromolecules.* 34 (2001) 20–25.
- [25] N. Baran, S. Deniz, M. Akgün, I.N. Uzun, S. Dinçer, Dispersion polymerization of styrene in supercritical carbon dioxide using monofunctional perfluoropolyether and silicone-containing fluoroacrylate stabilizers, *Eur. Polym. J.* 41 (2005) 1159–1167.
- [26] J.L.J.L. Kendall, D.A. Canelas, J.L.J.L. Young, J.M. DeSimone, Polymerizations in supercritical carbon dioxide, *Chem. Rev.* 99 (1999) 543–563.
- [27] Y.L. Hsiao, E.E. Maury, J.M. DeSimone, S. Mawson, K.P. Johnston, Dispersion polymerization of methyl methacrylate stabilized with poly (1, 1-dihydroperfluorooctyl acrylate) in supercritical carbon dioxide, *Macromolecules.* 28 (1995) 8159–8166.

- [28] G. Li, M.Z. Yates, K.P. Johnston, S.M. Howdle, In-situ investigation on the mechanism of dispersion polymerization in supercritical carbon dioxide, *Macromolecules*. 33 (2000) 4008–4014.
- [29] Acarali, N. B., Ozkan, S., Dincer, S., Production of Poly (methyl methacrylate) with Clariant Nuva HPC in Supercritical Carbon Dioxide as Enhanced Technology, *J. Chem. Soc. Pak.* 37 (2015) 18-24.
- [30] N.I. Uzun, M. Akgun, N. Baran, S. Deniz, S. Dincer, Methyl methacrylate plus carbon dioxide phase equilibria at high pressures, *J. Chem.Eng. Data* 50 (2005) 1144–1147.
- [31] A. Kordikowski, A. P. Schenk, R. M. Van Nielen, C. J. Peters, Volume expansions and vapour-liquid equilibria of binary mixtures of a variety of polar solvents and certain near-critical solvents, *Journal Supercritical Fluids* 8 (1995) 205-216.
- [32] E. Franceschi, M. B. Grings, C. Frizzo, J. V. Oliveira, C. Dariva. Phase behavior of lemon and bergamot peel oils in supercritical CO<sub>2</sub>. *Fluid Phase Equilibria*, v. 226, p. 1-8, 2004.
- [33] M.L. Corazza, L.C. Cardozo Filho, O.A. Antunes, C. Dariva. Phase behavior of the reaction medium of limonene oxidation in supercritical carbon dioxide, *Ind. Eng. Chem. Res.* 42 (2003) 3150.
- [34] C. Dariva, J.C. Pinto, J.V. Oliveira, High pressure phase equilibria for polypropylene–hydrocarbon systems, *Ind. Eng. Chem. Res.* 39 (2000) 4627.
- [35] J.P. Bender, M. Feitein, E. Franceschi, M.L. Corazza, J.V. Oliveira, *J. Chem. Thermodyn.* 42 (2010) 48–53.
- [36] L.F. Pinto, D.I.S. Silva, F.R. Silva, L.P. Ramos, P.M. Ndiaye, M.L. Corazza, *J. Chem. Thermodyn.* 44 (2012) 57–65.
- [37] J.P. Bender, M. Feitein, M.A. Mazutti, E. Franceschi, M.L. Corazza, J.V. Oliveira, *J. Chem. Thermodyn.* 42 (2010) 229–233.
- [38] G.R. Stuart, C. Dariva, J.V. Oliveira, *Braz. J. Chem. Eng.* 17 (2000) 181–189.
- [39] G.R. Borges, A. Junges, E. Franceschi, F.C. Corazza, M.L. Corazza, J.V. Oliveira, C. Dariva, *J. Chem. Eng. Data* 52 (2007) 1437–1441.
- [40] S. H. Han, K. K. Par, S. H. Lee, Polymerization of methyl methacrylate in carbon dioxide using glycidyl methacrylate linked reactive stabilizer: effect of pressure reaction time and mixing, *Macromol. Res.* 17 (2009) 51–57.

### **4.3 – POLIMERIZAÇÃO POR DISPERSÃO DE METACRILATO DE METILA EM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO: UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA INCORPORAÇÃO *IN SITU* DO ÓLEO DE COPAÍBA**

O conteúdo dessa seção corresponde na íntegra ao conteúdo do seguinte artigo: SANTOS, T. M. M.; CHAVES, B. B.; CERQUEIRA, J. S.; CANÁRIO, M. M.; BRESOLIN, D.; PINTO, J. C.; MACHADO, R. A. F.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.C.M; VIEIRA DE MELO, S. A. B. Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical CO<sub>2</sub>: A preliminar evaluation of in-situ incorporation of copaiba oil. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, p. 9398-9407, 2020.

## DISPERSION POLYMERIZATION OF METHYL METHACRYLATE IN SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub>: A PRELIMINARY EVALUATION OF IN SITU INCORPORATION OF COPAIBA OIL

### Abstract

*In situ* dispersion polymerization of methyl methacrylate (MMA) in the presence of supercritical CO<sub>2</sub> is investigated as an alternative technique to load copaiba (*Copaifera spp.*) oil in poly(methyl methacrylate) (PMMA) particles. The dispersing agent was vinyl-terminated poly (dimethyl siloxane) and the initiator was benzoyl peroxide. All reactions were carried out at 80 °C for 4 h under pressures ranging from 16 to 18 MPa. PMMA microparticles were characterized by gel permeation chromatography, scanning electron microscopy, gas chromatography, dynamic light scattering, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Proton Nuclear Magnetic Resonance. The obtained results indicate that spherical PMMA particles containing up to 5% w/w copaiba oil can be prepared in the reaction conditions applied in this work. Copaiba oil consists of sesquiterpenes, diterpenes, and flavonoids, which are responsible for its anti-inflammatory, antibacterial and anticancer properties, mainly due to the presence of trans-β-caryophyllene. A preliminary evaluation shows that *in situ* incorporation of copaiba oil into PMMA particles through dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical CO<sub>2</sub> is promising and maybe of great interest in the pharmaceutical industry.

**Keywords:** Supercritical carbon dioxide, dispersion polymerization, methyl methacrylate, poly(methyl methacrylate), copaiba oil.

### 4.3.1 Introduction

Polymer particles have attracted significant attention from researchers because of their many therapeutic uses and excellent stability in biological fluids and in storage<sup>1-3</sup>. They are usually prepared in heterogeneous aqueous media at low pressures, normally requiring an additional drying step<sup>4-7</sup>. From an industrial point of view, it is essential to reduce the number of steps in commercial production processes in order to make the process cleaner and more profitable. For this reason, attempts have been made to successfully produce polymer particles using high pressures, particularly in supercritical CO<sub>2</sub> (scCO<sub>2</sub>) media<sup>8</sup>. Supercritical fluid technology can also be used to produce particles

with narrower size distributions and there is very little solvent residue, which makes the final drying step often unnecessary<sup>9, 10</sup>.

Supercritical carbon dioxide has been frequently used as a solvent in different polymerization processes because of its lower environmental impact (when compared to other common organic solvents)<sup>8</sup>. It is non-flammable and has non-toxic characteristics and a lower cost. Furthermore, it exhibits moderate critical conditions ( $T_c = 304.15$  K and  $P_c = 7.38$  MPa)<sup>11, 12</sup>. Dispersion polymerization constitutes important industrial processes and is one of the methods that has been studied for the synthesis of polymers in  $scCO_2$ <sup>13-14</sup>. However, the dispersion polymerization of vinyl monomers in supercritical  $CO_2$  faces some technical issues that must be addressed prior to commercial scale production. For instance, the proposed operation must ensure the onset of homogeneous polymerization conditions at the beginning of the reaction trajectory, as the monomer, initiator, surfactant, drug (when drug encapsulation is pursued) and  $CO_2$  should initially form a single-phase mixture. Afterwards, as the polymerization advances, the polymer material should become insoluble in the reaction medium and should precipitate as a solid powder (that should also contain the drug to be encapsulated)<sup>12</sup>. For this reason, both the reaction components and the operation conditions must be carefully selected. Some works have reported the use of fluorocarbon, i.e. poly (1,1-dihydroperfluorooctyl acrylate) [poly(FOA)], and siloxane i.e. poly(dimethylsiloxane), PDMS based homopolymers, macromonomers, and copolymers, which are employed successfully as polymeric surfactants in free-radical dispersion polymerization of methyl methacrylate (MMA), styrene, and other soluble monomers in  $scCO_2$ <sup>15-17</sup>.

Polymer particles, such as PMMA, have been widely used as vehicles for drug encapsulation and the manufacture of pharmaceuticals, including the encapsulation of anti-inflammatory drugs<sup>18, 19</sup>, antimicrobial<sup>20</sup> and vaccines<sup>21</sup>, and also applied as bone cement<sup>2</sup> and fillers for cosmetic surgery<sup>22</sup>. PMMA particles can be administered by different routes, such as oral, topical and parenteral. The particle size affects directly the application of the system. Particles with diameters ranging 1 - 5  $\mu m$  have the best pulmonary performance, while particles with diameters varying from 20 to 100  $\mu m$  are desirable for oral applications. Particles with an average size of approximately 0.1  $\mu m$  are indicated for skin (transdermal) and scaffold application<sup>23</sup>. For example, nanoparticles below 20 nm have the power to pass through blood vessels and circulate through the body. The microspheres, from 1 to 80  $\mu m$ , have been applied as a facial filler to increase soft tissue in aesthetic treatments<sup>22, 23, 24</sup>. The encapsulation of herbal medicines has also

awakened increasing interest in the academic and industrial fields, for example, the use of copaiba oil for medicinal purposes<sup>25-27</sup>.

The industrial use of copaiba oil is very promising because of its anti-inflammatory, antibacterial, anticancer and skincare properties<sup>28-30</sup>. The copaiba (*Copaifera ssp.*) tree is found in America, mainly in Brazil (Amazon forest, Atlantic forest and Cerrado) and in some countries of Africa (Congo, Cameroon, Guinea and Angola). Its resin-oil is composed of a mixture of sesquiterpenes (volatile fraction) and diterpenes (non-volatile fraction), in which trans- $\beta$ -caryophyllene and  $\alpha$ -copaene are the main constituents of the copaiba resin-oil volatile fraction. It is interesting to observe that many of these compounds have been already used for the preparation of medicines intended for oral and topical use<sup>31-33</sup>. For this reason, researchers have attempted to incorporate copaiba oil into polymer matrices, mostly to improve the therapeutic efficacy of copaiba oil in oral applications<sup>34,35</sup>.

Several studies have shown that copaiba oil is widely used as an active ingredient to treat a variety of diseases, and it is sufficiently versatile to be incorporated with different types of polymers. A recent application was reported by de Almeida Borges et al., where poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) was successfully used for the nanoencapsulation of copaiba oil and the nanoparticle system was used to treat endometriosis, which is a common disease characterized by the presence of the endometrial tissue outside the uterine cavity. The nanoparticles provided high encapsulation efficiencies of copaiba oil and showed an expressive reduction in the viability of endometrial cells, indicating high therapeutic potential in the treatment of endometriosis<sup>36</sup>. According to Xavier-Junior et al., another type of polymer that can be used to encapsulate copaiba oil is poly (isobutylcyanoacrylate), which is a biodegradable polymer with the capacity to generate nanocapsules resistant to the gastric medium. Copaiba oil was efficiently encapsulated in the poly (isobutylcyanoacrylate) nanocapsules, which showed that it is suitable to serve as a carrier system for lipophilic anticancer drugs by oral administration<sup>34</sup>.

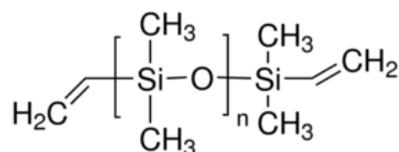
PDMS-based surfactants present relatively high solubility in non-polar solvents, which makes them suitable stabilizers for scCO<sub>2</sub> dispersion polymerizations. In this case, an important process parameter is the surfactant to monomer ratio (SMR), which affects the polymer particle size and morphology<sup>11, 37-39</sup>.

The appropriate selection of the initiator is very important in dispersion polymerization as the reaction can occur simultaneously in the scCO<sub>2</sub> solution and inside

the precipitated polymer particles, significantly affecting the molecular weight distribution of the polymer<sup>40-42</sup>. Usually, two free-radical initiators have been used more frequently to perform scCO<sub>2</sub> dispersion polymerization of MMA: 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN) and benzoyl peroxide (BPO). The use of AIBN can provide good monomer conversions and narrow particle size distributions in the presence of PDMS-based surfactants<sup>40-42</sup>, although the use of BPO has been encouraged because it can be easily found, is cheaper and does not require additional purification steps at the polymerization site (while AIBN must be normally recrystallized prior to use).

Based on this, in the present work the dispersion polymerization of MMA in scCO<sub>2</sub> was investigated using BPO as the initiator and vinyl-terminated poly(dimethylsiloxane) (PDMS-V) as the surfactant. Experimental conditions were based on previous investigations reported by Oliveira et al., who studied the effect of the surfactant's concentration on scCO<sub>2</sub> MMA dispersion polymerizations using AIBN as the initiator. The authors were able to produce polymer particles with average diameters ranging from 11.6 to 72.3 μm<sup>42</sup>. To the best of our knowledge this is the first work that reports the use of BPO as the initiator and PDMS-V as the surfactant for MMA dispersion polymerizations performed in scCO<sub>2</sub><sup>17, 40, 43-46</sup>. Despite the inherent differences between AIBN and BPO (AIBN decomposes faster than BPO), the kinetics of the free radical initiation reaction in scCO<sub>2</sub> with both initiators are expected to be similar<sup>37-42, 46, 47</sup>.

The effects of operation conditions on the reaction kinetics and phase behavior of scCO<sub>2</sub>+monomer+surfactant systems are important for dispersion polymerizations performed in supercritical media and these were previously characterized to ensure the adequacy of the proposed experimental trials<sup>48</sup>. However, in the present work copaiba oil was added to the reacting mixture in order to investigate the *in situ* loading of the essential oil into PMMA microparticles through scCO<sub>2</sub> dispersion polymerizations of MMA. Furthermore, the effects of the surfactant concentration (PDMS-V, Figure 4.8) on the properties of the obtained polymer particles were investigated in the presence of BPO and copaiba oil. In order to ensure the existence of a single phase at the beginning of the polymerization, the pressure range of 16 - 18 MPa at 353.15 K was selected, in accordance with previous high-pressure phase equilibrium studies of the binary system CO<sub>2</sub>-MMA and of the ternary system CO<sub>2</sub>-MMA-PDMS<sup>48-53</sup>.

**Figure 4. 8:** Schematic representation of the chemical PDMS-V structure.

### 4.3.2 Materials and Methods

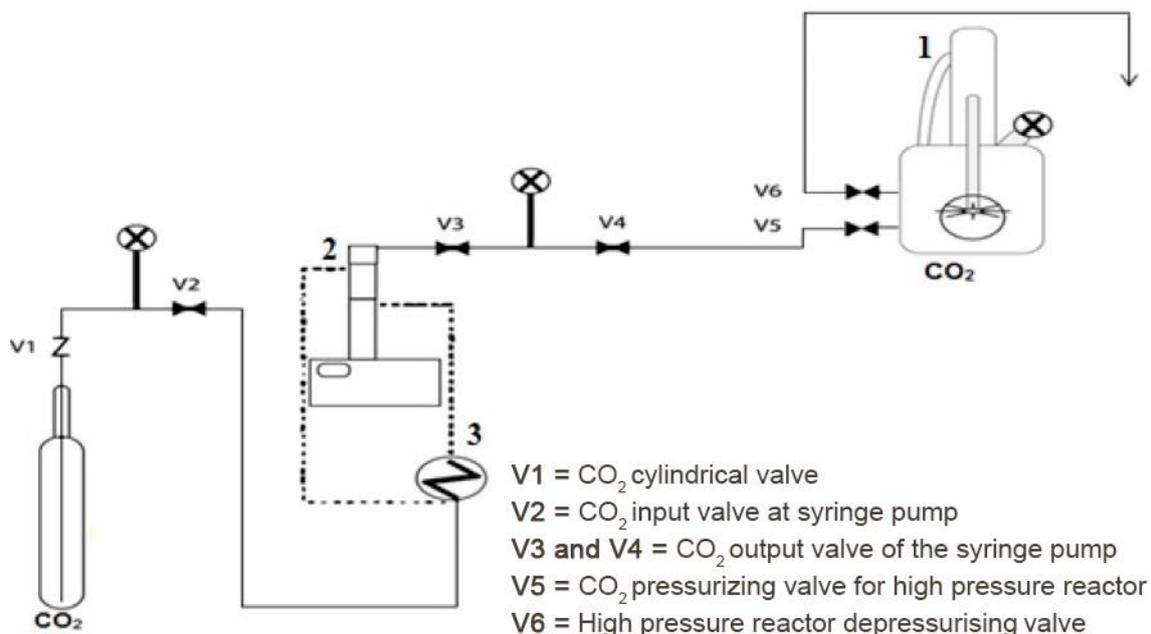
#### 4.3.2.1 Materials

The monomer, methyl methacrylate (MMA) (minimum purity of 99.5%), and vinylterminated poly (dimethyl siloxane) (PDMS-V) (minimum purity of 99%), used as the surfactant, were purchased from Sigma-Aldrich (Brazil). Benzoyl peroxide (BPO) (minimum purity of 95%), used as the free-radical initiator, was purchased from Contemporary Chemical Dynamics (Brazil). Carbon dioxide (minimum purity of 99.99%) was purchased from White Martins (Brazil). Copaiba oil (mechanically extracted from the copaiba tree, without the use of solvents) was donated by the Laboratory of Medical Matters Research (LAPEMM) of the Federal University of Bahia (UFBA)<sup>27</sup>. Tetrahydrofuran (THF) (minimum purity of 99.99%) and acetone (minimum purity of 99.99%) were purchased from Sigma-Aldrich (Germany). All the chemicals were used as received.

#### 4.3.2.2 Dispersion Polymerization reactions

Experimental runs for dispersion polymerization of MMA in scCO<sub>2</sub> were performed in a high-pressure jacketed stainless-steel reactor (Waters, Pittsburgh, USA), with an internal volume of 250 mL. The reactor was equipped with a sapphire window that allowed the visual observation of the reaction medium. The reaction temperature was measured with a thermocouple located inside the reactor. The mixture was stirred using a magnetic stirrer coupled to the reactor (approximately 900 rpm). This apparatus can be safely operated up to 40 MPa and 423.15 K ( $\pm 0.01$  MPa and  $\pm 0.1$  K, respectively). CO<sub>2</sub> was supplied to the reactor by a Teledyne-ISCO syringe pump (model 260D, Lincoln, USA), previously cooled to 278.15 K in a thermostatic bath. Figure 4.9 illustrates the high-pressure dispersion polymerization unit composed of a high-pressure reactor, a syringe pump and a thermostatic bath.

**Figure 4. 9:** High-pressure dispersion polymerization bench scale unit: 1) high-pressure jacketed stainless-steel reactor, 2) syringe pump and 3) thermostatic bath.



Dispersion polymerizations of MMA in scCO<sub>2</sub> were performed in the presence and absence of copaiba oil. In a typical experimental run without copaiba oil, the monomer, initiator, and surfactant were fed to the high-pressure reactor previously evacuated using the same feed line. In the presence of copaiba oil, the reagents (monomer, initiator and surfactant) and copaiba oil were introduced into the high-pressure reactor in a similar way. Both experimental runs (with and without copaiba oil) were carried out at 308.15 K. After closing the reactor, the system was gradually pressurized by CO<sub>2</sub> until reaching a pressure of approximately 6.5 MPa. Then the reactor was heated and, additional amounts of CO<sub>2</sub> were slowly added to keep the system at the desired temperature and pressure (16-18 MPa and 353.15 K,  $\rho_{\text{CO}_2} = 470 \text{ g/L}$ ). After sealing the reactor, the polymerization was carried out for 4 h. After polymerization, the reactor was cooled and completely depressurized to ambient conditions, and the product (solid material) was recovered. Additionally, this solid polymeric material was washed with n-hexane for removal of the stabilizing agent (PDMS, vinyl terminated) residue, vacuum-filtered, and dried at ambient temperature. All the experiments were performed in triplicate.

### **4.3.3 Characterization**

#### **4.3.3.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)**

The morphology of the obtained PMMA particles was investigated through scanning electron microscopy (SEM), using a Tescan microscope equipped with a heated tungsten cathode (VEGA3 series, Libušina, CZE). Samples were initially placed on carbon double-sided tape and then coated with a Au layer under argon for 300 s at a decomposition rate of 5nm/min in a sputtering device (QUORUM model Q150R ES, East Sussex, UK). Analyses were performed in the wide field mode with an acceleration voltage of 5.0 kV.

#### **4.3.3.2 Gel Permeation Chromatography (GPC)**

GPC analyses were performed at 308.15K with solutions prepared with 0.15 mg of dried polymer samples and 3mL of THF, at a flow rate of 0.5 mL/min and a pressure of 17.24bar. Polymer solutions were filtered with Teflon membranes with a pore size of 0.45  $\mu\text{m}$ . The injection volumes were equal to 300  $\mu\text{L}$ . GPC analyses were carried out on a Viscotek chromatograph, model VE2001 (São Paulo, Brazil), equipped with 4 Phenomenex columns with pores of 500,  $10^3$ ,  $10^5$  and  $10^6$  Å and a Viscotek refractometric detector, model VE3580, to determine the molar masses. Calibration was performed with polystyrene standards with average molar masses ranging from 500 to  $1.0 \times 10^6$  Da.

#### **4.3.3.3 Gas Chromatography (GC)**

The presence of the residual monomer was determined with a gas chromatograph (GC), model 6890N, supplied by Agilent (Santa Clara, USA). Samples were solubilized in acetone. The residual MMA content was determined with a calibration curve prepared with solutions of known concentrations. Once solubilized, samples were dried in a forced air circulation-drying oven (De Leo) at 333.15K.

#### 4.3.3.4 Dynamic Light Scattering (DLS)

Dynamic light scattering (DLS) analyses were performed with a CILAS 1190L (Madison, USA) particle size analyzer, equipped with three laser sources and a collimated laser operating in the range of 0.04 to 2500.00 $\mu\text{m}$ . Evaluation of particle sizes and shapes was performed with proprietary software provided by the manufacturer of the DLS equipment. Samples were analyzed in liquid aqueous dispersions prepared with approximately 1% w/w surfactant sodium lauryl sulfate (SLS).

#### 4.3.3.5 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analyses were performed with a Shimadzu FTIR, model IR Prestige-21 (Kyoto, Japan), in the wavelength range of 4000 to 400 $\text{cm}^{-1}$ , in order to identify the chemical composition of the polymer chains and evaluate the incorporation in the copaiba oil in the PMMA particles. In addition, PMMA samples were prepared with potassium bromide (KBr) and evaluated in transmission operation mode. FTIR spectra were recorded as averages of 32 scans with a resolution of 4 $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.3.3.6 Proton Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$ NMR)

Proton nuclear magnetic resonance spectra ( $^1\text{H}$  NMR) were recorded on a Varian Gemini 500 MHz ( $^1\text{H}$ : 500MHz and  $^{13}\text{C}$ : 125MHz) and a Bruker DRX400 UltraShield ( $^1\text{H}$ : 400MHz and  $^{13}\text{C}$ : 100MHz). All samples were dissolved in deuterated chloroform ( $\text{CDCl}_3$ ).

#### 4.3.4 Encapsulation Efficiency

The amount of oil at the particle surface was assessed through the method described elsewhere<sup>55, 55</sup>. To perform the extraction tests, 20 mL of ethanol (Neon, P.A.) were added to 0.1g of PMMA particles loaded with copaiba oil. To extract the oil from the PMMA particles surface, the mixture was manually stirred for 2 min at room temperature. Afterward, the mixture was leaked in a microfilter (1.4  $\mu\text{m}$ ). The retained powder was subsequently washed with 20mL of ethanol (three cycles). This methodology

was implemented because the PMMA particles are ethanol insoluble, and therefore, the encapsulated oil remains protected within the particles, allowing just the external oil to be dragged by the solvent. The solvent was removed by evaporation and non-encapsulated oil (surface oil) was calculated according to eq. 1.

$$EE (\%) = \frac{(oil_{total} - oil_{surface})}{oil_{total}} \times 100 \quad (1)$$

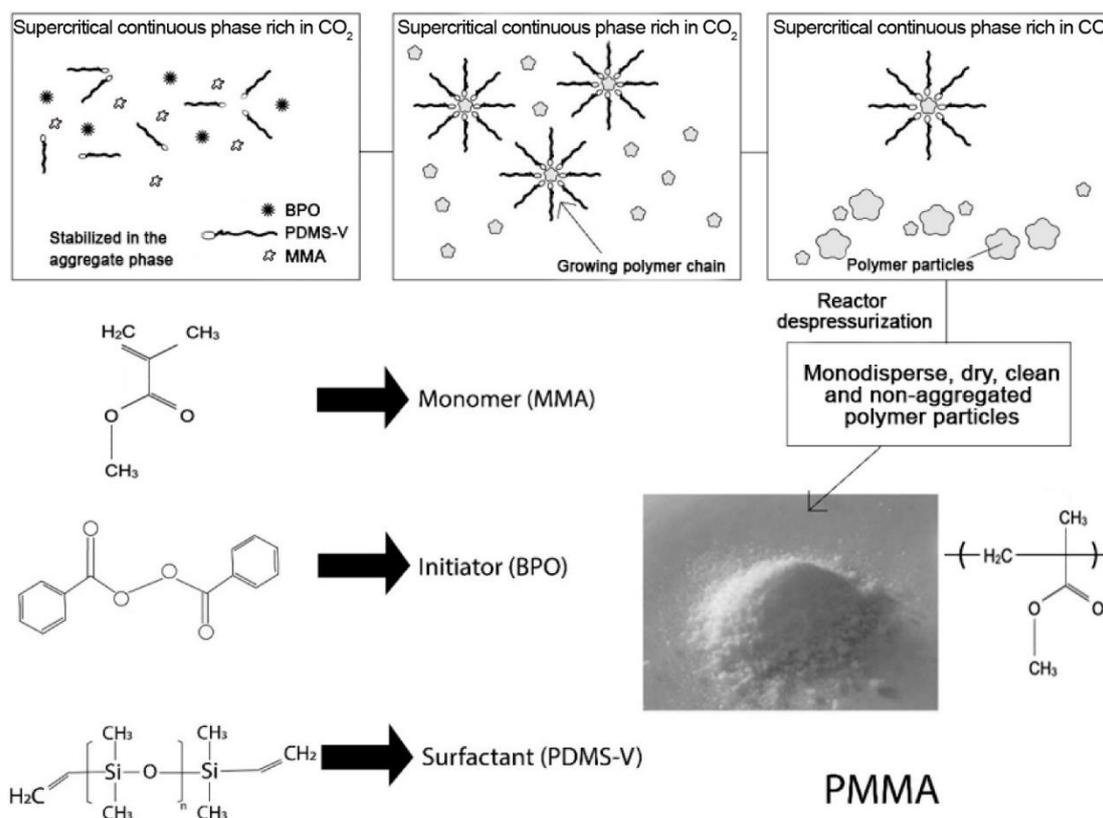
where EE is the encapsulation efficiency,  $oil_t$  is the oil total mass used to prepare the emulsion (g) and  $Oil_s$  is the mass of oil extracted from the particles (g).

#### 4.3.5 Results and Discussion

The experimental conditions are summarized in Table 4.4. All mixtures were homogeneous when the reactions were initiated. As time evolved, the reaction media became heterogeneous due to precipitation of the white solid polymer powder. Figure 4.10 provides the schematic representation of the dispersion polymerization performed in the supercritical medium. All the reactions were performed in triplicate.

**Table 4. 4:** Variable levels of the performed scCO<sub>2</sub> MMA dispersion polymerization.

	Monomer (MMA)= 10% w/w, 12.5% w/w and 15% w/w, ratio to the total system mass;
	$\rho_{MMA}$ = 940 g/l (80 °C)
<b>Formulation</b>	Initiator (BPO)= 2% w/w, ratio to the monomer mass
	Stabilizer (PDMS vinyl)= 5.4% w/w, 7% w/w and 10% w/w, ratio to the monomer mass
	Copaiba Oil= 5% w/w, ratio to the monomer mass

**Figure 4. 10:** Schematic representation of the scCO<sub>2</sub> dispersion polymerization mechanism.

#### 4.3.5.1 The Effect of PDMS-V Concentration

Initially, the concentrations of the monomer and initiator were kept constant and equal to 10% w/w in relation to the total mass and 2% w/w in relation to the monomer. Then, the effect of the SMR (5.4, 7 and 10% w/w) on the average particle diameter was investigated. Samples containing the 5.4% w/w surfactant (Figure S1) were not analyzed because they presented low conversion (about 40%), unable to obtain the powder sample as in the other samples with surfactant concentrations (7 and 10% w/w). The SEM micrographs obtained showed that polymer particles exhibited the characteristic spherical shape and have a heterogeneous population, as shown in Figure 4.11. The results on particle size distribution were obtained by DLS of PMMA particles with 7 and 10% w/w PDMS-V. Average diameters ranged from 34.0 to 40.1  $\mu\text{m}$ , when the 7% w/w surfactant (Figure S2) was used, and from 28.6 to 34.1  $\mu\text{m}$ , when the 10% w/w surfactant (Figure S3) was used, clearly indicating the negative effect of the SMR on the average particle sizes, as expected. In most cases, the residual MMA contents of the obtained polymer particles were lower than 3%, indicating the very high conversion levels achieved<sup>42, 51</sup>.

The presence of impurities, residual monomer, initiator, and water in PMMA can strongly affect the biomedical applications as they are harmful to health. However, an alternative to remove the residual monomer (MMA) is flushing PMMA with  $scCO_2$ , which leads to the polymer swelling and facilitates the elimination of toxic contaminants<sup>56, 57</sup>. Average sizes and residual monomer contents of obtained PPMA particles are shown in Table S1.

**Figure 4. 11:** SEM micrographs of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 7% w/w (a, b, c) and PDMS-V=10% w/w (d, e, f), ratio to the monomer mass.

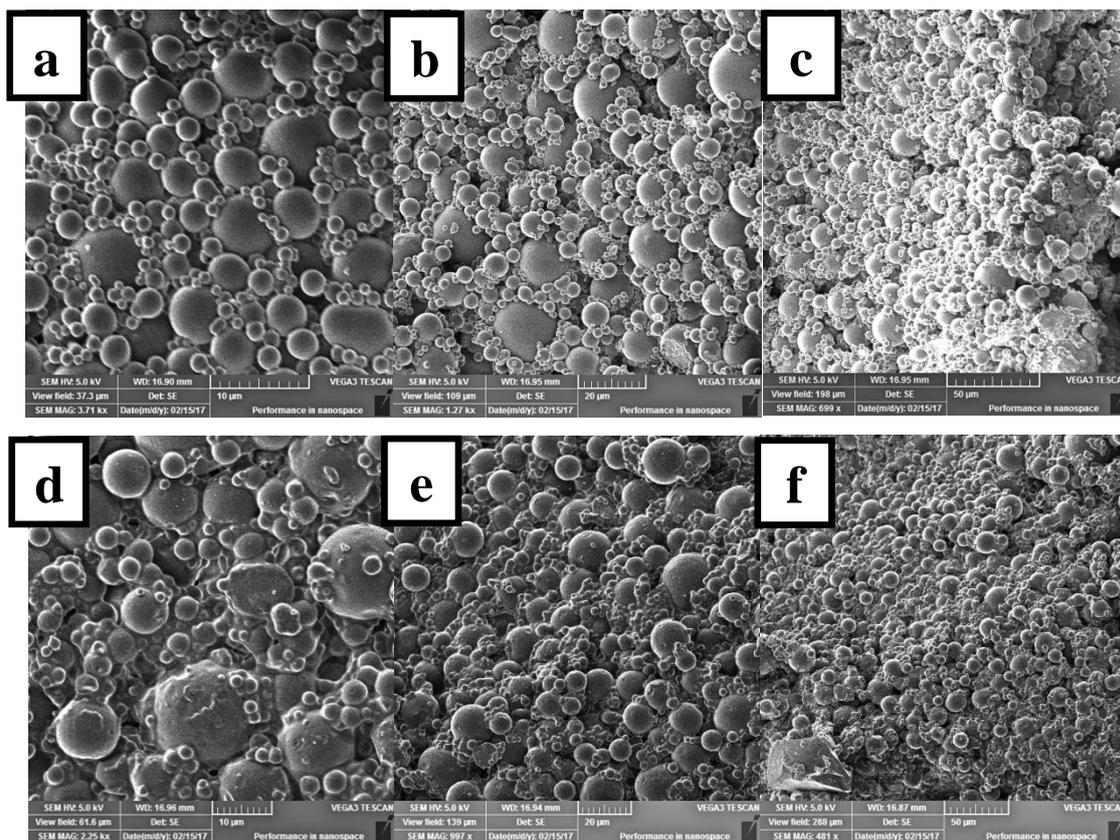


Table 4.5 shows the molar masses of the polymers obtained. High average molar masses were observed in both analyzed SMR conditions, although some of the ( $\bar{M}$ ) values indicate the production of broad molar mass distributions, the particle size distributions presented polydispersity's  $\bar{M}$  ranging from 1.47 to 3.69. Furthermore, the variability of the average molar masses was high in both cases. **Wang and Cheung<sup>44</sup> reported that unavoidable fluctuations in temperature and pressure during  $scCO_2$  MMA dispersion polymerizations can significantly affect the growth of the polymer chains and the precipitation of the polymer powder, which can explain the molecular mass heterogeneity** For instance, according to Han et al<sup>53</sup>, the growing PMMA chains are

more soluble under high pressure because positive fluctuations in the reactor pressure can cause a delay in the precipitation of the polymer and modify the molar mass distributions. Similar results have been reported in other supercritical dispersion polymerization studies<sup>42, 58, 59</sup>. Nevertheless, in all cases the average molar masses were sufficiently high to provide mechanically and chemically stable polymer materials, suitable for use as vehicles for the encapsulation of drugs, encouraging the in situ encapsulation of copaiba oil.

**Table 4. 5:** Average molar masses of obtained PMMA particles.

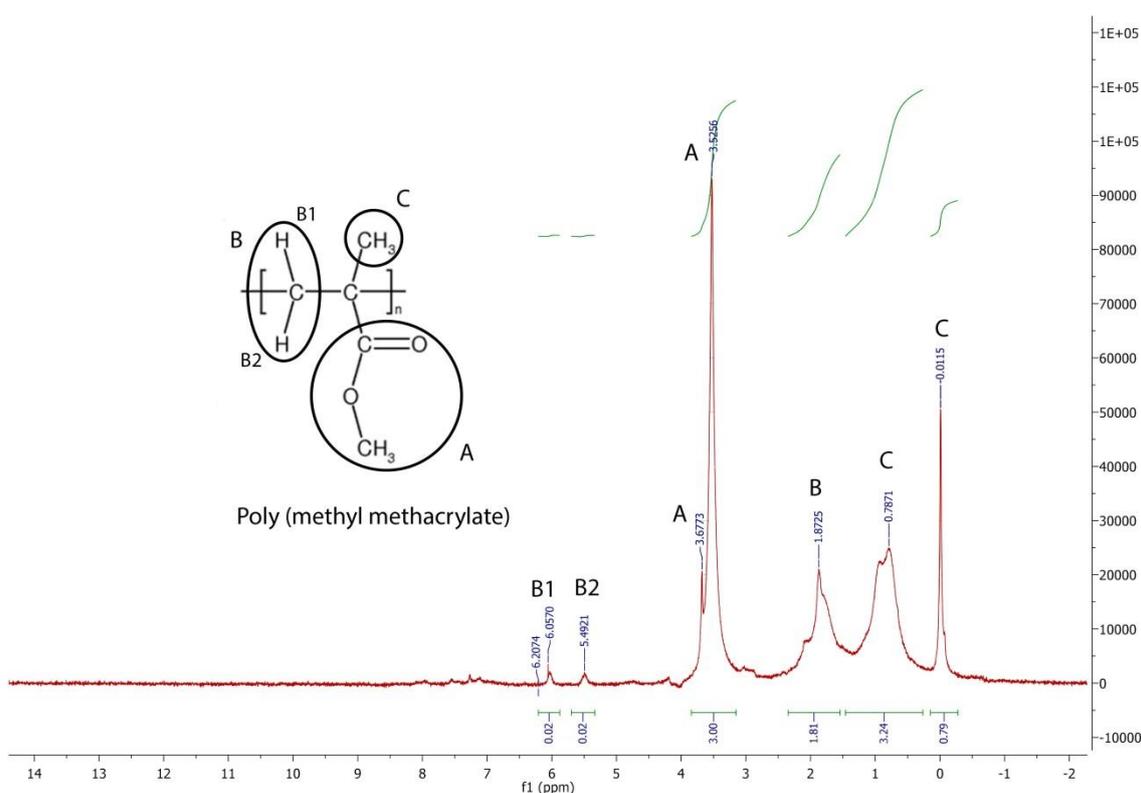
Reactions	% Stabilizer	$M_n \times 10^3$ (g/gmol)	$M_w \times 10^3$ (g/gmol)	$\bar{D}$ ( $M_w/M_n$ )
1	7	90.4	334.1	3.7
2	7	61.7	114.5	1.8
3	7	89.5	220.1	2.5
4	10	59.6	112.3	1.9
5	10	21.4	182.1	8.6
6	10	34.9	51.5	1.5

The proton nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H NMR) analysis of PMMA samples, as shown in Table S2, was performed to check the presence of the residual monomer (MMA), as well as side reactions and the formation of a copolymer between PMMA and PDMS-V, and the efficiency of the MMA dispersion polymerization process in scCO<sub>2</sub>. The <sup>1</sup>H NMR spectrum presents five different chemical displacement peaks corresponding to non equivalent hydrogen atoms and this can also be seen in Table S2. The peaks related to the displacement of vinyl protons (B1 and B2), the peaks referring to methylene hydrogens (B) and the two different peaks related to methylene hydrogens, are in different chemical environments. Due to the different positions of the methylene and methylene hydrogens, it is possible to state that the polymer has different configurations. The minor peaks, however, may occur due to the presence of a small fraction of residual monomer in the polymer particles obtained.

PDMS-V is expected to behave as a surfactant in the reaction between the monomer, initiator, and scCO<sub>2</sub> to obtain PMMA particles. Undesirable side reactions may occur between the surfactant and the free radical growing chains, although they are not desired. The results obtained by <sup>1</sup>H NMR analysis, as shown in Figure 4.12, demonstrate that PMMA particles were the majority compound obtained at the end of the dispersion polymerization in scCO<sub>2</sub>, and it is not possible to verify peaks that reveal the

incorporation of the surfactant in the polymer chain<sup>60-63</sup>. Although the results obtained by <sup>1</sup>H NMR analysis are not the ideal technique, it was not possible to verify the occurrence of secondary reactions and the formation of a copolymer between MMA and PDMS-V. The effect of PDMS-V as a stabilizing agent on the reaction was observed, and its use for dispersion polymerization reactions of MMA in scCO<sub>2</sub> is of interest.

**Figure 4. 12:** <sup>1</sup>H NMR analysis of PMMA particles produced with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass, synthesized by dispersion polymerization in scCO<sub>2</sub>.

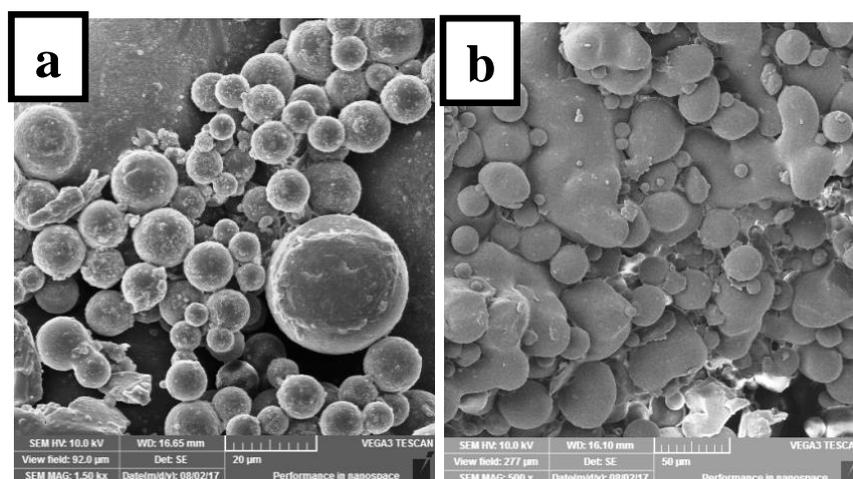


#### 4.3.5.2 The Effect of MMA Concentration

A different strategy was adopted to investigate the effect of the monomer concentration (10, 12.5 and 15% w/w) on the average size and morphology of PMMA particles. In all reactions, surfactant and initiator concentrations were kept constant and equal to 10% w/w PDMS-V and 2% w/w BPO. Figure 4.13 shows the SEM micrographs of the final PMMA particles, which exhibit the characteristic spherical shape and have a heterogeneous population. Average particle diameters varied from 28.6 to 34.1  $\mu\text{m}$ , with

the 10% w/w monomer (Figure S4), from 42.5 to 48.4  $\mu\text{m}$ , with the 12.5% w/w of monomer (Figure S5), and from 41.2 to 44.1  $\mu\text{m}$ , with the 15% w/w monomer, as shown in Table S3. This indicates that the average diameter decreased with the increase of initial monomer concentration, suggesting the formation of a relatively higher number of nucleation sites or a reduction in the rates of particle coalescence. This is due to the modification of the solvency of the reacting medium as the monomer behaves as a co solvent for the polymer, as discussed in the literature<sup>41</sup>.

**Figure 4. 13:** SEM micrographs of PMMA particles produced with MMA= 12.5% w/w (a) and MMA= 15% w/w (b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass.

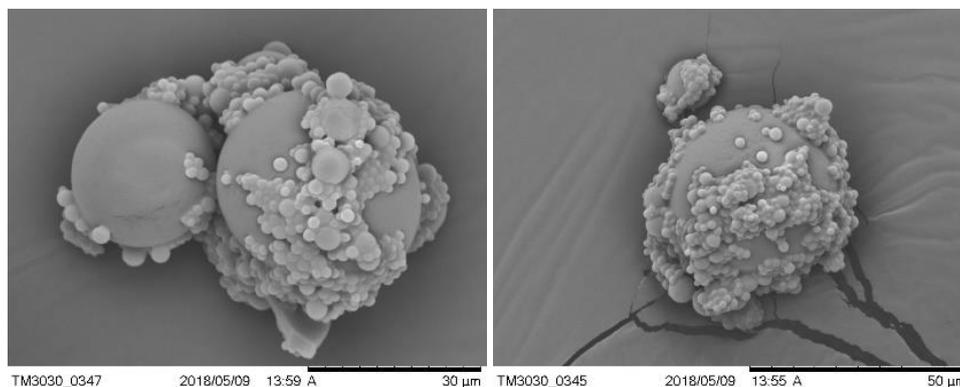


#### 4.3.5.3 In situ Encapsulation of Copaiba Oil through $\text{scCO}_2$ MMA Dispersion Polymerization

In all the experimental runs for the encapsulation of copaiba oil, the copaiba oil to monomer mass ratio was 5% w/w. The concentrations of the surfactant, initiator and monomer were kept constant and equal to 10% w/w of PDMS-V in relation to the monomer, 2% w/w BPO in relation to the monomer and, 10% w/w MMA in relation to the total mass. Figure 4.14 shows the SEM micrographs of PMMA particles loaded with copaiba oil, which exhibit the characteristic spherical shape and micro and nano particles that can be separated by gravimetry. The average particle diameters ranged from 151.8 to 257.1  $\mu\text{m}$ , as shown in Table S3 and Figure S6. These were larger than the average particle size diameter reported in the previous sections and indicate that the presence of copaiba oil affected the polymerization. The increase in the standard deviation in two thirds of the

whole particle size, indicates the formation of a relatively lower number of nucleation sites or an increase in the rates of coalescence, possibly due to the reduction in the solubility of growing polymer chains in the reacting medium<sup>39-42, 46, 47</sup>.

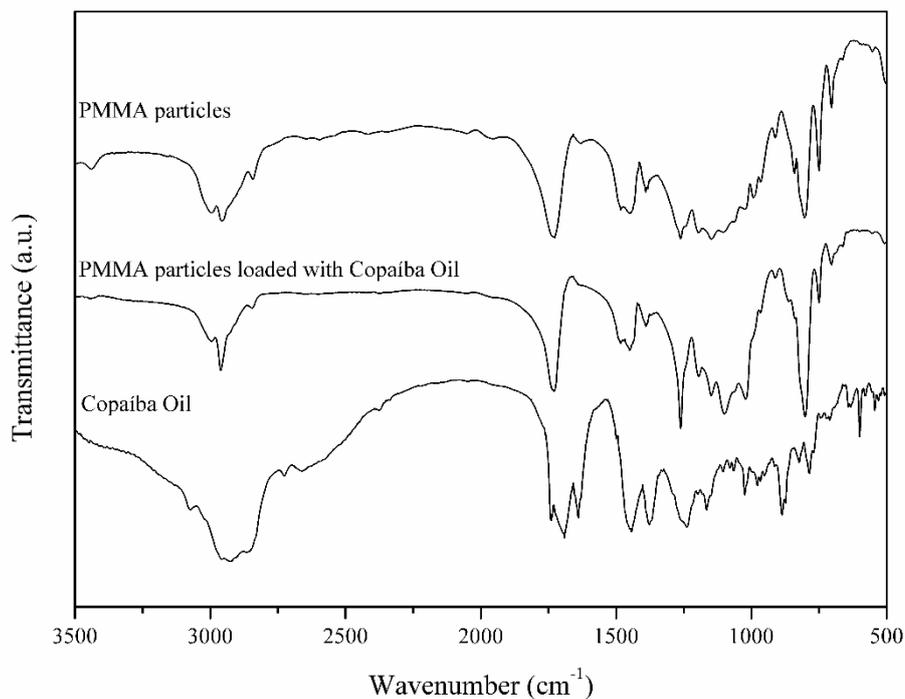
**Figure 4. 14:** SEM micrographs of PMMA particles produced in presence of Copaiba Oil= 5% w/w, ratio to the monomer mass, with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass.



The analysis of the FTIR spectra of PMMA particles produced in the absence and presence of copaiba oil, shown in Figure 4.15, reveals the characteristic PMMA peaks at 838 and 938  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-O-C deformation; at 3005 and 2957  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-H stretching of the  $\text{CH}_3$  and  $\text{CH}_2$  groups, respectively; at 1451  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-H deformation of the  $\text{CH}_3$  and  $\text{CH}_2$  groups; at 1730  $\text{cm}^{-1}$ , related to C=O stretching; at 1407 and 733  $\text{cm}^{-1}$ , related to  $\alpha$ -methyl group vibrations; and between 1146 and 1264  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-O-C stretching<sup>42</sup>.

The presence of copaiba oil was confirmed by peaks placed at 1473 and 1385  $\text{cm}^{-1}$ , related to the  $\text{CO}_2\text{H}$  bond of carboxylic acids; at 1152 and 1030  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-O-C stretching; at 1727  $\text{cm}^{-1}$ , related to C=O stretching; at 2973  $\text{cm}^{-1}$ , related to C-H stretching of  $\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3$  groups of aliphatic structures; and at 798  $\text{cm}^{-1}$ , related to C=O vibrations. These peaks are characteristic of sesquiterpenes ( $\beta$ -cariophyllene,  $\beta$ -bisobolene,  $\beta$ -cadinene,  $\alpha$ -copaene), which are the major components of copaiba oil, as previously observed in other studies and shown in Figure 8<sup>27, 42, 64</sup>.

**Figure 4. 15:** FTIR spectra of PMMA particles produced in absence and presence of copaiba oil and FTIR spectra copaiba oil.



The encapsulation efficiency (EE) of copaiba oil on the surface of PMMA particles was measured by the residual oil mass efficiency test. The result showed a copaiba oil encapsulation efficiency of 87%. The amount of non-encapsulated oil in the PMMA particle surface was 13%. The results indicate a good encapsulation level from the *in situ* incorporation of copaiba oil by dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical CO<sub>2</sub>. Therefore, based on FTIR analysis and encapsulation efficiency tests it is possible to state that copaiba oil is present in the final polymer product. These preliminary results open an opportunity for future works to investigate other process parameters such as particle size distribution, molar masses and molecular weight distribution.

#### 4.3.6 Conclusion

Copaiba oil is a versatile drug that can be encapsulated for several types of polymers, and it is a widely spread oil used as an active to a large number of treatments. The results indicate that it is possible to obtain spherical PMMA polymer particles with

broad size distributions using a surfactant based on siloxane, such as PDMS-V, to stabilize the reaction and BPO as the initiator. Additionally, it was shown that BPO can be successfully used to perform MMA dispersion polymerizations in scCO<sub>2</sub>. Finally, the addition of copaiba oil caused an increase in average particle size diameter, while an increase in the initial MMA concentration and initial surfactant concentration caused a reduction in the final average particle size diameter. The effects of copaiba oil and MMA concentrations are probably related to the modification of the solvency of the reacting media, while the effect of PDMS-V concentration is probably related to the stabilization of the precipitated polymer phase. The present study showed that the production of PMMA particles through free-radical dispersion polymerization in scCO<sub>2</sub> can be successfully performed in the presence of copaiba oil.

### Acknowledgements

The authors are grateful for the financial support provided by CNPq (Grant # 476403/2012-0) and FAPESB. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

### Supporting Information

This information is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>. Effect of PDMS-V concentration, effect of MMA concentration, in situ encapsulation of copaiba oil through scCO<sub>2</sub> MMA dispersion polymerization.

### References

- [1] Rezende, S.; Stanisçuaski, S.; De Lucca, L.; Raffin, A. Physical and Chemical Characterization and Stability of Nanoparticulated Olymeric Systems for Drug Administration: Review. *New Chemistry* **2003**, *26* (5), 726–737.
- [2] Maitz, M. F. Applications of Synthetic Polymers in Clinical Medicine. *Biosurface and Biotribology* **2015**, *1* (3), 161–176.
- [3] Lazzari, S.; Moscatelli, F.; Codari, Salmona, M.; Morbidelli, M.; Diomedede, L. Colloidal Stability of Polymeric Nanoparticles in Biological Fluids. *J. Nanopart. Res.* **2012**, *14*, 920.

- [4] Fonseca, L. B.; Nele, M.; Volpato, N. M.; Seiceira, R. C.; Pinto, J. C. Production of PMMA Nanoparticles Loaded with Praziquantel Through “In Situ” Miniemulsion Polymerization. *Macromolecular Reaction Engineering* **2013**, 7 (1), 54–63.
- [5] Castor, C. A., Nele, M., & Pinto, J. C. In situ Incorporation of Poly (Methyl Methacrylate) in Suspension Styrene Polymerizations. *Macromolecular Reaction Engineering* **2014**, 8, 580–596.
- [6] Mendes, A.N.; Hubber, I.; Siqueira, M.; Barbosa, G.M.; De Lima Moreira, D.; Holandino, C.; Pinto, J.C.; Nele, M. Preparation and Cytotoxicity of Poly (Methyl Methacrylate) Nanoparticles for Drug Encapsulation. *Macromol. Symp.* **2012**, 319, 34–40.
- [7] Ahangaran, F.; Navarchian, A. H.; Picchioni, F. Material Encapsulation in Poly (Methyl Methacrylate) Shell : A Review. *J. Appl. Pplym. Sci.* **2019**, 48039, 1–21.
- [8] Jeevanandam, J.; Chan, Y. S.; Danquah, M. K. Biochimie Nano-Formulations of Drugs: Recent Developments, Impact and Challenges. *Biochimie* **2016**, 128–129, 99–112.
- [9] Knez; Markočič, E.; Leitgeb, M.; Primožič, M.; Knez Hrnčič, M.; Škerget, M. Industrial Applications of Supercritical Fluids: A Review. *Energy* **2014**, 77, 235–243.
- [10] Sumey, J. L.; Sarver, J. A.; Kiran, E. The Journal of Supercritical Fluids Foaming of Polystyrene and Poly ( Methyl Methacrylate ) Multilayered Thin Films with Supercritical Carbon Dioxide. *J. Supercrit. Fluids* **2019**, 145, 243–252.
- [11] Hwang, H. S.; Gal, Y.-S.; Johnston, K. P.; Lim, K. T. Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide in the Presence of Random Copolymers. *Macromol. Rapid Commun* **2006**, 27 (2), 121–125.
- [12] Lu, S.; Zhang, Z.; Nawaby, A. V.; Day, M. A Kinetic Investigation of Their Situ Polymerization of Methyl Methacrylate under Supercritical Fluid CO<sub>2</sub> Conditions Using High-Pressure DSC. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, 93 (3), 1236–1239.
- [13] Aguiar-ricardo, A. ScienceDirect Building Dry Powder Formulations Using Supercritical CO<sub>2</sub> Spray Drying. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2017**, 5, 12–16.
- [14] Boyère, C.; Jérôme, C.; Debuigne, A. Input of Supercritical Carbon Dioxide to Polymer Synthesis: An Overview. *Eur. Polym. J.* **2014**, 61, 45–63.
- [15] Kendall, J. L. J. L.; Canelas, D. A.; Young, J. L. J. L.; DeSimone, J. M. Polymerizations in Supercritical Carbon Dioxide. *Chem. Rev.* **1999**, 99 (2), 543–563.
- [16] Li, G.; Yates, M. Z.; Johnston, K. P.; Howdle, S. M. In Situ Investigation on the Mechanism of Dispersion Polymerization in Supercritical Carbon Dioxide. *Macromolecules* **2000**, 33 (11), 4008–4014.

- [17] Baran Acarali, N.; Ozkan, S.; Dincer, S. Production of Poly (Methyl Methacrylate) with Clariant Nuva HPC in Supercritical Carbon Dioxide as Enhanced Technology. *J. Chem. Soc. Pakistan* **2015**, *37* (1), 18–24.
- [18] Sahu, A.; Solanki, P.; Mitra, S. Curcuminoid-Loaded Poly (Methyl Methacrylate) Nanoparticles for Cancer Therapy. *International Journal of Nanomedicine* **2018**, *13*, 101–105.
- [19] Bouledjoudja, A.; Masmoudi, Y.; Sergent, M.; Badens, E. Effect of Operational Conditions on the Supercritical Carbon Dioxide Impregnation of Anti-Inflammatory and Antibiotic Drugs in Rigid Commercial Intraocular Lenses. *J. Supercrit. Fluids* **2017**, *130*, 63–75.
- [20] Gopalakrishnan, S.; Mathew T, A.; Mozetič, M.; V. P, J.; Jose, J.; Thomas, S.; Kalarikkal, N. Development of Biocompatible and Biofilm-Resistant Silver-Poly (Methyl Methacrylate) Nanocomposites for Stomatognathic Rehabilitation. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater* **2020**, *69* (3), 186–199.
- [21] Caputo, A.; Castaldello, A.; Brocca-Cofano, E.; Voltan, R.; Bortolazzi, F.; Altavilla, G.; Sparnacci, K.; Laus, M.; Tondelli, L.; Gavioli, R.; Ensoli, B. Induction of Humoral and Enhanced Cellular Immune Responses by Novel Core-Shell Nanosphere - and Microsphere-Based Vaccine Formulations Following Systemic and Mucosal Administration. *Vaccine* **2009**, *27* (27), 3605–3615.
- [22] Bettencourt, A.; Almeida, A. J. Poly (Methyl Methacrylate) Particulate Carriers in Drug Delivery. *J. Microencapsul.* **2012**, *29* (4), 353–367.
- [23] Matbouei, A.; Fathi, A.; Rabiee, S. M.; Shirzad, M. Layered Manufacturing of a Three-Dimensional Polymethyl Methacrylate (PMMA) Scaffold Used for Bone Regeneration. *Mater. Technol.* **2019**, *34* (3), 167–177.
- [24] Saade, H.; Barrera, C.; Espinoza, A.; Lopez-Quintanilla, M. L.; Fernandez, S.; Lopez, R. G. Ultrafine Nanoparticles of Ibuprofen-Poly (Methyl Methacrylate) by a Polymerization-Loading Method. *Drug Deliv. Lett.* **2013**, *3* (1), 54–60.
- [25] Bonan, R. F.; Bonan, P. R.; Batista, A. U.; Sampaio, F. C.; Albuquerque, A. J.; Moraes, M. C. B.; Mattoso, L. H. C.; Glenn, G. M.; Medeiros, E. S.; Oliveira, J. E. In Vitro Antimicrobial Activity of Solution Blow Spun Poly (Lactic Acid) /Polyvinylpyrrolidone Nanofibers Loaded with Copaiba (*Copaifera Sp.*) Oil. *Mater. Sci. Eng. C.* **2015**, *48*, 372–377.
- [26] Reátegui, J. L. P.; Fernandes, F.P.; Santos, P. ; Rezende, C.A.; Sartoratto, A.; Queiroga, C. L.; Martínez, J. Production of Copaiba (*Copaifera o Fficinalis*) Oleoresin

Particles by Supercritical Fluid Extraction of Emulsions. *J. Supercrit. Fluids* **2018**, *140*, 364–371.

[27] Pascoal, D. R. C.; Cabral-Albuquerque, E. C. M.; Velozo, E. S.; de Sousa, H. C.; Vieira de Melo, S. A. B.; Braga, M. E. M. Copaiba Oil-Loaded Commercial Wound Dressings Using Supercritical CO<sub>2</sub>: A Potential Alternative Topical Antileishmanial Treatment. *J. Supercrit. Fluids* **2017**, *129*, 106–115.

[28] C Morelli, C. L.; Mahrous, M.; Belgacem, M. N.; Branciforti, M. C.; Bretas, R. E. S.; Bras, J. Natural Copaiba Oil as Antibacterial Agent for Bio-Based Active Packaging. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *70*, 134–141.

[29] Veiga, V. F.; Rosas, E. C.; Carvalho, M. V.; Henriques, M. G. M. O.; Pinto, A. C. Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of Copaiba Oils from *Copaifera Cearensis* Huber Ex Ducke, *Copaifera Reticulata* Ducke and *Copaifera Multijuga* Hayne- A Comparative Study. *J. Ethnopharmacol* **2007**, *112* (2), 248–254.

[30] Quiñones, O. G.; Hudson, B.; Almeida, T. A.; Miguel, N. C. O.; Rosas, E. C.; Ramosa, M. F. S.; Pierre, M. B. R. Copaiba Oil Enhances in Vitro/ in Vivo Cutaneous Permeability and in Vivo Anti-Inflammatory Effect of Celecoxib. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2018**, *70*, 964–975.

[31] Dos Santos, A. O.; Ueda-Nakamura, T.; Dias Filho, B. P.; Veiga Jr, V. F.; Pinto, A. C.; Nakamura, C. V. Antimicrobial Activity of Brazilian Copaiba Oils Obtained From Different Species of the *Copaifera* Genus, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2008**, *103*, 277–281.

[32] Arruda, C.; Mejía, J. A.A.; Ribeiro, V. P.; Borges, C. H.G.; Martins, C. H. G.; Veneziani, R. C. S.; Ambrózio, S. R.; Bastos, J. K. Occurrence, Chemical Composition, Biological Activities and Analytical Methods on *Copaifera* Genus: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2019**, *109*, 1–20.

[33] Gomes, N. M.; Rezende, C. M.; Fontes, S. P.; Matheus, M. E.; Fernandes, P. D. Antinociceptive Activity of Amazonian Copaiba Oils. *J. Ethnopharmacol* **2007**, *109* (3), 486–492.

[34] Xavier-Junior, H.; Egito, E. S. T.; Morais, A. R. V.; Alencar, E. N.; Maciuk, A.; Vauthier, C. Experimental Design Approach Applied to the Development of Chitosan Coated Poly (Isobutylcyanoacrylate) Nanocapsules Encapsulating Copaiba Oil. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2018**, *536*, 251–258.

[35] Venturini, C. G.; Bruinsmann, F. A.; Contri, R. V.; Fonseca, F. N.; Frank, L. A.; D'Amore, C. M.; Raffin, R. P.; Buffon, A.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S. Co-encapsulation of Imiquimod and Copaiba oil in Novel Nanostructured Systems:

Promising Formulations Against Skin Carcinoma. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2015**, *79*, 36–43.

[36] de Almeida Borges, V. R.; Tavares, M. R.; da Silva, J. H.; Tajber, L.; Boylan, F.; Ribeiro, A. F.; Nasciutti, L. E.; Cabral, L. M.; de Sousa, V. P. Development and Characterization of Poly (Lactic-Co-Glycolic) Acid Nanoparticles Loaded with Copaiba Oleoresin. *Pharm. Dev. Technol.* **2018**, *23* (4), 343–350.

[37] Hertz, A.; Sarrade, S.; Guizard, C.; Julbe, A. Synthesis and Encapsulation of Yttria Stabilized Zirconia Particles in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Eur. Ceram. Soc.* **2006**, *26* (7), 1195–1203.

[38] Yue, B.; Yang, J.; Wang, Y.; Huang, C.-Y.; Dave, R.; Pfeffer, R. Particle Encapsulation with Polymers via in Situ Polymerization in Supercritical CO<sub>2</sub>. *Powder Technol.* **2004**, *146* (1–2), 32–45.

[39] Gregory, A. M.; Thurecht, K. J.; Howdle, S. M. Controlled Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide via RAFT. *Macromolecules* **2008**, *41*, 1215–1222.

[40] Shiho, H.; Desimone, J. M. Dispersion Polymerization of Styrene in Supercritical Carbon Dioxide Utilizing Random Copolymers Containing a Fluorinated Acrylate for Preparing Micron-Size Polystyrene Particles. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2000**, *38*, 1146–1153.

[41] McAllister, T. D.; Farrand, L. D.; Howdle, S. M. Improved Size Control for the Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide. *Macromol. Chem. Phys.* **2016**, *217*, 2294–2301.

[42] Oliveira, P. F.; Machado, R. A. F.; Barth, D.; Acosta, E. D. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification Cation Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide Using Vinyl Terminated Poly (Dimethyl Siloxane). *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* **2016**, *103*, 46–52.

[43] Canelas, D. a.; Betts, D. E.; DeSimone, J. M. Dispersion Polymerization of Styrene in Supercritical Carbon Dioxide: Importance of Effective Surfactants. *Macromolecules* **1996**, *29* (8), 2818–2821.

[44] Wang, R.; Cheung, H. M. A New PDMS Macromonomer Stabilizer for Dispersion Polymerization of Styrene in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *93*, 545–549.

- [45] Giles, M. R.; Hay, J. N.; Howdle, S. M.; Winder, R. J. Macromonomer Surfactants for the Polymerisation of Methyl Methacrylate in Supercritical CO<sub>2</sub>. *Polymer (Guildf)* **2000**, *41* (18), 6715–6721.
- [46] Yuan, C.L.; Xu, Z.Z.; Fan, M.X.; Liu, H.Y.; Xie, Y.H.; Zhu, T. Study on Characteristics and Harm of Surfactants. *J. Chem. Pharm. Res.* **2014**, *6* (7), 2233–2237.
- [47] Guan, Z.; Desimone, J. M. Homogeneous Free Radical Polymerizations in Supercritical. *Macromolecules* **1993**, *26*, 2663–2669.
- [48] Santos, T. M. M.; Rebelatto, E. A.; Chaves, B. B.; Lanza, M.; Oliveira, J. V; Cabral Albuquerque, E. C. M.; Vieira de Melo, S. A. B. High Pressure Phase Equilibrium Data for Carbon Dioxide, Methyl Methacrylate and Poly (Dimethyl Siloxane) Systems High Pressure Phase Equilibrium Data for Carbon Dioxide, Methyl Methacrylate and Poly (Dimethyl Siloxane) Systems. *J. Supercrit. Fluids* **2018**, *143*, 346–352.
- [49] Zwolak, G.; Lioe, L.; Lucien, F. P. Vapor-liquid Equilibria of Carbon Dioxide + Methyl Methacrylate at 308, 313, 323, and 333 K. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 1021-1026.
- [50] Lora, M.; McHugh, M. A. Phase Behavior and Modeling of the Poly (Methyl Methacrylate)–CO<sub>2</sub>–Methyl Methacrylate System. *Fluid Phase Equilib.* **1999**, *157* (2), 285–297.
- [51] Rosell, A.; Storti, G.; Morbidelli, M. Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide Using a Pseudo-Graft Stabilizer: Role of Reactor Mixing. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2996–3004.
- [52] Wang, W.; Griffiths, M.T.; Giles, M.R.; Williams, P.; Howdle, S.M. Monitoring Dispersion Polymerizations of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide. *Eur. Polym. J.* **2003**, *39*, 423–428.
- [53] Han, S.; Park, K.; Lee, S. Polymerization of Methyl Methacrylate in Carbon Dioxide Using Glycidyl Methacrylate-Linked Reactive Stabilizer: Effect of Pressure, Reaction Time and Mixing. *Macromol. Res.* **2009**, *17* (1), 51–57.
- [54] Bae, E. K.; Lee, S. J. Microencapsulation of Avocado Oil by Spray Drying Using Whey Protein and Maltodextrin. *J. Microencapsul.* **2008**, *25* (8), 549–560.
- [55] Pasquel Reátegui, J. L.; Barrales, F. M.; Rezende, C. A.; Queiroga, C. L.; Martínez, J. Production of Copaiba Oleoresin Particles from Emulsions Stabilized with Modified Starches. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *108*, 128–139.
- [56] Elvira, C.; Fanovich, A.; Fernández, M.; Fraile, J.; San Román, J.; Domingo, C. Evaluation of Drug Delivery Characteristics of Microspheres of PMMA-PCL-

Cholesterol Obtained by Supercritical-CO<sub>2</sub> Impregnation and by Dissolution-Evaporation Techniques. *J. Control. Release* **2004**, *99* (2), 231–240.

[57] Domingo, C.; Vega, A.; Fanovich, M. A.; Elvira, C.; Subra, P. Behavior of Poly (Methyl Methacrylate)-Based Systems in Supercritical CO<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> Plus Cosolvent: Solubility Measurements and Process Assessment. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003**, *90* (13), 3652–3659.

[58] Deniz, S.; Baran, N.; Akgün, M.; Uzun, I. N.; Dinçer, S. Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide Using a Silicone-Containing Fluoroacrylate Stabilizer. *Polym. Int.* **2005**, *54* (12), 1660–1668.

[59] Shiho, H.; DeSimone, J. M. Dispersion Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Polym. Sci., Part A Polym. Chem.* **2000**, *38* (20), 3783–3790.

[60] Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. *John Wiley and Sons: Hoboken NJ.* **2005**, 7th ed.

[61] Licoccia, S.; Trombetta, M.; Capitani, D.; Proietti, N.; Romagnoli, P.; Di Vona, M. L. ATR-FTIR and NMR Spectroscopic Studies on the Structure of Polymeric Gel Electrolytes for Biomedical Applications. *Polymer (Guildf)* **2005**, *46* (13), 4670–4675.

[62] Brar, A. S.; Singh, G.; Shankar, R. Structural Investigations of Poly (Methyl Methacrylate) by Two-Dimensional NMR. *J. Mol. Struct.* **2004**, *703* (1–3), 69–81.

[63] Bodas, D. S.; Gangal, S. A. Structural Characterization of Sputtered PMMA in Argon Plasma. *Mater. Lett.* **2005**, *59* (23), 2903–2907.

[64] Borges, V.R.A.; Silva, J.H.; Barbosa, S.S.; Nasciutti, L.E.; Cabral, L.M.; Sousa, V.P. Development and Pharmacological Evaluation of in Vitro Nanocarriers Composed of Lamellar Silicates Containing Copaiba Oil-Resin for Treatment of Endometriosis. *Materials Science and Engineering C.* **2016**, *64*, 310–317.

### 4.3.7 Supporting Information

#### **Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical CO<sub>2</sub>: A preliminary evaluation of in-situ incorporation of copaiba oil**

T.M.M. Santos<sup>a</sup>, B.B. Chaves<sup>a</sup>, J.S. Cerqueira<sup>a</sup>, M.M. Canario<sup>a</sup>, D. Bresolin<sup>c</sup>, J.C. Pinto<sup>b</sup>, R.A.F. Machado<sup>c</sup>, E.C.M Cabral-Albuquerque<sup>a</sup>, S.A.B. Vieira de Melo<sup>a, d\*</sup>

<sup>a</sup>Programa de Engenharia Industrial, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, 40210-630, Salvador-BA, Brazil.

<sup>b</sup>Programa de Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-972, Rio de Janeiro-RJ, Brazil.

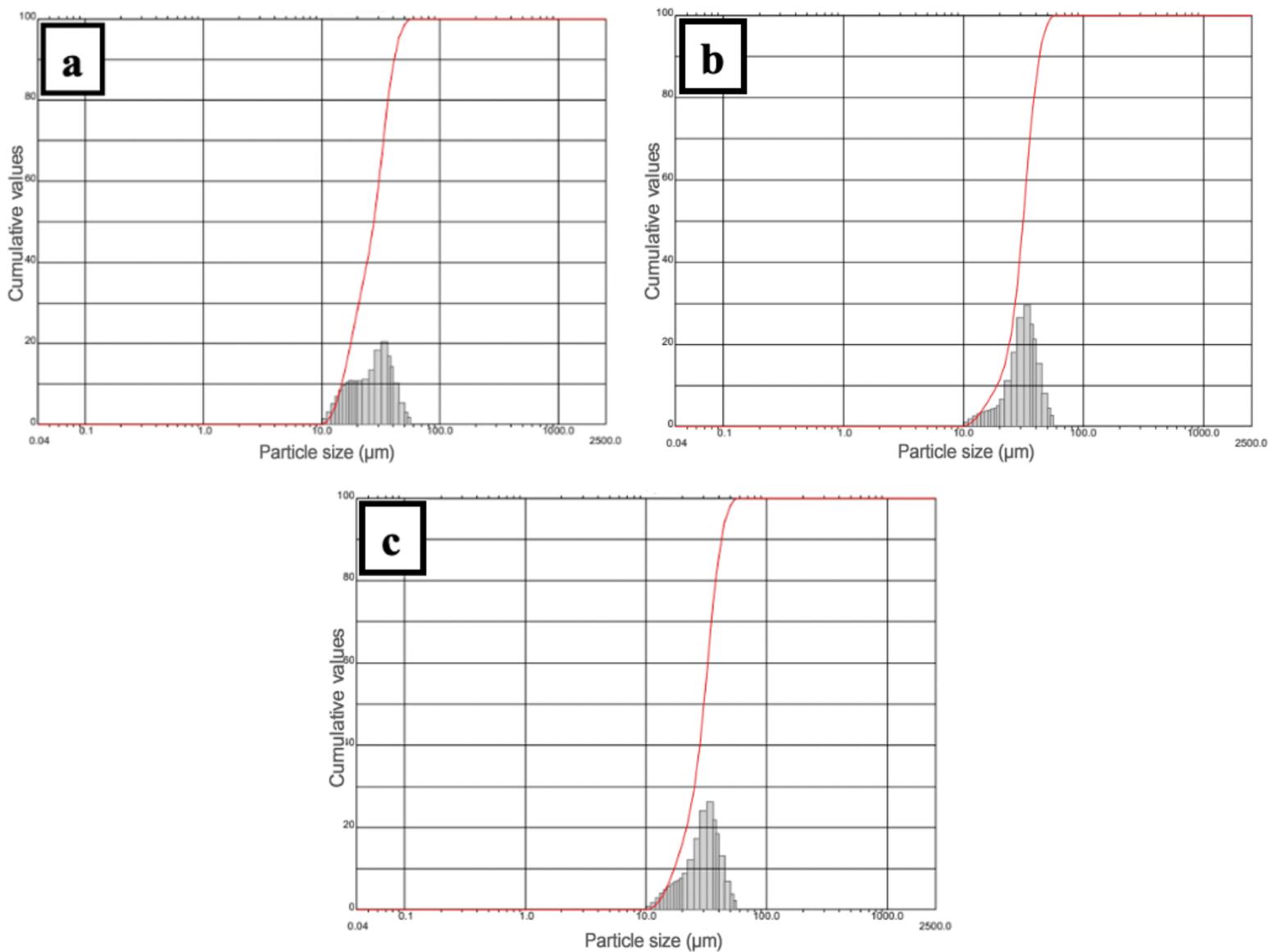
<sup>c</sup>Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900, Santa Catarina-SC, Brazil

Centro Interdisciplinar em Energia e Ambiente, Campus Universitário da Federação/Ondina, Universidade Federal da Bahia, 40170-115, Salvador, BA, Brazil.

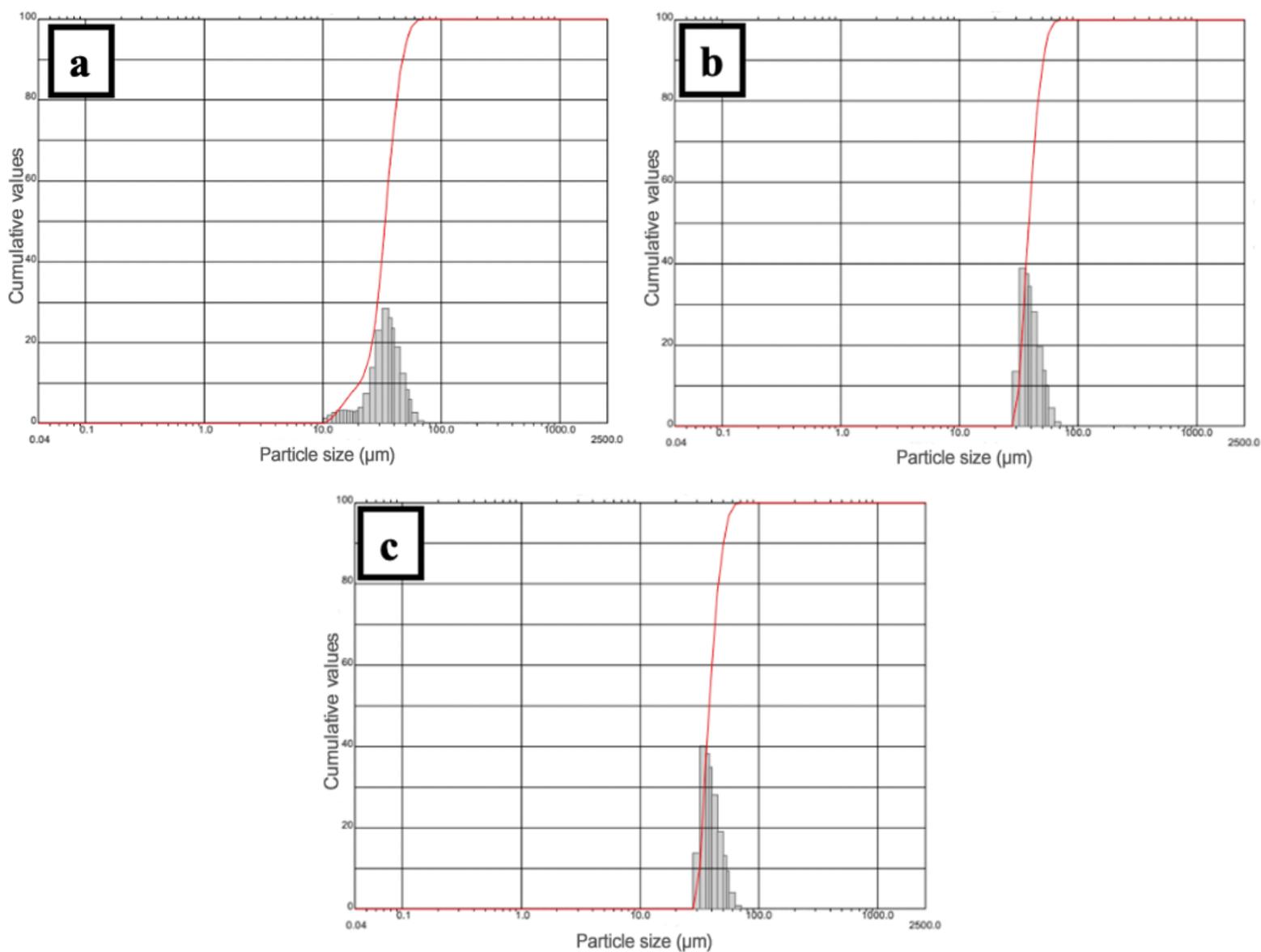
\*[sabvm@ufba.br](mailto:sabvm@ufba.br)

## RESULTS AND DISCUSSION

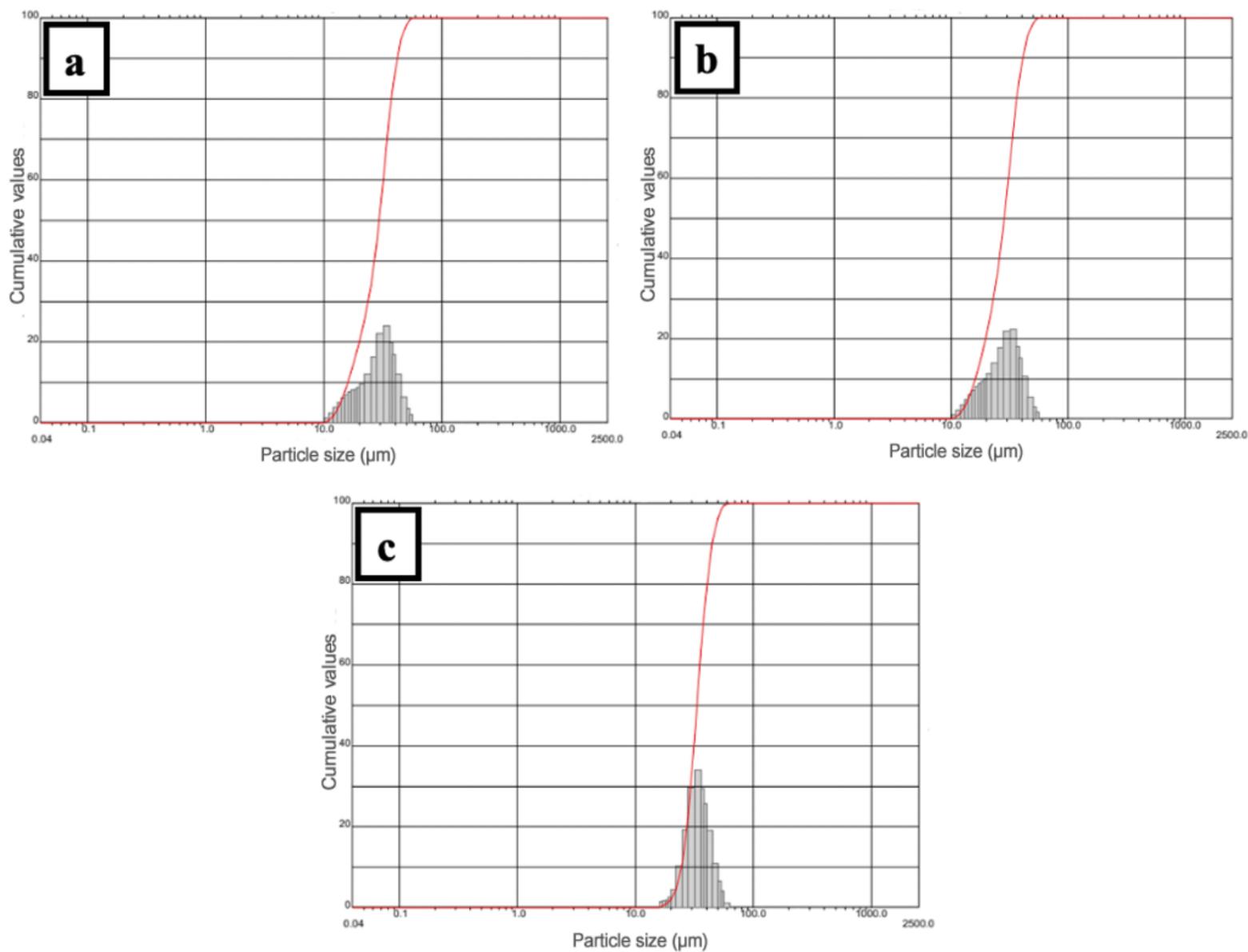
## The effect of PDMS-V concentration



**Figure S1.** Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 5.4% (a, b, c), ratio to the monomer mass.



**Figure S2.** Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 7% w/w (a, b, c), ratio to the monomer mass.



**Figure S3.** Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA=10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w (a, b, c), ratio to the monomer mass.

**Table S1.** Residual MMA contents and average sizes of final PMMA particles.

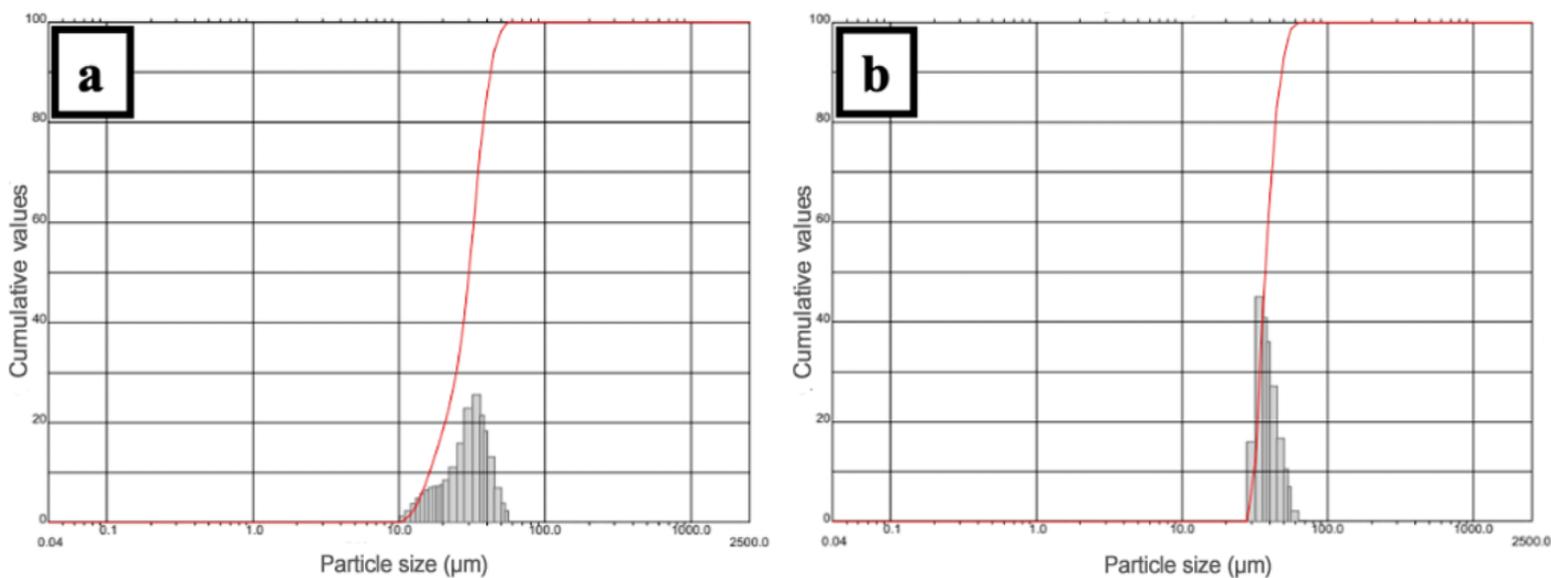
%Stabilizer	Residual %MMA <sup>1</sup>	D10% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	D50% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	D90% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	DMean ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>
5.4	2.4 $\pm$ 0.4	14.7	27.7	41.1	27.7
5.4	2.75 $\pm$ 0.9	17.1	43.2	42.4	30.2
5.4	2.17 $\pm$ 0.5	19.0	31.5	43.2	31.4
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	-----	16.9 $\pm$ 2.1	29.8 $\pm$ 1.2	42.2 $\pm$ 1.1	29.7 $\pm$ 1.9
7	2.64 $\pm$ 0.5	20.3	33.7	47.4	34.0
7	3.81 $\pm$ 0.3	31.8	38.2	50.3	39.8
7	1.01 $\pm$ 0.8	31.9	38.4	50.9	40.1
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	-----	28.0 $\pm$ 6.7	36.8 $\pm$ 2.6	49.5 $\pm$ 1.8	38.0 $\pm$ 3.4
10	1.67 $\pm$ 0.2	16.1	28.5	41.0	28.6
10	1.17 $\pm$ 0.3	16.0	29.4	42.0	29.3
10	1.83 $\pm$ 0.2	25.5	33.3	44.9	34.1
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>2</sup>	-----	19.2 $\pm$ 5.5	30.4 $\pm$ 2.6	42.6 $\pm$ 2.0	30.6 $\pm$ 3.0

1- Evaluated via GC analysis.

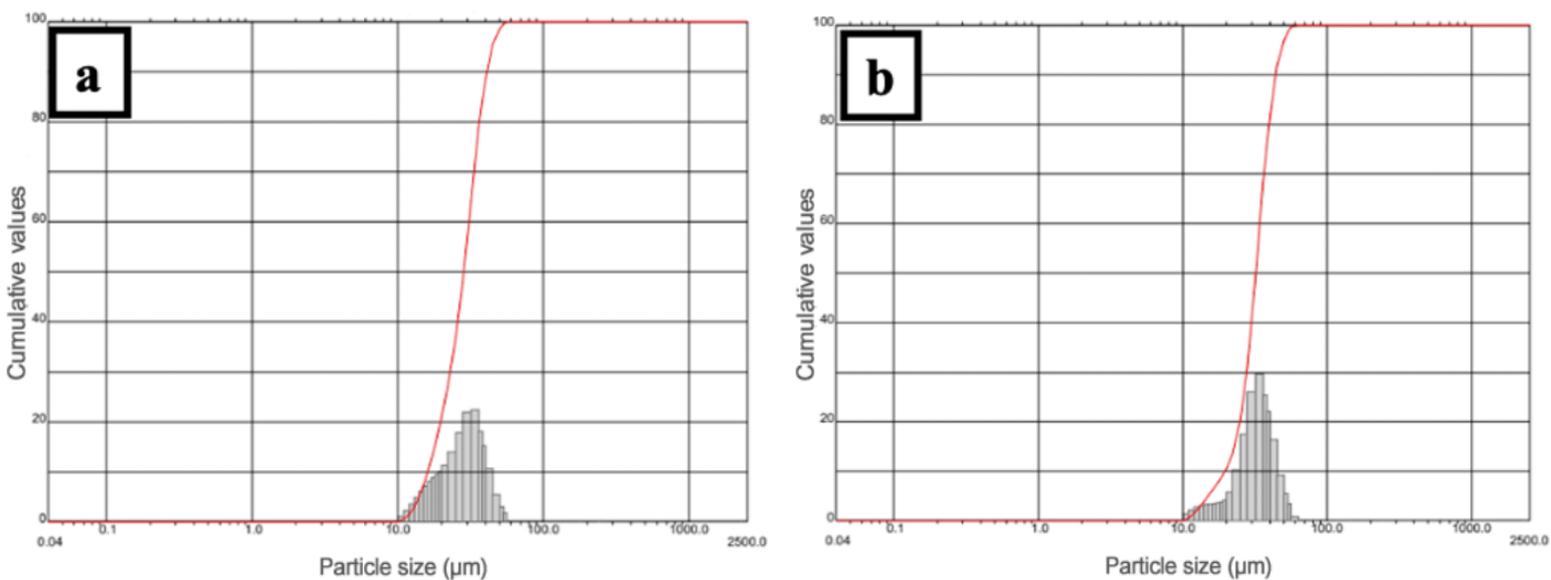
2- Evaluated using DLS instrument.

**Table S2.** <sup>1</sup>H NMR chemicals shifts and assignments.

Chemical Shift ( $\delta$ )	Signal
6.05	H (B1) vinyl
5.49	H (B2) vinyl
1.11 – 2.23	H (B) methylene
3.55 – 3.90	H (OCH <sub>3</sub> )
0.60 – 1.10	H (CH <sub>3</sub> )

**The effect of MMA concentration**

**Figure S4.** Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA= 12.5% w/w (a, b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass.

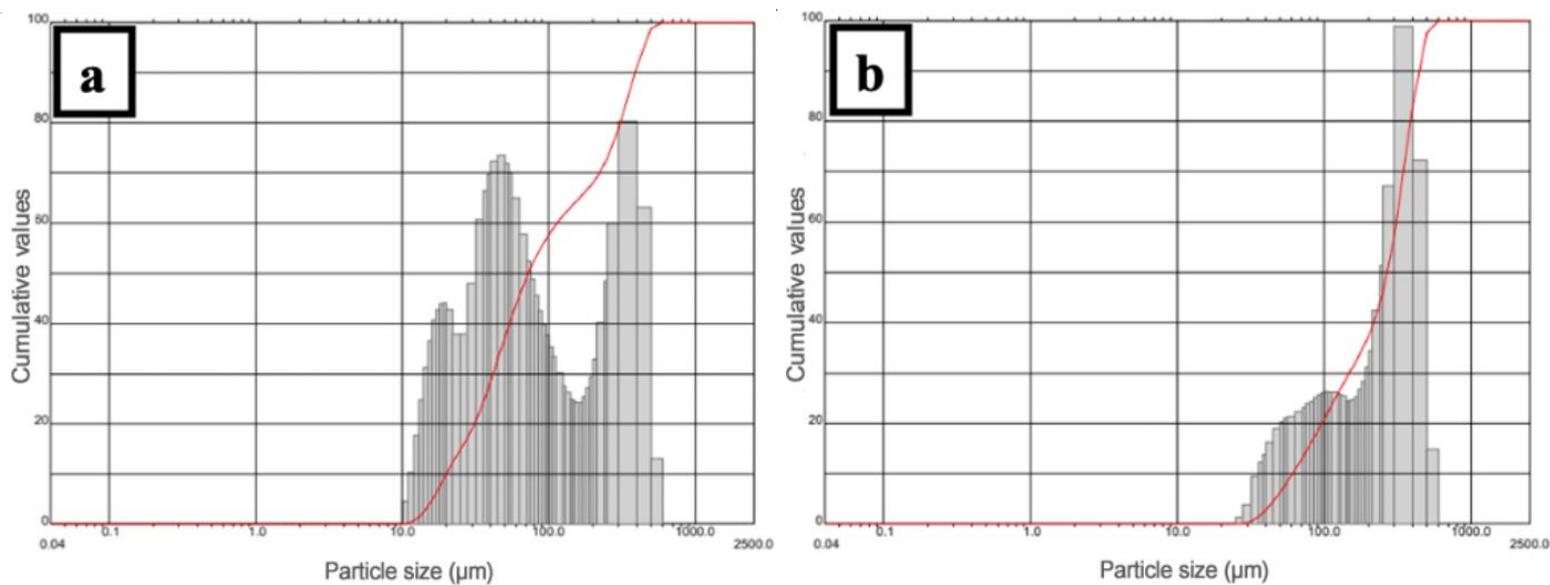


**Figure S5.** Histograms in volumes of PMMA particles produced with MMA= 15% w/w (a, b), ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass.

**Table S3.** Average sizes of final PMMA particles.

%Stabilizer	%MMA	%Copaiba Oil	D10% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	D50% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	D90% ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	DMean ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>
10	12.5	-----	16.16	30.2	36.9	42.3
10	12.5	-----	31.3	37.2	29.9	48.4
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	-----	-----	$23.7 \pm 10.7$	$33.7 \pm 5.0$	$33.3 \pm 4.8$	$45.4 \pm 4.2$
10	15	-----	19.6	32.1	32.1	41.2
10	15	-----	16.5	28.8	28.9	44.1
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	-----	-----	$18.0 \pm 2.1$	$30.5 \pm 2.3$	$30.5 \pm 2.2$	$42.6 \pm 2.1$
10	10	-----	16.1	28.5	41.0	28.6
10	10	-----	16.0	29.4	42.0	29.3
10	10	-----	25.5	33.3	44.9	34.1
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	-----	-----	$19.2 \pm 5.5$	$30.4 \pm 2.6$	$42.6 \pm 2.0$	$30.6 \pm 3.0$
10	10	5	20.0	72.7	389.7	151.8
10	10	5	60.6	267.7	445.8	257.1
Mean particle diameter ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	-----	-----	$40.3 \pm 28.7$	$170.2 \pm 137.9$	$417.7 \pm 39.6$	$204.5 \pm 74.5$

<sup>1</sup>- Evaluated using DLS instrument.

**In-situ encapsulation of copaiba oil through scCO<sub>2</sub> MMA dispersion polymerization**

**Figure S6.** Histograms in volumes of PMMA particles produced in presence of Copaiba Oil= 5% w/w (a, b), ratio to the monomer mass, with MMA= 10% w/w, ratio to the total system mass, BPO= 2% w/w, ratio to the monomer mass and PDMS-V= 10% w/w, ratio to the monomer mass.

## **CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES**

## 5.1 Conclusões

Como visto ao longo dos diferentes capítulos, esta tese teve como ponto central o desenvolvimento da polimerização em dispersão do metacrilato de metila (MMA) em dióxido de carbono supercrítico ( $scCO_2$ ), usando o peróxido de benzoíla (BPO), como iniciador e o polidimetilsiloxano vinil terminal (PDM-V), como surfactante, para a obtenção de partículas de poli metacrilato de metila (PMMA) na presença e ausência do óleo de copaíba, visando a sua incorporação *in situ*.

O estudo do equilíbrio de fases a alta pressão foi realizado para a investigação das melhores condições de operação de modo a garantir um sistema homogêneo no início do processo da polimerização do MMA em meio supercrítico. Este trabalho gerou novos dados de transição de fase a alta pressão para os sistemas binário  $CO_2 + MMA$  e ternário  $CO_2 + MMA + PDMS-V$  para temperaturas de 50, 60 70 e 80 °C e pressões na faixa de 60,9 a 251,8 bar. Através das medições realizadas foi possível observar uma expansão volumétrica da fase líquida do MMA em até três vezes o seu volume inicial. Ao sistema foi adicionado o PDMS-V, que causou diferentes efeitos na transição de fase do sistema binário  $CO_2 + MMA$ , observando-se transições de fase do tipo EVL, ELL e ELLV. A adição do PDMS-V teve um papel crucial na transição de fases do sistema binário  $CO_2 + MMA$ , pois a partir dos dados obtidos foi possível escolher as condições mais adequadas para investigar a polimerização do MMA.

Uma vez determinada a condição operacional que garantiu uma fase homogênea no início da reação, iniciou-se o estudo da polimerização do MMA por dispersão, em  $scCO_2$ , em um reator de alta pressão, com foco no efeito das concentrações de surfactante e do monômero na distribuição de tamanho e na morfologia das partículas. Os resultados indicam que é possível obter partículas esféricas de PMMA utilizando um surfactante com base em siloxano, o PDMS-V, para estabilizar a reação, e BPO como iniciador. Foi observado que, mantendo-se as concentrações fixas de monômero (MMA) e variando-se a concentração do surfactante (PSMS-V), é possível obter partículas de PMMA monodispersas. A realização do conjunto de análises, através das técnicas MEV, DLS GPC, GC, levou à conclusão da melhor proporção de MMA/PDMS-V, em que se obtiveram partículas esféricas com uma distribuição mais uniforme. Dessa forma, seguiu-se para a realização do processo simultâneo de produção de partículas de PMMA incorporadas com o óleo de copaíba, através da polimerização em dispersão do MMA na presença de  $scCO_2$ .

A adição do óleo de copaíba à reação de polimerização foi uma motivação adicional para o presente trabalho, pois sabe-se que o óleo de copaíba possui bioativos que podem ser incorporados em diferentes tipos de polímeros, além de ser amplamente difundido como princípio ativo em diversos tratamentos. Os resultados indicaram que a adição do óleo de copaíba ao meio reacional, em presença do  $scCO_2$ , levou ao aumento no diâmetro médio do tamanho das partículas de PMMA, enquanto um aumento na concentração inicial de MMA e na concentração inicial de surfactante causou uma redução no diâmetro médio final das partículas de PMMA. Os resultados mostraram que, à medida que aumentou a concentração inicial de MMA, houve um aumento no número de nucleação e uma redução de coalescência das partículas, modificando a solubilidade no meio reacional (o MMA se comporta como um co-solvente para o polímero). Quando o óleo de copaíba foi adicionado ao meio reacional, houve uma redução da sua solubilidade nesse meio, originando uma diminuição no número de nucleação e um aumento de coalescência. Logo, a adição do óleo de copaíba alterou a proporção do surfactante na reação, impossibilitando a formação de uma gota mais estável. Os efeitos das concentrações de óleo de copaíba e MMA provavelmente estão relacionados à modificação da solubilidade dos reagentes no meio, enquanto o efeito da concentração de PDMS-V provavelmente está relacionado à estabilização da fase do polímero precipitado.

O presente trabalho optou por incorporar um fitoterápico como um bioativo modelo, utilizando um sistema de alta pressão, para demonstrar que a produção de partículas de PMMA por polimerização por dispersão de radicais livres em  $scCO_2$  pode ser realizada com sucesso. O bioativo escolhido (óleo de copaíba) revelou boa estabilidade física após o processo de incorporação. No entanto, é necessário mais estudos para investigar exaustivamente algumas variáveis do processo para a otimização do processo de incorporação desse óleo.

## 5.2 Sugestões

Diante dos resultados obtidos e apresentados no presente trabalho, é possível observar que o assunto tem uma vasta possibilidade para futuros trabalhos, que podem explorar outras condições experimentais para a polimerização do MMA em  $scCO_2$ , como também o uso de outros iniciadores que possam melhorar a cinética da reação, e surfactantes, a fim de eliminar a etapa de lavagem com solvente orgânico, além de conseguir resultados de diâmetro médio das partículas mais estreitos e partículas mais

uniformes. Uma alternativa é também incorporar outros princípios ativos, já que foi possível incorporar o óleo de copaíba através da polimerização do MMA em scCO<sub>2</sub>.

Como continuidade deste trabalho, sugere-se investigar mais profundamente o papel do óleo de copaíba na cinética das reações de polimerização, incluindo a influência da coalescência das gotas, a fim de obter melhores resultados de distribuição de tamanho de partícula, massas molares e distribuição de massa molar, para a incorporação do óleo de copaíba através da polimerização em dispersão do MMA na presença de scCO<sub>2</sub>.

Testes de liberação controlada *in vitro*, para observar o perfil de liberação e dissolução das partículas de PMMA carregadas com óleo de copaíba obtidas, poderiam ser conduzidos também para investigar o perfil de liberação do óleo através de alguns métodos químicos e físicos que foram desenvolvidos para liberar os princípios ativos das partículas (dependentes de estímulos). O óleo de copaíba apresenta um vasto número de benefícios e aplicações por via oral e tópica, como por exemplo, o uso alternativo na terapia antimicrobiana oral, visando a prevenção de doença periodontal, e é um forte candidato para a substituição da clorexidina. Uma outra aplicação é na indústria cosmética, quando o óleo de copaíba é incorporado a polímeros como por exemplo o (PMMA), formando partículas muito pequenas que facilitam a adsorção na pele, melhorando a estabilidade do óleo, além de mascarar totalmente o cheiro, que pode resultar em forma semissólida, como em creme ou um gel, pois possui uma baixa toxicidade e uma alta ação anti-inflamatória e cicatrizante.

Após um aprofundamento do processo de incorporação em meio supercrítico, recomenda-se um estudo em escala piloto para a produção das partículas de PMMA incorporadas com o óleo de copaíba.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AGUIAR-RICARDO A. Polímeros inteligentes em dispositivos biomédicos e bio-separação. *Química*. Vol. 126, p. 31-41, 2012.

ALI, M. E.; LAMPRECHT, A. Polyethylene glycol as an alternative polymer solvent for nanoparticle preparation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 456, n. 1, p. 135–142, 2013.

ALLOUCHE, J. Nanomaterials: A Danger or a Promise? A Chemical and Biological Perspective. In: BRAYNER, R.; FIÉVET, F. ;CORADIN, T. (Ed.). **Engineering**. Paris: Springer, p. 49, 2013.

ALMEIDA, A. P.; RODRIGUEZ-ROJO, S.; SERRA, A. T.; VILA-REAL, H.; SIMPLICIO, A. L.; DELGADILHO, I.; BEIRAO, C. S.; BEIRAO, C. L.; NOGUEIRA, I. D.; DUARTE, C. M. M. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. **Innov Food Sci Emerg Technol**, v. 20, 140–5, 2013.

ARAÚJO JÚNIOR, F.A. et al. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, n.1, p.93-9, 2005.

ARAUJO, J., VEJA, E., LOPES, C., EGEEA, M. A., GARCIA, M.L. & SOUTO, E. B. **Colloids Surf B Biointerfaces**. Vol. 72, p. 48, 2009.

ARAÚJO, P. H. H. & PINTO, J. C. *Braz. Journal Chem. Eng.* Vol. 17, p. 383, 2000.

AVGOUSTAKIS, K. *Curr. Drug Deliv.* vol. 4, p. 321, 2004.

BAE, E. K.; LEE, Sung Je. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n. 8, p. 549–560, 2008.

BAKER, G.A., CAMPBELL, M.L., YATES. M.Z., MCCLESKEY, T.M. Carbon Dioxide Emulsion Assisted Loading of Polymer Micro spheres toward Sustained Release, **Materials. Langmuir**. vol. 21. P. 3730-3732, 2005.

BAKRY, Amr M. et al. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 143–182, 2016.

BENDER, J. P. **Equilíbrio de fases do monômero l,l-lactídeo em altas pressões: dados experimentais e modelagem**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

BENDER, J. P. et al. Phase behaviour of pseudo-binary systems of pressurized (propane + l,l-lactide)) at different ethanol to l,l-lactide mole ratios. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 78, p. 120–127, 2014.

BERKLAND, C.; KIM, K. K.; PACK, D. W. Fabrication of PLG microspheres with precisely controlled and nanodisperse size distributions. **J. Control. Release**, v. 73, p. 59–74, 2001.

BESHEER, A., VOGEL, J., GLANZ, D., KRESSLER, J., GROTH, T. & MADER, K. **Mol. Pharm.** vol. 6, p. 407, 2009.

BETTENCOURT, A.; ALMEIDA, A. J. Poly(methyl methacrylate) particulate carriers in drug delivery. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, n. 4, p. 353–367, 2012.

BILLMEYER, F. W. **Textbook of Polymer Science**. v. 12E-book.

BONAN, Roberta F.; BONAN, Paulo R.F.; BATISTA, André U.D.; SAMPAIO, Fábio C.; ALBUQUERQUE, Allan J.R.; MORAES, Maria C.B.; MATTOSO, Luiz H.C.; GLENN, Gregory M.; MEDEIROS, Eliton S.; OLIVEIRA, Juliano E. In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera* sp.) oil. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 372–377, 2015.

BONFÁ, A., SAITO, R. S. N., FRANÇA, R. F. O., FONSECA, B. A. L., PETRI, D. F. S. Poly(ethylene glycol) decorated poly(methylmethacrylate) nanoparticles for protein adsorption. **Mater Sci Eng C**. Vol. 31, p. 562–6, 2011.

BOULEDJOUIDJAA A.; MASMOUDIA Y.; SERGENTB, M.; BADENSA, E. Effect of operational conditions on the supercritical carbon dioxide impregnation of anti-inflammatory and antibiotic drugs in rigid commercial intraocular lenses. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 130, p. 63–75, 2017.

BOYÈRE, C.; JÉRÔME, C.; DEBUIGNE, A. Input of supercritical carbon dioxide to polymer synthesis: An overview. **European Polymer Journal**, v. 61, p. 45–63, 2014.

BRAGA, M. E. M.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H.C. DE. Extração de fitoquímicos com fluidos pressurizados/supercríticos e impregnação destes em biomateriais, 2015.

BRAGA, M.E.M.; MATOS, M.B.C.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H.C. Desenvolvimento de aplicações farmacêuticas e biomédicas através de métodos de impregnação/deposição com fluidos supercríticos. In: SOUSA, H.C.; BRAGA, M.E.M; SOSNIK, A. (eds.). **Biomateriais Aplicados ao Desenvolvimento de Sistemas Terapêuticos Avançados**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, cap. 8, 309-383, 2015.

BRAGA, M.E.M.; MATOS, M.B.C.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H.C. Produção de micro e nanopartículas utilizando fluidos supercríticos. In: SOUSA, H.C.; BRAGA, M.E.M; SOSNIK, A. (eds.). **Biomateriais Aplicados ao Desenvolvimento de Sistemas Terapêuticos Avançados**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2015, cap. 10, 309-383.

CALICETI, P.; VERONESE, F. M.; LORA, S. Polyphosphazene microspheres for insulin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 211, n. 1–2, p. 57–65, 2000.

CANEVAROLO JR., S. V. Ciência dos Polímeros - Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. *Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*, p. 139–168, 2006.

CAO, K.; YU, J.; LI, B. G.; LI, B. F. & PAN, Z. R. *Chem. Eng. J.* Vol. 78, p. 211, 2000.  
CAPUTO, A. CASTALDELLO, A.; BROCCA-COFANO, E.; VOLTAN, R.; BORTOLAZZI, F.; ALTAVILLA, G.; SPARNACCI, K.; LAUS, M.; TONDELLI, L.;

GAVIOLI, R.; ENSOLI, B.; Induction of humoral and enhanced cellular immune responses by novel core-shell nanosphere- and microsphere-based vaccine formulations following systemic and mucosal administration. **Vaccine**, v. 27, n. 27, p. 3605–3615, 2009.

CARVALHO, COSTA, I. M., SALARO, C. P., COSTA, M. C. Polymethylmethacrylate facial implant: A successful personal experience in Brazil for more than 9 years. *Dermatol Surg.* Vol. 35, p. 1221–7, 2009.

CHAMPEAU, M.; THOMASSIN, J.-M.; TASSAING, T.; JÉRÔME C. Drug loading of polymer implants by supercritical CO<sub>2</sub> assisted impregnation: A review. **J. of Controlled Release**, v. 209, 248–259, 2015a.

CHATTOPADHYAY, P., HUFF, R., SHEKUNOV, B.Y. Drug encapsulation using supercritical fluid extraction of emulsions, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 95, no. 3, p. 667-679, 2006.

CHATZIDOUKAS, C.; PLADIS, P.; KIPARISSIDES, C. Mathematical modeling of dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 4, p. 743–751, 2003.

CHERN, C.S. Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. **Progress in Polymer Science**. Vol. 31, p. 443 – 486, 2006.

CHONG, G.H., YUNUS, R., ABDULLAH, N., CHOONG, T.S.Y., SPOTAR, S. Coating and Encapsulation of Nanoparticles using Supercritical Antisolvent. **American Journal of Applied Sciences**. vol. 7, p. 1352-1358, 2009.

CHOUINARD, F., BUCZKOWSKI, S., LENAERTS, V., **Pharm. Res.** vol. 11, p. 869, 1994.

COELHO, J. F., FERREIRA, P., C, ALVES, P., CORDEIRO, R., FONSECA, A. C., GÓIS, JR., GIL, M. H. Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. **EPMA J.** Vol. 1, p. 164–209, 2010.

COSTA, C. N.; COSTA, M. A. S.; MARIA, L. V. de S.; SILVA, M. R.; SOUZA Jr., F. G.; MICHEL, R. Síntese e caracterização de copolímeros à base de metacrilato de metila e divinilbenzeno com propriedades magnéticas. **Polimeros**, v. 22, n. 3, p. 260–266, 2012.

CUI, F., JIN, Y., WANG, X., XIA, X. Preparation method of micron-sized polymethylmethacrylate microsphere. **European Patent CN 101787138 (A)**, 26 January, 2010.

DE OLIVEIRA, D. A. **Aplicação de Tecnologias Supercrítica e Convencionais para o Reaproveitamento dos Resíduos do Processamento do Maracujá (*passiflora edulis f. flavicarpa*)**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

DELIE, F., BLANCO-PRÍETO, M. J. Polymeric particulates to improve oral bioavailability of peptide drugs. **Molecules**, v. 10, n. 1, p. 65–80, 2005.

DESIMONE, J. M., KEIPER, J. S. Surfactants and self-assembly in carbon dioxide. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. Vol. 5, n. 4, p. 333–341, 2001.

DIEGUEZ, Celia M. Tokarsk. et al. Os fundamentos quânticos da ressonância magnética nuclear. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. e1310, 2018.

DOMINGO, C.; VEGA, A.; FANOVICH, M. A.; ELVIRA, C.; SUBRA, P. Behavior of Poly (Methyl Methacrylate)-Based Systems in Supercritical CO<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> Plus Cosolvent: Solubility Measurements and Process Assessment. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 90, n. 13, p. 3652–3659, 2003.

ELVIRA, C.; FANOVICH, A.; FERNÁNDEZ, M.; FRAILE, J.; SAN ROMÁN, J.; DOMINGO, C. Evaluation of Drug Delivery Characteristics of Microspheres of PMMA-PCL-Cholesterol Obtained by Supercritical-CO<sub>2</sub> Impregnation and by Dissolution-Evaporation Techniques. **J. Control. Release**, v. 99, n. 2, p. 231–240, 2004.

ESMAEILI, B., J. CHAOUKI, et al. Nanoparticle encapsulation by a polymer via in situ polymerization in supercritical conditions. *Polymer Engineering & Science*. Vol. 52, n. 3, p. 637-642, 2012.

ESPUELAS, M. S., LEGRAND, P., IRACHE, J. M., GAMAZO, C., ORECHIONI, A. M., DEVISSAGUET, J. PH., YGARTUA, P. **Int J. Pharm.** vol. 158, p. 19, 1997.

EVCHUK, I. Y., MUSII, R. I., MAKITRA, R. G., PRISTANSKII, R. E. Solubility of polymethyl methacrylate in organic solvents. *Russ J Appl Chem.* Vol. 10, p.1576–80, 2005.

FESSI, H. et al. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, n. 1, p. R1–R4, 1989.

FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; JUNIOR GURGEL, G. D. A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 24 [ 2 ]: 381-400, 2014.

FONSECA, J. M. S.; DOHRN, R.; PEPPER, S. High-pressure fluid-phase equilibria: Experimental methods and systems investigated (2005-2008). **Fluid Phase Equilibria**, v. 300, n. 1–2, p. 1–69, 2011.

FUNDUEANU, G.; CONSTANTIN, M.; BORTOLOTTI, F.; BORTOLOTTI, P.; CORTESI, R.; MENEGATTI, E. Preparation and characterisation of thermoresponsive poly [N- isopropylacrylamide-co-acrylamide-co-(hydroxyethyl acrylate)] microspheres as a matrix for the pulsed release of drugs. **Macromolecular Bioscience**, v. 5, n. 10, p. 955–964, 2005.

GALIA, A.; GIACONIA, A.; IAIA, V.; FILARDO, G. Synthesis of hydrophilic polymers in supercritical carbon dioxide in the presence of a siloxane-based macromonomer surfactant: Heterogeneous polymerization of 1-vinyl-2 pyrrolidone. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 42, n. 1, p. 173–185, 2004.

GALLARDO, M. M, COUARAZE, G., DENIZOT, B., TREUPEL L., COUVREUR, P., PUISIEUX, F., **Int. J. Pharm.** vol. 100, p. 55, 1993.

GOMBOTZ, W. R.; PETTIT, D. K. Biodegradable Polymers for Protein and Peptide Drug Delivery. **Bioconjugate Chemistry**, v. 6, n. 4, p. 332–351, 1995.

GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 3, p. 486–492, 2007.

GONZALES-PADILHA, E., RUIZ, R., LEFEVER, D., DENHAM, A., WILTBANK, J.N. Puberty in Beef Heifers. III. Induction of Fertile Estrus. **Journal Animal Sciencel.** vol. 40, p. 1110-1118, 1975.

GOPALAKRISHNAN, S.; MATHEW, T. A.; MOZETIČ, M.; JAYACHANDRAN, J. P.; JOSE, J.; THOMAS, S.; KALARIKKAL, N. Development of biocompatible and biofilm-resistant silver-poly(methylmethacrylate) nanocomposites for stomatognathic rehabilitation. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 69, n. 3, p. 186–199, 2020.

GRIGNARD, B.; JÉRÔME, C.; CALBERG, C.; JÉRÔME, R.; WNAG, W.; HOWDLE, S. M.; DETREMBLEUR, C. Dispersion atom transfer radical polymerization of vinyl monomers in supercritical carbon dioxide. **Macromolecules**, v. 41, n. 22, p. 8575–8583, 2008.

GUO, C.; ZHOU, L.; JIANXIO L. V. Effects of expandable graphite and modified ammonium polyphosphate on the flame-retardant and mechanical properties of wood flour-polypropylene composites. **Polymers and Polymer Composites**, v. 21, n. 7, p. 449–456, 2013.

HALDORAI, Y.; ZONG, T.; SHIM, J. J. Crystallization behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 116, n. 5, p. 2658–2667, 2010.

HAN, S., PARK, K., & LEE, S. Polymerization of Methyl Methacrylate in Carbon Dioxide Using Glycidyl Methacrylate Linked Reactive Stabilizer: Effect of Pressure. Reaction Time and Mixing. Vol. 17, n. 1, p. 51–57, 2009.

HANS, M.; LOWMAN, A. A dual-responsive mesoporous silica nanoparticle for tumor-triggered targeting drug delivery for drug delivery and targeting. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 6, n. 4, p. 319–327, 2002.

HARADA, M.; KURAMITSUA, K.; KIMURAB, Y.; SAIJO, K. In situ observation of formation of silver particles in water-in-scCO<sub>2</sub> emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 327, n. 1–3, p. 21–33, 2008.

HERTZ, A.; SARRABE, S.; GUIZARD, C.; JULBE, A. Synthesis and encapsulation of yttria stabilized zirconia particles in supercritical carbon dioxide. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 26, n. 7, p. 1195–1203, 2006.

HERTZ, A.; SARRADE, S. GUIZARD, C.; JULBE, A.; RUIZ, J-C.; FOURNEL, B. Synthesis and encapsulation with a polymer, of nanophase YSZ particles in supercritical CO<sub>2</sub>. **Reviews on Advanced Materials Science**, v. 10, n. 2, p. 176–180, 2005.

JAGER, Eliézer. Controle da liberação do éster etílico de indometacina a partir de nanocápsulas poliméricas através da variação da concentração do monoesterato de sorbitano. 2008. 113 p. Dissertação –Programa de Pós graduação em ciências Farmacêuticas –Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

JOHNSON, B. A., KREUTER, J., ZOGRAFI, G. Effects of surfactants and polymers on advancing and receding contact angles. **Colloids Surf.** Vol. 17, p. 325–42, 1986.

JOHNSSON, M.; Barauskas, J.; Norlin, A.; Tiberg, F. Physicochemical and drug delivery aspects of lipid-based liquid crystalline nanoparticles: A case study of intravenously administered propofol. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 6, n. 9–10, p. 3017–3024, 2006.

JUNG, Jennifer; PERRUT, Michel. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 20, n. 3, p. 179–219, 2001.

KAPOOR, D. N.; BHATIA, A.; KAUR, R.; SHARMA, R.; KAUR, G.; DHAWAN, S. PLGA: A unique polymer for drug delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 6, n. 1, p. 41–58, 2015.

KEMMERE M.F. and MEYER, T. Eds., *Supercritical Carbon Dioxide*, Weinheim, 2005.  
KIM, J. H.; PAXTON, T. E.; TOMASKO, D. L. Microencapsulation of naproxen using rapid expansion of supercritical solutions. **Biotechnology Progress**, v. 12, n. 5, p. 650–661, 1996.

KLEIN, S. M.; MANOHARAN, V. N.; PINE, D. J.; LANGE, F. F. Preparation of monodisperse PMMA microspheres in nonpolar solvents by dispersion polymerization with a macromonomeric stabilizer. **Colloid and Polymer Science**, v. 282, n. 1, p. 7–13, 2003.

KREUTER, J. Neue adjuvantien auf polymethylmethacrylatbasis. Dissertation ETH Zurich, Nr. 5417, 1974.

KREUTER, J., LIEHL, E. Protection induced by inactivated influenza vaccines with polymethylmethacrylate adjuvants. **Med Microbiol Immunol**, Vol. 165, p. 111–17, 1978.

KREUTER, J., MAULER, R., GRUSCHKAU, H., SPEISER, P. P. The use of new polymethylmethacrylate adjuvants for split influenza vaccines. **Exp Cell Biol**. Vol 44, p. 12–9, 1976.

KREUTER, J., SPEISER, P. In vitro studies of poly (methyl methacrylate) adjuvants. **J Pharm Sci**. Vol 65, p.1624–7, 1976b.

KREUTER, J., SPEISER, P. New adjuvants on a polymethylmethacrylate base. **Infect Immun**. Vol. 13, p. 204–10, 1976a.

LAMBERT, G., FATTAL, E., PINTO-ALPHANDARY, H., GULIK, A., COUVREUR P. **Pharm. Res**. vol. 17, p. 707, 2000.

LANZA, M. **Comportamento de fases dos óleos de oliva, soja e mamona em n-butano e propano e alta pressão.** Dissertação de Mestrado. Erechim, RS, Brasil: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, 2004.

LEGRAND, P., LESIEUR, S., BOCHOT, A., GREF, R., RAATJES, W., BARRATT, G., VAUTHIER, C. *Int. J. Pharm.* Vol. 344, p. 33, 2007.

LEITE, Aurilúcia A.L; LEITE, Cleber A.; NOGUEIRA, Vanessa F. **Padronização da técnica utilizada no preparo de resina á base de uréia formaldeído para aulas práticas de química.** Vol. II, Nº. 3, Ano 2008.

LENAERTS, V., LABIB, A., CHOINARD, F., ROUSSEU, J., ALI, H., VAN LIER, J., **Eur. J. Pharm. Biopharm.** vol. 41, p. 38, 1995.

LIMAYEM B. I.; CHARCOSSET C.; SFAR S.; FESSI H. Preparation and characterization of spironolactone-loaded nanocapsules for paediatric use. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 325, p. 124–131, 2006.

LÓPEZ-DOMÍNGUEZ, P.; RIVERA-PELÁEZ, J. E. JARAMILO-SOTO, G.; BARRAGÁN-AROCHE, J. F.; VIVALDO-LIMA, E. Modeling of RAFT polymerization of MMA in supercritical carbon dioxide using the PC-SAFT equation of state. **Reaction Chemistry and Engineering,** v. 5, n. 3, p. 547–560, 2020.

LU, S.; ZHANG, Z.; NAWABY, V.; DAY M. A kinetic investigation of their situ polymerization of methyl methacrylate under supercritical fluid CO<sub>2</sub> conditions using high-pressure DSC. **Journal of Applied Polymer Science,** v. 93, n. 3, p. 1236–1239, 2004.

MACHADO, F., LIMA, E. L., PINTO, J. C. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polímeros,* Vol. 17, n. 2, p. 166–179, 2007.

MAITZ, M. F. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. **Biosurface and Biotribology,** v. 1, n. 3, p. 161–176, 2015.

MANO, E. B., MENDES, L. C. Introdução a Polímeros. p. 208, 2004.

MARCHAIS, H., BENALI, S., IRACHE, J. M., THARASSE-BLOCH, C., LAFONT, O., ORECCHIONI, A. M. Drug Dev. Ind. Pharm. Vol. 24, p. 883, 1998.

MATSUYAMA, K.; HAYASHI, K.; ISHIKAWA, H.; MATSUYAMA, H.; HARADA, T. Formation of microcapsules of medicines by the rapid expansion of a supercritical solution with a nonsolvent. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 89, n. 3, p. 742–752, 2003.

MCALLISTER, Thomas D.; FARRAND, Louise D.; HOWDLE, Steven M. Improved Size Control for the Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate in Supercritical Carbon Dioxide. **Macromolecular Chemistry and Physics**, p. 1–8, 2016.

MCHUGH, M. A., LORA, M. Phase behavior and modeling of the poly\_methyl methacrylate – CO<sub>2</sub> – methyl methacrylate system. Fluid Phase Equilibria. Vol. 157, p. 285–297, 1999.

MEEHAN, E., SAUNDERS, G., TRIBE, K. High performance GPC analysis for reliable polymer characterization. **The Applications Books**, p. 1-2, 2003.

MENDES, A. N.; HUBBER, I.; SIQUEIRA, M.; BARBOSA, G. M.; MOREIRA, D. L.; HOLANDINO, C.; PINTO, J. C.; NELE, M. Preparation and cytotoxicity of poly (methyl methacrylate) nanoparticles for drug encapsulation. **Macromolecular Symposia**, [S. l.], v. 319, n. 1, p. 34–40, 2012.

MESTIRI, M., PUISIEUX, F., BENOIT, J. P. Preparation and characterization of cisplatin-loaded polymethyl methacrylate microspheres. **Int J Pharm**. Vol. 89, p. 229–34, 1993.

MISHIMA, K.; MATSUYAMA, K.; TANABE, D.; YAMAUCHI, S.; Young, T. J.; JOHNSTON, P.J. Microencapsulation of proteins by rapid expansion of supercritical solution with a nonsolvent. **AIChE Journal**, v. 46, n. 4, p. 857–865, 2000.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification-diffusion methods: Critical comparison. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 163, n. 2, p. 90–122, 2011.

MUELLER, P. A.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M. The reaction locus in supercritical carbon dioxide dispersion polymerization. the case of poly (methyl methacrylate). **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 2, p. 377–397, 2005a.

MURR, L. E. **Materials Characterization**. Vol. 60, p. 397, 2009.

NAGAVARMA, B. V. N. et al. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, n. SUPPL. 3, p. 16–23, 2012.

NEILL, M. L. O.; YATES, M. Z.; JOHNSTON, K. P. Dispersion Polymerization in Supercritical CO<sub>2</sub> with a Siloxane-Based Macromonomer: 1. **The Particle Growth Regime**, v. 9297, n. 97, p. 2838–2847, 1998.

NEILL, M. L.; YATES, M. Z.; JOHNSTON, K. P.; SMITH, C. D.; WILKINSON, S. P. Dispersion polymerization in supercritical CO<sub>2</sub> with siloxane-based macromonomer. 2. The particle formation regime. **Macromolecules**, v. 31, n. 9, p. 2848–2856, 1998.

ODIAN, G. **Principles of Polymerization**. New York: Wiley Interscience, 2004.

OLIVEIRA, E. C.P.; LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G.B. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 14–23, 2006.

OLIVEIRA, M. A. M.; NELE, M.; PINTO, J. C. Polimerização RAFT em miniemulsão. **Polimeros**, v. 23, n. 6, p. 784–797, 2013.

OLIVEIRA, M. P. Síntese de novos estabilizantes poliméricos do tipo poli(álcool vínfilco-co-neo decanoato de vinila) para utilização na copolimerização em miniemulsão do acetato de vinila (VAc) com o neo-nonanoato de vinila (VEOVA-9). p. 268, 2010.

OLIVEIRA, P. F.; Machado, R. A. F.; Barth, D.; Acosta, E. D. Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide using vinyl terminated poly (dimethylsiloxane). **Chemical Engineering & Processing: Process Intensification**, vol. 103, p. 46–52, 2016.

PARK, Jin-Yeol., SHIM, Jae-Jin. Emulsion stability of PMMA particles formed by dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide, *J. of Supercritical Fluids*. Vol. 27, p. 297-307, 2003.

PASCOAL, D. R.C.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C.M.; VELOZO, E. S.; DE SOUSA, H. C.; DE MELO, S. A.B.Vieira; BRAGA, M. E.M. Copaiba oil-loaded commercial wound dressings using supercritical CO<sub>2</sub>: A potential alternative topical antileishmanial treatment. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 129, p. 106–115, 2017.

PASQUEL REÁTEGUI, J. L.; BARRALES, F. M.; REZENDE, C. A.; QUEIROGA, C. L.; MARTÍNEZ, J. Production of Copaiba oleoresin particles from emulsions stabilized with modified starches. **Industrial Crops and Products**, v. 108, n. May, p. 128–139, 2017.

PEDROSA, R. C.; YUNES, R. A.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química nova**, vol. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

PERRUT, Michel. Supercritical fluid applications: Industrial developments and economic issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39, n. 12, p. 4531–4535, 2000.

PETITTI, M.; VANNI, M.; BARRESI, A. A. Controlled release of drug encapsulated as a solid core: Theoretical model and sensitivity analysis. **Chem. Eng. Res. Des.**, v. 86, p.1294–1300, 2008.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A.S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): Histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 465–472, 2009

PIERI, F.A. **Efeito (in vitro/ in vivo) do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães (*Canis lupus Familiaris*)**. 2007. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, 2007.

PINTO REIS, C.; NEUFELD, R. J.; RIBEIRO, A. J.; VEIGA, F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. vol. 2, n. 1, p. 8–21, 2006.

QUADIR, M. A.; DESIMONE J. M.; VAN HERK, A. M.; GERMAN, A. L. Pulsed-laser polymerization of methyl methacrylate in liquid and supercritical carbon dioxide. **Macromolecules**, [S. l.], v. 31, n. 19, p. 6481–6485, 1998.

QUINTANAR-GUERRERO, D., ALLEMANN, E.; FESSI, H. & DOELKER, E. **Drug Dev. Ind. Pharm.** vol. 24, p. 1113, 1998.

RAO, J. P., GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. **Progr Polym Sci**. vol. 36, p. 887–913, 2011.

REBELATTO, E. A. **Equilíbrio de Fases de Sistemas Contendo Dióxido de Carbono,  $\omega$ -Pentadecalactona e Cossolventes em Altas Pressões: Dados Experimentais e Modelagem Termodinâmica**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

REBELATTO, E. A. et al. High-pressure phase equilibrium data for the (carbon dioxide+l-lactide+ethanol) system. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 86, p. 37–42, 2015.

REVERCHON, E., ADAMI, R., CARDEA, S., DELLA PORTA, G. Supercritical fluids processing of polymers for pharmaceutical and medical applications. Review. **Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 47, p. 484-492, 2009.

RICHEZ, A. P.; YOW, H. N.; BIGGS, S.; CAYRE, O. J. Dispersion polymerization in non-polar solvent: Evolution toward emerging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 6, p. 897–931, 2013.

ROSELL, A.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M.; BRATTON, D.; HOWDLE, S. M. Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide using a silicone-containing fluoroacrylate stabilizer. **Polymer International**, v. 54, n. 12, p. 1660–1668, 2005.

SÁENZ, J. M. & ASUA, J. M. Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. Vol. 153, p.61, 1999.

SAHU, A.; SOLANKI, P.; MITRA, S. Curcuminoid-loaded poly (methyl methacrylate) nanoparticles for cancer therapy. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 101–105, 2018.

SAKUMA, S., SUZUKI, N., KIKUCHI, H., HIWATARI, K. I., ARIKAWA, K., KISHIDA, A., AKASHI, M. **Int. J. Pharm.** vol. 149, p. 93, 1997.

SANTANA, Santana Rodrigues; BIANCHINI-PONTUSCHKA, Rute; HURTADO, Fernanda Bay; DE OLIVEIRA, Cristiana Aparecida; MELO, Lucinei Pereira Rodrigues; DOS SANTOS, Geovanni Jesus. Uso medicinal do óleo de copaíba (Copaifera sp.) por pessoas da melhor idade no município de Presidente Médici, Rondônia, Brasil. **Acta Agronomica**, v. 63, n. 4, p. 361–366, 2014.

SANTOS-MAGALHÃES, N. S., PONTES, A., PEREIRA, V. M. W., CAETANO, M. N. P. **Int. J. Pharm.** vol. 208, p. 71, 2000.

SCHADE, V.L., ROUKIS, T. S. Role of polymethylmethacrylate antibiotic-loaded cement in addition to debridement for the treatment of soft tissue and osseous infections of the foot and ankle. *J Foot Ankle Surg.* Vol. 49, p. 55–62, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R., POHLMANN, A. R., DE LUCCA FREITAS, L., GUTERRES, S. S. **Acta Farm. Bonaerense**, vol. 21, p. 99, 2002.

SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A.; MALMONGE, S. M.; SOUTO, E. B. Polímeros Usados como Sistemas de Transporte de Princípios Ativos. **Polimeros**, v. 21, n. 5, p. 361–368, 2011.

SHAHANI, K.; SWAMINATHAN, S. K.; FREEMAN, D.; BLUM, A.; MA, L.; PANYAM, J. Injectable sustained release microparticles of curcumin: A new concept for cancer chemoprevention. **Cancer Research**, v. 70, n. 11, p. 4443–4452, 2010.

SHEKUNOV, B. Y., CHATTOPADHYAY, P., SEITZINGER, J., HUFF, R. Methods and apparatus for producing composite particles using supercritical fluid as plasticizing extracting agent, **PCT Int. Appl.** (2005) WO2005/005010.

SHEKUNOV, B. Y., CHATTOPADHYAY, P., SEITZINGER, J., HUFF, R. Nanoparticles of poorly water-soluble drugs prepared by supercritical fluid extraction of emulsions. **Pharm Res.** V. 23, n. 1, p. 196-204, 2006.

SILVA, C. V. **Impregnação/Deposição de Agentes Bioativos em Curativos Poliméricos Usando CO<sub>2</sub> Supercrítico.** Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, 2018.

SIVAKUMAR, M., RAO, P. K. Synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate) functional microspheres. *React Funct Polym*, Vol. 46, p. 29–37, 2000.

SOLOMONS, T. W. GRAHAM, FRYHLE, CRAIG B. **Química orgânica.** Vol.1. 8.ed. RIO DE JANEIRO: LTC, p. 715, 2005.

SOPPIMATH, K.S., AMINABHAVI, T.M., KULKARNI, A.R., RUDZINSKI I, W.E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release.** vol. 70, n. 1–2, p. 1–20, 2001.

SOUTO, E. B., SEVERINO, P., SANTANA, M. H. A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados: parte II. **Polímeros.** vol. 22, n. 1, p. 101–106, 2012.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir da polimerização de monômeros: parte I. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 96–100, 2012b.

STICKLER, M., RHEIN, T. Polymethacrylates. In: Elvers B, Hawkins S, Schultz G, eds. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Vol. 421, New York: VHS, p. 473. 1992.  
TATSUYA, S. Production of antimicrobial spherical resin particle. **European Patent JP**. Vol. 70, 1995.

UZUN, Nimet I.; AKGÜN, Mesut; BARAN, Nil; DENIZ, Sennur; DINÇER, Salih. Methyl Methacrylate + Carbon Dioxide Phase Equilibria at High Pressures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 50, n. 4, p. 1144–1147, 2005.

VALDEVITE, L.M. et al. Study of the in vitro effect of copaíba oil upon virulence factors of the cariogenic bacterium *Streptococcus mutans*. In: **IUBMB CONFERENCE, 36., REUNIÃO ANUAL DA SBBQ**, 10., 2007. Salvador. Anais... São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2007.

VEIGA, V. F.; ROSAS, E. C.; CARVALHO, M. V.; HENRIQUES, M. G. M. O.; PINTO A. C. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne-A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 248–254, 2007.

VEIGA, V. F.; ZUNINO L.; CALIXTO, J. B.; PATITUCCI M. L.; PINTO, A. C. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 6, p. 476–480, 2001.

VERONESE, F. M.; MARSILIO, F.; CALICETI, P.; DE FILIPPIS, P.; GIUNCHEDI, P.; LORA S. Polyorganophosphazene microspheres for drug release: Polymer synthesis, microsphere preparation, in vitro and in vivo naproxen release. **Journal of Controlled Release**, v. 52, n. 3, p. 227–237, 1998.

WHEATLEY, M. A. & LEWANDOWSKI, J. Mol. Imaging. Vol 9, p. 96, 2010.

XU, Qun; HAN, Buxing; YAN, Haike. Precipitation polymerization of methyl methacrylate in tetrahydrofuran with compressed CO<sub>2</sub> as antisolvent. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 88, n. 10, p. 2427–2433, 2003.

YASUJI, Takehiko; TAKEUCHI, Hirofumi; KAWASHIMA, Yoshiaki. Particle design of poorly water-soluble drug substances using supercritical fluid technologies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 3, p. 388–398, 2008.

YUE, I. C. et al. A novel polymeric chlorhexidine delivery device for the treatment of periodontal disease. **Biomaterials**, vol. 25, p. 3743–3750, 2004.

ZANETTI, F. L. P., TOMÉ, F. M. Estudo teórico a eficiência e vantagens da encapsulação de fármacos em ciclodextrinas. **IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, p. 128–130, 2005.

ZHANG, H. T.; Huang, H.; Sun, R.; Huang, J. X. Preparation of micron-size monodispersed PS/P(St/MAA) microspheres by seeded dispersion polymerization. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 99, n. 6, p. 3586–3591, 2006.

ZHANG, Z. Q., SHEN, Q., ZHANG, Y., YAO, Y. M., LIN, J., INORG. CHEM.COMMUN. Vol. 7, p. 305, 2004.

ZWOLAK, G.; LIOE, L.; LUCIEN, F. P. Vapor-liquid equilibria of carbon dioxide + methyl methacrylate at 308, 313, 323, and 333 K. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 4, p. 1021–1026, 2005.

## **APÊNDICES**

## Apêndice A 1. Lista de Publicações

[1] SANTOS, T. M. M.; CHAVES, B. B.; CERQUEIRA, J. S.; CANÁRIO, M. M.; BRESOLIN, D.; PINTO, J. C.; MACHADO, R. A. F.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C. M.; VIEIRA DE MELO, S. A. B. Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical CO<sub>2</sub>: A preliminar evaluation of in-situ incorporation of copaiba oil. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, p. 9398-9407, 2020.

[2] SANTOS, T.M.M.; REBELATTO, E.A.; CHAVES, B.B.; LANZA, M.; OLIVEIRA, J.V.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.C.M.; VIEIRA DE MELO, S.A.B. High pressure phase equilibrium data for carbono dioxide, methyl methacrylate and poly (dimethylsiloxane) systems. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 346-352, 2019.

[3] CHAVES, B. B.; SANTOS, T. M. M.; CANARIO, M. M.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C. M.; VIEIRA DE MELO, S. A. B. Polimerização de metacrilato de metila por dispersão em CO<sub>2</sub> supercrítico: efeito da concentração do surfactante e monômero no tamanho da partícula do polimetacrilato de metila. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, v. 1, São Paulo: ABEQ, 2018.

[4] SANTOS, T. M. M.; CERQUEIRA, J. S.; CANARIO, M. M.; PINTO, J. C.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C. M.; VIEIRA DE MELO, S. A. B. Production of PMMA particles by dispersion polymerization in supercritical CO<sub>2</sub>. **16th European Meeting on Supercritical Fluids**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2017.

[5] CERQUEIRA, J. S.; LYRA, V. M. O. B.; SANTOS, T. M. M.; WAY, D. V.; PINTO, M. C. C. ; PINTO, J. C.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C. M.; VIEIRA DE MELO, S. A. B. Equilíbrio líquido-vapor do sistema dióxido de carbono + ácido metacrílico a alta pressão. **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, v.1, Fortaleza, 2016.

[6] SANTOS, T. M. M.; CERQUEIRA, J. S.; LYRA, V. M. O. B.; WAY, D. V. ; PINTO, M. C. C.; PINTO, J. C.; COSTA, G. M. N.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C. M.; VIEIRA DE MELO, S. A. B. High-pressure phase transition of methyl methacrylate, sodium lauryl sulfate and carbon dioxide systems. **IV Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids**, v. 1, Viña del Ma, 2016.

## Apêndice A 2. Cálculo das frações molares usadas para o Equilíbrio de Fases

A densidade e volume do CO<sub>2</sub>, em condições fixas de T= 7 °C e P=150 bar, foi obtida através de NIST Chemistry Webbook (NIST, 2020),

Onde:

$$\rho = 0,968 \text{ g/mL}$$

$$m = 6,44 \text{ mL}$$

$$\rho = \frac{m}{v} \rightarrow 0,968 \text{ g/mL} = \frac{m}{6,44 \text{ mL}} \rightarrow m = 6 \text{ g de CO}_2$$

Para a proporção de:

50% m/m de CO<sub>2</sub>

50% m/m de MMA

Temos:

Número de mols de monômero alimentado:

$$n = \frac{m}{MM} = \frac{6 \text{ g}}{100,12 \text{ g}} = 0,05993 \text{ g}$$

Número de mols de CO<sub>2</sub> alimentado:

$$n = \frac{m}{MM} = \frac{6 \text{ g}}{44,01 \text{ g}} = 0,13646 \text{ g}$$

$$n_T = n_{\text{CO}_2} + n_{\text{MMA}} \rightarrow n_T = 0,19639 \text{ mol}$$

$$X_{\text{CO}_2} = \frac{n_{\text{CO}_2}}{n_{\text{MMA}}} = \boxed{X_{\text{CO}_2} = 0,6949}$$

$$X_{\text{CO}_2} + X_{\text{MMA}} = 1 \rightarrow X_{\text{MMA}} = 1 - X_{\text{CO}_2} \rightarrow X_{\text{MMA}} = 1 - 0,6949 \rightarrow \boxed{X_{\text{MMA}} = 0,3051}$$

$$\boxed{W_1 = 0,6949}$$

$$\boxed{W_2 = 0,3051}$$

**Apêndice A 2.1: Valores das frações molares para o sistema binário CO<sub>2</sub> + MMA, obtidos através da base do cálculo do apêndice A1**

<b>0,7624</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,5850
	Volume CO <sub>2</sub>	7,28 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	7,049 g	W <sub>2</sub> =0,4150
	Massa MMA	5 g	

<b>0,8211</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,6687
	Volume CO <sub>2</sub>	8,34 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	8,0751 g	W <sub>2</sub> =0,3313
	Massa MMA	4 g	

<b>0,8618</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,7326
	Volume CO <sub>2</sub>	8,49 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	8,22 g	W <sub>2</sub> =0,2674
	Massa MMA	3 g	

<b>0,8997</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,7976
	Volume CO <sub>2</sub>	10 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	9,6824 g	W <sub>2</sub> =0,2024
	Massa MMA	2,4563 g	

<b>0,9250</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,8443
	Volume CO <sub>2</sub>	10,54 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	10,505 g	W <sub>2</sub> =0,1557
	Massa MMA	1,8826 g	

<b>0,9499</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,8929
	Volume CO <sub>2</sub>	11,07 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	10,72 g	W <sub>2</sub> =0,10709
	Massa MMA	1,2856 g	

**Apêndice A 2.2: Valores das frações molares para o sistema ternário CO<sub>2</sub> + MMA + PDMS-V, obtidos através da base do cálculo do apêndice A1**

<b>0,6833</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,4868
	Volume CO <sub>2</sub>	6 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	5,8094 g	W <sub>2</sub> =0,4619
	Massa MMA	5,5115 g	
	Massa PDMS-V	0,6124 g	W <sub>3</sub> = 0,0513

<b>0,7470</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,5647
	Volume CO <sub>2</sub>	6,85 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	6,6324 g	W <sub>2</sub> =0,3918
	Massa MMA	4,5997 g	
	Massa PDMS-V	0,5111 g	W <sub>3</sub> = 0,0435

<b>0,7924</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,6266
	Volume CO <sub>2</sub>	8 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	7,7459 g	W <sub>2</sub> =0,3361
	Massa MMA	4,1549 g	
	Massa PDMS-V	0,4617 g	W <sub>3</sub> = 0,0373

<b>0,8243</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,6734
	Volume CO <sub>2</sub>	8,5 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	8,2300 g	W <sub>2</sub> =0,2939
	Massa MMA	3,5906 g	
	Massa PDMS-V	0,3990 g	W <sub>3</sub> = 0,0327

<b>0,8591</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,7282
	Volume CO <sub>2</sub>	9,11 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	8,8207 g	W <sub>2</sub> = 0,2446
	Massa MMA	2,9606 g	
	Massa PDMS-V	0,3289 g	W <sub>3</sub> = 0,0272

<b>0,8800</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,7633
	Volume CO <sub>2</sub>	9,68 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	9,3726 g	W <sub>2</sub> = 0,2130
	Massa MMA	2,6158 g	
	Massa PDMS-V	0,2906 g	W <sub>3</sub> = 0,0237

<b>0,8993</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,7970
	Volume CO <sub>2</sub>	10,44 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	10,1084 g	W <sub>2</sub> = 0,1827
	Massa MMA	2,3187 g	
	Massa PDMS-V	0,2576 g	W <sub>3</sub> = 0,0203

<b>0,9243</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,8430
	Volume CO <sub>2</sub>	10,98 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	10,6313g	W <sub>2</sub> = 0,1413
	Massa MMA	1,7816 g	
	Massa PDMS-V	0,1979 g	W <sub>3</sub> = 0,0157

<b>0,9444</b>	Densidade CO <sub>2</sub>	0,968 g/mL	W <sub>1</sub> = 0,8819
	Volume CO <sub>2</sub>	11,39 mL	
	Massa CO <sub>2</sub>	11,0283 g	W <sub>2</sub> = 0,1063
	Massa MMA	1,3302 g	
	Massa PDMS-V	0,1478 g	W <sub>3</sub> = 0,0118

**UFBA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**ESCOLA POLITÉCNICA**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
INDUSTRIAL - PEI**

Rua Aristides Novis, 02, 6º andar, Federação, Salvador BA  
CEP: 40.210-630  
Telefone: (71) 3283-9800  
E-mail: [pei@ufba.br](mailto:pei@ufba.br)  
Home page: <http://www.pei.ufba.br>

