

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA  
Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales  
Doctorado en Ciencias de la Ingeniería

Tesis doctoral



Desarrollo de materiales bioactivos con potencial  
aplicación odontológica mediante impregnación asistida  
por CO<sub>2</sub> supercrítico

*Autor:* Ing. José E. Mosquera Ruiz

*Director:* Dr. Nicolás A. Gañán

Noviembre 2021

Desarrollo de materiales bioactivos con potencial  
aplicación odontológica mediante impregnación asistida  
por CO<sub>2</sub> supercrítico

*Por*

Ing. Químico: José E. Mosquera Ruiz

Dr. Nicolás A. Gañán  
Director

*Comisión asesora*

Dra. Raquel Evangelina Martini  
FCEFyN – UNC

Dra. María Laura Goñi  
(IPQA) UNC - CONICET

Dr. Nicolás Alberto Gañán  
FCEFyN – UNC

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias de la Ingeniería, de la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba



Universidad Nacional de Córdoba  
Posgrado - Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

### ACTA DE EXAMEN

Libro: E2021 Acta: 00292 Hoja 01/01  
LLAMADO: Llamado del Turno P10-(209)\_TESIS 29/11/2021  
CATEDRA - MESA: 29/11/2021 MOSQUERA RUIZ

(P10-DI002) TESIS DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERIA

NÚMERO	APELLIDO Y NOMBRE	DOCUMENTO	INGR.	COND.	NOTA	FIRMA
1073813085	MOSQUERA RUIZ, JOSE EULISER	CC 1073813085	2017		A (Aprobado)	

MAESTRI, DAMIAN - OLDANI, CARLOS R. -

Observaciones:

Córdoba, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_-.

Certifico que la/s firma/s que ha/n sido puesta/s en la presente Acta pertenece/n a: \_\_\_\_\_

1	0	1	0	1
Inscriptos	Ausentes	Examinados	Reprobados (0-3)	Aprobados (4-10)

30/11/2021 10.52.47

Libro/Acta: E202100292

Hoja 01/01

*A Elizabeth y Benjamín  
Por su amor y apoyo incondicional*

## Agradecimientos

Para mí es muy grato y emotivo agradecer a todas esas personas que directa o indirectamente tuvieron un impacto significativo no solo en el desarrollo de esta tesis sino también durante mi estancia en Córdoba, Argentina.

En primer lugar, quiero agradecer A mis directores Nicolás Gañán, Raquel Martini y Laura Goñi por su dedicación, amistad y orientación. Muchas gracias por su confianza y aliento durante este trabajo.

También quiero agradecer al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por su apoyo técnico y financiero durante el desarrollo de esta tesis doctoral. A el Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos y Química Aplicada por permitirme ser parte de este grupo de investigación y prestarme las herramientas necesarias para el desarrollo de este trabajo. A la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales por dejarme utilizar sus equipos e instalaciones durante el curso de esta investigación y a el Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos (ICTA) por brindarme ese espacio técnico donde realicé la mayoría de mis experimentos de investigación.

Al grupo IDTQ, por el compañerismo y el clima de trabajo agradable, que siempre se reflejaron en las juntadas de almuerzo, “cafecito” en las oficinas y fiestas de inicio y fin de año... ¡se extrañan!

A Juan Milanesio por brindarme su ayuda y su conocimiento en el manejo y construcción de equipos de alta presión. Por el tiempo compartido y las charlas amenas durante la construcción de “engendros”.

A mis amigos Flor, Gerardo y Juan por su amistad incondicional durante toda mi estancia en la argentina.

A Abel López por su apoyo técnico durante los experimentos microbiológicos que fueron de gran ayuda en el desarrollo de este trabajo.

A la Familia Ibarra-Moná y en especial a mi primo Miller por su gran apoyo y confianza desde la distancia.

Por último, quiero hacer un agradecimiento especial a la familia Mosquera-Ruiz, a mis padres Elizabeth y Benjamín por su amor y educación, a mis hermanos Juan, Eliana, Jesús, Rafa por todo su apoyo incondicional.

## Resumen

En esta tesis se estudió el proceso de incorporación de eugenol en fibras de poliamida 6 (PA6) mediante la impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico para desarrollar un material con propiedades antimicrobianas con una potencial aplicación odontológica. Para este propósito, se construyó un equipo de alta presión en el que se llevaron a cabo múltiples ensayos de impregnación de eugenol y de sorción de CO<sub>2</sub> en un hilo dental comercial de PA6 en distintas condiciones de presión y temperatura (40 – 60 °C y 8 – 12 MPa). Con el fin de encontrar las mejores condiciones del proceso de impregnación, se evaluó la influencia de diferentes variables operativas (presión, temperatura, tiempo de contacto y velocidad de despresurización) sobre la cantidad de eugenol impregnada en el material. Además, se estudiaron los principales fenómenos difusivos que ocurren en el proceso de impregnación del eugenol en condiciones supercríticas. Para ello, se hicieron ensayos de cinética de sorción del CO<sub>2</sub> y del eugenol en PA6 a diferentes condiciones de presión y temperatura y se determinó el coeficiente de difusión aparente para ambas especies en este polímero. Por otra parte, se evaluaron las propiedades finales del material impregnado, analizando las propiedades mecánicas, térmicas y morfológicas del material original, presurizado con CO<sub>2</sub> e impregnado con eugenol. Adicionalmente se evaluó la actividad antimicrobiana del material impregnado frente a dos bacterias comunes (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*). Asimismo, se estudió la migración del compuesto activo impregnado en aire y en saliva artificial, obteniendo datos importantes para el potencial desarrollo de un producto comercial, como la estimación de la vida útil, el tipo de envase, y tipo de aplicación del producto. Finalmente, se hizo un diseño y dimensionamiento de un proceso industrial para la impregnación de eugenol en bobinas de fibras de PA6 en CO<sub>2</sub> supercrítico, a partir de los datos de eficiencia de impregnación y parámetros difusivos del hilo impregnado con eugenol previamente obtenidos, realizando el diseño de la bobina, el equipo impregnador y los cálculos de sus principales requerimientos de masa y energía.

**Palabras clave:** Impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc, eugenol, poliamida, coeficiente de difusión, actividad antimicrobiana

## Abstract

In this work, the supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation of eugenol into polyamide 6 (PA6) fibers was investigated in order to develop a solvent-free material with antimicrobial properties for a potential dental application. For this purpose, a lab-scale high-pressure experimental apparatus was built, and multiple experiments studying eugenol impregnation and CO<sub>2</sub> sorption in a commercial PA6 dental floss were conducted at different temperature and pressure conditions (40 – 60°C and 8 – 12 Mpa). The effect of different operation variables (namely pressure, temperature, contact time and depressurization rate) on impregnation loading as well as other properties of the treated material was evaluated in order to determine the best impregnation process conditions. After that, different characterizations of PA6 samples were assessed, analyzing the mechanical, thermal and morphological properties of the original, CO<sub>2</sub>-pressurized and eugenol impregnated floss. Additionally, the antimicrobial activity of the impregnated material was evaluated against two common bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*). Furthermore, the main diffusive phenomena underlying the CO<sub>2</sub> impregnation process were studied. In this sense, experiments of scCO<sub>2</sub> sorption and eugenol impregnation kinetics in PA6 were carried out at different pressure and temperature conditions and the apparent diffusion coefficients of both species in this polymer were determined. The migration of active compound from impregnated material to air and artificial saliva was also investigated. This study provided significant data for the future development of a commercial product, such as the estimation of the shelf life, and the identification of the best type of packaging, and potential applications of the final product. Finally, an industrial high-pressure process for PA6 yarn bobbins impregnation with eugenol was designed based on impregnation yield and diffusive parameter data previously obtained, including the bobbin and the high-pressure equipment sizing and design, as well as the main mass and energy requirements.

**Keywords:** supercritical CO<sub>2</sub> Impregnation, polyamide, diffusion coefficient, Eugenol, Antimicrobial activity

## Resumo

Nesta tese de doutorado, o processo de incorporação do eugenol às fibras de poliamida 6 (PA6) foi estudado por meio de impregnação supercrítica assistida por CO<sub>2</sub> para desenvolver um material com propriedades antimicrobianas com potencial aplicação odontológica. Para tanto, foi construído um equipamento de alta pressão com o qual um grande número de testes de impregnação de eugenol e sorção de CO<sub>2</sub> foram realizados em um fio dental comercial de PA6 para diferentes condições de pressão e temperatura (40-60 ° C e 8-12 MPa). Para encontrar as melhores condições para o processo de impregnação, foi estudada a influência de diferentes variáveis operacionais (pressão, temperatura, tempo de contato e velocidade de despressurização) na quantidade de eugenol impregnado no material. Além disso, foram estudados os principais fenômenos de difusão que ocorrem no processo de impregnação do eugenol em condições supercríticas. Para tanto, foram realizados testes de cinética de sorção de CO<sub>2</sub> e eugenol no PA6 em diferentes condições de pressão e temperatura, e determinado o coeficiente de difusão aparente para ambas as espécies neste polímero. Por outro lado, foram avaliadas as propriedades finais do material impregnado, analisando-se as propriedades mecânicas, térmicas e morfológicas do material original, pressurizado com CO<sub>2</sub> e impregnado com eugenol. Além disso, foi avaliada a atividade antimicrobiana do material impregnado contra duas bactérias comuns (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*). Da mesma forma, foi estudada a migração do composto ativo impregnado no ar e na saliva artificial, obtendo-se dados importantes para um potencial desenvolvimento de um produto comercial, como estimativa de vida útil, tipo de recipiente e tipo de aplicação. Finalmente, foi realizado o desenho e dimensionamento de um processo industrial para a impregnação de eugenol em carretéis de fibra PA6 em CO<sub>2</sub> supercrítico, com base nos dados de eficiência de impregnação e parâmetros de difusão do fio impregnado de eugenol previamente obtido, realizando o desenho da bobina, o equipamento de impregnação e os cálculos das suas principais necessidades de massa e energia.

**Palavras-chave:** impregnação assistida por CO<sub>2</sub>-sc, eugenol, poliamida, coeficiente de difusão, atividade antimicrobiana.

# ÍNDICE GENERAL

## CONTENIDO

1.	Capítulo 1: Introducción general.....	15
1.1	Salud y enfermedades orales .....	15
1.2	Productos naturales .....	17
1.2.1	Terpenos .....	19
1.2.2	Compuestos fenólicos.....	22
1.2.3	Alcaloides.....	24
1.3	Aceites esenciales .....	24
1.3.1	Eugenol .....	26
1.4	Técnicas de incorporación de sustancias activas en materiales poliméricos ...	28
1.4.1	Impregnación húmeda.....	28
1.4.2	Revestimiento (coating).....	29
1.4.3	Encapsulación .....	30
1.4.4	Electrospinning .....	31
1.4.5	Moldeado por evaporación de solvente (“solvent casting”).....	31
1.4.6	Extrusión .....	32
1.4.7	Impregnación con fluidos supercríticos .....	33
1.5	Objetivos y estructura de la tesis .....	33
1.5.1	Objetivo General .....	33
1.5.2	Objetivos específicos .....	33
1.6	Estructura de la tesis .....	34
2.	Capítulo 2: Fluidos supercríticos, fundamentos y aplicaciones.....	36
2.1	Fluidos supercríticos.....	36
2.2	Propiedades de los fluidos supercríticos .....	39
2.2.1	Densidad .....	39
2.2.2	Difusividad .....	40
2.2.3	Viscosidad .....	41
2.2.4	Solubilidad en fluidos supercríticos .....	42
2.2.5	Tensión superficial .....	44
2.2.6	Conductividad térmica.....	45
2.3	Aplicaciones de los fluidos supercríticos .....	45

2.3.1	Cromatografía .....	45
2.3.2	Fraccionamiento .....	46
2.3.3	Extracción.....	46
2.3.4	Reacciones .....	47
2.3.5	Precipitación y formación de partículas.....	47
2.3.6	Impregnación supercrítica (SSI) .....	49
2.3.7	Extracción rápida de soluciones supercríticas (RESS) .....	49
2.4	Conclusiones .....	50
3.	Capítulo 3: Fundamentos de la impregnación asistida por CO <sub>2</sub> supercrítico .....	52
3.1	Aspectos generales .....	52
3.2	Interacción CO <sub>2</sub> /polímero .....	56
3.2.1	Solubilidad de CO <sub>2</sub> en polímeros.....	56
3.2.2	Efecto plastificante .....	59
3.2.3	Cristalinidad de polímeros .....	59
3.2.4	Difusión de solutos en polímeros.....	60
3.3	Efecto de las condiciones de operación sobre el rendimiento de impregnación 61	
3.3.1	Efecto de la presión .....	61
3.3.2	Efecto de la temperatura .....	62
3.3.3	Velocidad de despresurización .....	63
3.3.4	Tiempo de contacto .....	64
3.4	Antecedentes de impregnación con FSC.....	65
3.5	Conclusiones .....	72
4.	Capítulo 4: Metodología .....	75
4.1	Materiales .....	75
4.1.1	Dióxido de carbono .....	75
4.1.2	Eugenol .....	75
4.1.3	Poliamida 6 .....	76
4.2	Equipo experimental de la tesis .....	78
4.2.1	Impregnador supercrítico modo batch .....	78
4.3	Procedimiento experimental de impregnación.....	81
4.3.1	Proceso de carga y ajuste de condiciones de operación .....	81
4.3.2	Descompresión del sistema y descarga del material impregnado.....	82
4.3.3	Impregnación de eugenol en muestras de hilo dental.....	83
4.3.4	Determinación de la cantidad de eugenol a cargar en la celda .....	84
4.4	Cinética de impregnación de eugenol en PA6.....	86

4.5	Cinética de sorción de CO <sub>2</sub> en PA6.....	86
4.6	Cuantificación de muestras impregnadas .....	88
4.6.1	Cuantificación de eugenol en muestras de hilo dental.....	88
4.7	Cinética de liberación en aire .....	89
4.8	Cinética de liberación en saliva artificial .....	90
4.9	Modelos matemáticos.....	92
4.9.1	Modelos empíricos.....	92
4.9.2	Modelos de difusión .....	93
4.10	Ajuste de datos .....	95
4.11	Propiedades mecánicas .....	95
4.12	Microscopía .....	96
4.13	Propiedades térmicas .....	96
4.14	Actividad microbiológica.....	96
5.	Capítulo 5: Incorporación de eugenol en fibras de hilo dental mediante la impregnación asistida por CO <sub>2</sub> supercrítico.....	99
5.1	Rendimiento de impregnación .....	99
5.1.1	Efecto de la presión .....	101
5.1.2	Efecto de la velocidad de despresurización .....	102
5.2	Cinética de sorción del CO <sub>2</sub> .....	103
5.3	Cinética de impregnación del eugenol .....	108
5.4	Conclusiones .....	113
6.	Capítulo 6: Caracterización del hilo dental impregnado con eugenol .....	116
6.1	Evidencia de incorporación de eugenol en la PA6 .....	116
6.2	Morfología de las fibras del hilo dental .....	118
6.3	Propiedades mecánicas.....	120
6.4	Análisis térmico .....	122
6.5	Cinética de liberación en aire .....	125
6.6	Cinética de liberación en saliva artificial .....	130
6.7	Actividad antimicrobiana.....	134
6.8	Conclusiones .....	135
7.	Capítulo 7: Diseño y dimensionamiento de un proceso de impregnación a escala industrial .....	138
7.1	Sistema de la planta de impregnación con CO <sub>2</sub> supercrítico para bobinas de hilo dental 140	
7.2	Diseño y dimensionamiento del equipo impregnador .....	143
7.2.1	Diseño y dimensionamiento de las bobinas de PA6.....	143

7.2.2	Diseño del recipiente de alta presión .....	145
7.2.3	Condiciones para el diseño del recipiente .....	146
7.2.4	Cálculo de espesores por presión interna.....	150
7.2.5	Ubicación óptima del soporte del recipiente .....	152
	Cálculo del centro de gravedad .....	156
7.3	Requerimientos de masa y energía .....	158
7.3.1	Masa de CO <sub>2</sub> y eugenol para el proceso de impregnación supercrítico .	158
7.3.2	Masa de eugenol.....	160
7.3.3	Flujo másico .....	163
7.3.4	Requerimientos de energía.....	163
7.3.5	Requerimientos de masa y energía de los intercambiadores de calor ...	168
7.4	Conclusiones .....	170
	TRABAJOS FUTUROS .....	172
	REFERENCIAS .....	179

# CAPÍTULO 1

---

## INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO



# 1. Capítulo 1: Introducción general

## 1.1 Salud y enfermedades orales

Las enfermedades orales se encuentran entre las más prevalentes a nivel mundial, presentando graves cargas económicas y de salud, lo que reduce en gran medida la calidad de vida de los afectados. Este tipo de enfermedades afectan desproporcionadamente a los grupos pobres y marginados de la sociedad, y están estrechamente vinculadas con el estado socioeconómico y los determinantes sociales más amplios de la salud. A pesar de ser en gran medida prevenibles, se estima que las enfermedades orales afectan a entre 3 y 5 mil millones de personas en todo el mundo, siendo la caries dental la enfermedad más común a nivel mundial con una prevalencia creciente en muchos países de ingresos bajos y medios, seguida por las enfermedades periodontales [1]. Estas afecciones, tienen efectos sustanciales, causando dolor, sepsis, calidad de vida reducida, días escolares perdidos, disminución de la productividad laboral, y los costos del tratamiento dental pueden ser considerables tanto para el individuo como para el sistema de salud. Además, están fuertemente ligadas a factores de riesgo comunes con otras enfermedades no transmisibles, tales como el consumo de azúcar, tabaco y alcohol, así como los determinantes sociales y comerciales más amplios de la salud. Las enfermedades dentales más predominantes y consecuentes a nivel mundial son la caries dental, las enfermedades periodontales, la pérdida de dientes y el cáncer de los labios y la cavidad oral [2].

La **caries dental** es la destrucción localizada de tejidos duros dentales (esmalte y dentina) por subproductos ácidos de la fermentación bacteriana de azúcares libres (definidos como monosacáridos y disacáridos, añadidos a los alimentos y bebidas por el fabricante, cocinero o consumidor) y azúcares naturales presentes en la miel, jarabes, zumos de frutas y concentrados de zumo de frutas. El proceso de caries es dinámico, con períodos alternos de desmineralización y remineralización de la estructura del diente relacionados con las fluctuaciones en el pH de la biopelícula de placa [3].

Las **enfermedades periodontales** son afecciones inflamatorias crónicas que afectan los tejidos que rodean y sostienen los dientes. Inicialmente, la enfermedad periodontal se presenta como **gingivitis**, una inflamación reversible de los tejidos blandos periodontales que produce sangrado e hinchazón gingival. En individuos susceptibles con una respuesta inmune comprometida, la gingivitis puede conducir a periodontitis, que destruye progresivamente el soporte del tejido periodontal, incluido el hueso que rodea los dientes [4,5]. La **periodontitis** se caracteriza por esta pérdida de soporte del tejido periodontal, que se manifiesta como pérdida de inserción clínica, la presencia de bolsas periodontales, sangrado gingival y pérdida ósea alveolar evaluada radiográficamente. La causa principal de la enfermedad periodontal es una mala higiene bucal que conduce a una acumulación de biopelícula microbiana (placa) patógena en y debajo del margen gingival [6].

El **cáncer oral** es una enfermedad crónica que generalmente se presenta como una úlcera que no cicatriza. Esta afección puede producirse en distintas zonas de la boca que incluyen los labios, lengua, encías, piso de la boca, paladar, membranas mucosas, vestíbulo de la boca o área retromolar, y sus síntomas pueden incluir dolor, hinchazón, sangrado y dificultad para masticar y tragar [7].

Como se mencionó anteriormente, existen diferentes enfermedades orales que afectan a la población a nivel mundial, sin embargo, en el marco de esta tesis, los estudios e investigaciones aquí presentes estarán orientados hacia las enfermedades periodontales como se verán más adelante.

Según Pihlstrom y col. [8], la mayoría de estas afecciones pueden ser prevenidas en gran medida a través de una higiene oral efectiva. El uso de dispositivos como del cepillo de dientes, hilo dental y cepillos interdentes, ayudan en gran parte a remover la placa bacteriana y el biofilm periodontal localizado alrededor de los dientes. Además, el empleo de dentífricos y enjuagues bucales, los cuales contienen elementos y compuestos activos antibacteriales, ayudan a controlar el crecimiento de bacterias y biofilms.

Por otro lado, para pacientes que padecen de este tipo de enfermedades, existen tratamientos convencionales mediante el uso de medicamentos sistémicos y tópicos como los **antisépticos** que en algunos casos suelen emplearse por vía tópica o subgingival. Son agentes que eliminan microorganismos orales que causan gingivitis, periodontitis y caries. Este tipo de compuestos no son antibióticos ni desinfectantes y se caracterizan

por no generar resistencia bacteriana. Dentro de los antisépticos comúnmente utilizados se encuentra el gluconato de clorhexidina, que suele usarse como solución al 0.12% para enjuagues bucales[9]. Por otro lado, se encuentran los **antibióticos** de uso sistémico o tópico, los cuales son los que con mayor frecuencia se utilizan para el tratamiento de las infecciones periodontales. Sin bien este tipo de medicamentos suele ser efectivos para combatir y eliminar microorganismos que causan las enfermedades periodontales, también pueden causar la aparición de microorganismos resistentes a los antibióticos y generar efectos secundarios en el cuerpo. Entre los agentes antimicrobianos más utilizados en el tratamiento de enfermedades periodontales incluyendo afecciones crónicas y agresivas, se encuentran: penicilinas, tetraciclinas, metronidazol, clindamicina y amoxicilina [10].

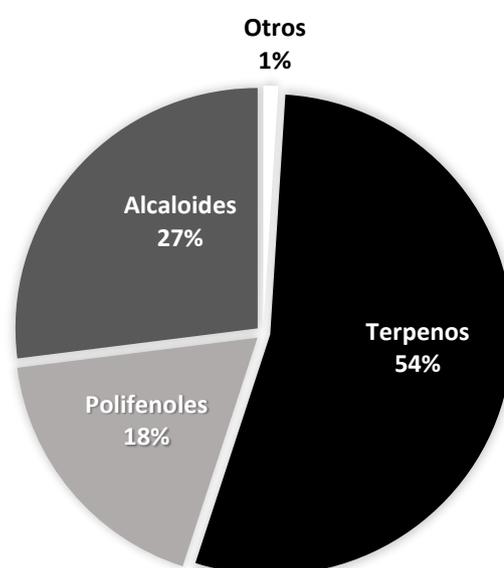
A pesar de la efectividad con que suelen funcionar estos fármacos, algunos inconvenientes pueden surgir debido a la aparición de efectos secundarios no deseados, que incluyen: cepas resistentes a los antibióticos, trastornos gastrointestinales, alergias, artropatías inducidas por quinolonas, dolor de cabeza, mareos, sabor metálico, entre otros [11].

En este sentido, los compuestos activos aislados de plantas naturales (timol, eucaliptol, eugenol, mentol, citral, etc.) con diferentes actividades farmacológicas, utilizados en la medicina tradicional, han surgido como una opción atractiva a los químicos sintéticos debido a sus efectos secundarios mínimos [12]. En consecuencia, una alternativa interesante a esta problemática es el desarrollo de materiales bioactivos mediante la incorporación de sustancias de origen natural en elementos de higiene bucal de tal manera en que se incremente el efecto preventivo de los mismos.

## 1.2 Productos naturales

Productos naturales es un término genérico asignado a aquellos compuestos (algunos de bajo peso molecular) y sus derivados aislados de plantas, animales, minerales y microbios [13]. Gran parte de estos productos provienen de microorganismo endófitos, que básicamente son aquellos que habitan en los tejidos de las plantas, estableciendo una asociación con sus huéspedes durante la mayor parte o la totalidad de su vida sin causar ningún daño aparente. Los endófitos son organismos que se caracterizan principalmente por sintetizar homólogos bioactivos y metabolitos secundarios estructuralmente

diversos, como alcaloides, benzopirranonas, quinonas, flavonoides, ácidos fenólicos, esteroides, entre otros, que imitan la estructura y función de los compuestos sintetizados por el huésped [14]. Los metabolitos secundarios son compuestos producidos por las plantas, animales, hongos y microorganismos en respuesta a necesidades adicionales al metabolismo primario, que incluyen actuar contra herbívoros, condiciones antioxidantes perjudiciales, estrés y exposición a compuestos tóxicos [15]. La biosíntesis de algunos metabolitos secundarios importantes en las plantas generalmente comienza con la ruta del ácido *shikímico*, una vía metabólica compleja utilizada por bacterias, hongos, algas, parásitos y plantas para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano)[16]. Muchos de esos compuestos han sido ampliamente estudiados por sus numerosas aplicaciones en medicina, farmacia, agricultura e industria debido a su uso como colorantes, fibras, pegamentos, aceites, ceras, agentes aromatizantes, fármacos, perfumes, insecticidas y herbicidas [17]. Según sus orígenes biosintéticos, los metabolitos secundarios en plantas se pueden clasificar en tres grupos principales: polifenoles, terpenos y alcaloides. En la Figura 1.1. se muestran los principales compuestos secundarios, junto con sus respectivas abundancias en plantas.



**Figura 1.1.** Abundancia de diferentes tipos de metabolitos secundarios en plantas (relevamiento de literatura). Adaptado de [16]

### 1.2.1 Terpenos

Los terpenoides son una gran familia de metabolitos secundarios y quizás la clase estructuralmente más variada de productos vegetales naturales. Se sintetizan a partir de la combinación de unidades de cinco átomos de carbono (C<sub>5</sub>) llamadas isopreno (ver Tabla 1.1) [18]. Los isoprenoides desempeñan una serie de funciones biológicas esenciales, que incluyen, fluidez de la membrana celular, prenilación de proteínas, transporte de electrones y el desarrollo celular. Con más de 55000 especies de terpenos aislados a partir de diferentes de plantas, animales y especies microbianas [19,20], los terpenoides son probablemente el grupo más extendido de productos naturales que muestran efectos farmacológicos significativos, como antivirales, antibacterianos, antipalúdicos, antiinflamatorios, inhibición de la síntesis de colesterol y actividades anticancerígenas (algunos ejemplos se exponen en la Tabla 1.2). Muchos terpenoides exhiben una fuerte toxicidad para los insectos, pero muy baja para los mamíferos, destacando su presencia en una gran cantidad de especias, sabores y alimentos que forman componentes esenciales de la dieta humana, en términos de la provisión de sabor y salud [21].

**Tabla 1. 1.** Clasificación de los terpenos en base al número de unidades de isopreno

No. unidades	No. C	Clase	Ejemplos
1	C <sub>5</sub>	Hemiterpeno	ácido isovalérico
2	C <sub>10</sub>	Monoterpeno	limoneno, alcanfor, mentol
3	C <sub>15</sub>	Sesquiterpeno	cariofileno, guaiazuleno
4	C <sub>20</sub>	Diterpeno	ác. abiético, taxol, carnosol
6	C <sub>30</sub>	Triterpeno	escualeno, saponinas, esteroides
8	C <sub>40</sub>	Tetraterpeno	caroteno, retinol
N	C <sub>n</sub>	Polisopreno	

Los monoterpenos y sesquiterpenos son los componentes principales de los aceites esenciales, mientras que los otros terpenos de mayor tamaño son componentes de bálsamos, resinas, ceras y caucho. Las unidades isoprenoides también se encuentran dentro del marco de otras moléculas naturales. Así, los alcaloides de indol, varias quinonas (vitamina K), alcoholes (vitamina E, vitamina A formada a partir de  $\beta$ -caroteno), fenoles y alcoholes isoprenoides (también conocidos como terpenoles o poliprenoles) también contienen fragmentos de terpenoides [20].

**Tabla 1.2.** Efectos beneficiosos para la salud de algunos monoterpenos seleccionados. (relevamiento de literatura). Adaptado de [22].

Monoterpenos	Fuente	Efecto beneficioso para la salud
Geraniol	Limoncillo, rosas	Antitumoral, antimicrobiano, antioxidante y antiinflamatorio.
Ocimeno	<i>Ocimum basilicum</i> , <i>Artemisia absinthium</i> entre otras	Cicatrización, acción antiinflamatoria, elimina o reduce el edema, hiperemia, laceración y hemorragia.
Mirceno	Myrcia, laurel, romero, cannabis, tomillo silvestre, perejil, cardamomo y lúpulo	Analgésico, antiinflamatorio, antioxidante antibacteriano, anticancerígeno
Citral	Mirto de limón, cubeba, limoncillo, limonero, <i>Ocimum gratissimum</i> , <i>Lindera citriodora</i>	Antidepresivo, antinociceptivo, antidiabético, antiulceogénico.
Limoneno	Cáscaras de cítricos	Antidepresivo, antinociceptivo, antidiabético, antiulceogénico.
Mentol	Distintas especies de menta	Antimicrobiano, radioprotector, antioxidante, analgésico, anticancerígeno
Timol	Especies de orégano, especies de tomillo	Antifúngico, antiparasitario, antiséptico, anticancerígeno
Carvacrol	Orégano, tomillo, pimienta, bergamota silvestre	Antimicrobiano, anticancerígeno
Pineno	Pino, especies de coníferas, artemisa, hierba de hierro, salvia	Antimicrobiano, anticáncer

Los monoterpenos y sesquiterpenos a menudo se clasifican según la estructura del esqueleto de carbono, que puede ser acíclico o con diversos tipos de ciclación, y según el estado de oxidación como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas o ésteres. Las Figuras 1.2 y 1.3 muestran las estructuras químicas de algunos de estos compuestos.

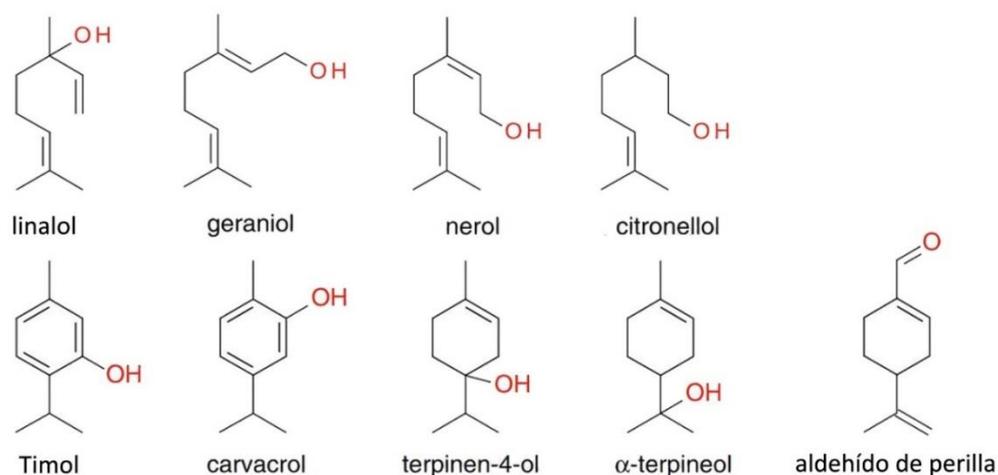


Figura 1.2. Algunas estructuras de monoterpenos acíclicos y cíclicos comunes [21].

Los **monoterpenos** son isoprenoides de diez carbonos. Este tipo de compuestos son producidos por plantas generalmente como parte de los aceites esenciales, donde pueden alcanzar hasta el 90% del aceite. A menudo son responsables de los olores característicos de las plantas y se distribuyen ampliamente en ellas. Los monoterpenos se forman a partir del acoplamiento de dos unidades de isopreno[22]. Se usan comúnmente como agentes aromatizantes en fragancias y en la industria farmacéutica y alimenticia.

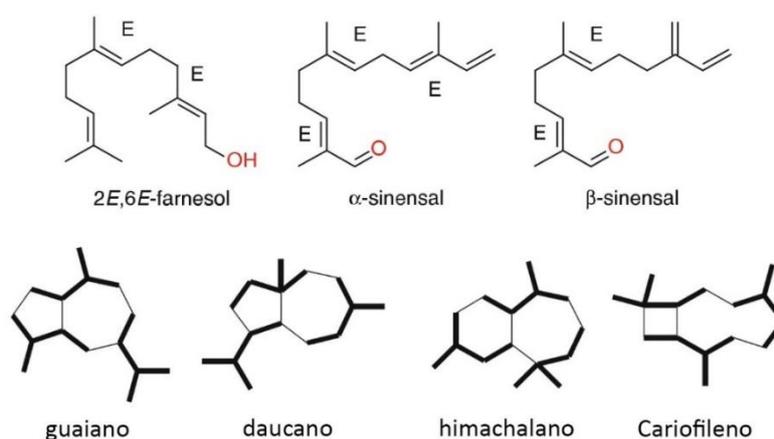


Figura 1.3. Estructura química de algunos sesquiterpenos acíclicos y cíclicos seleccionados [20].

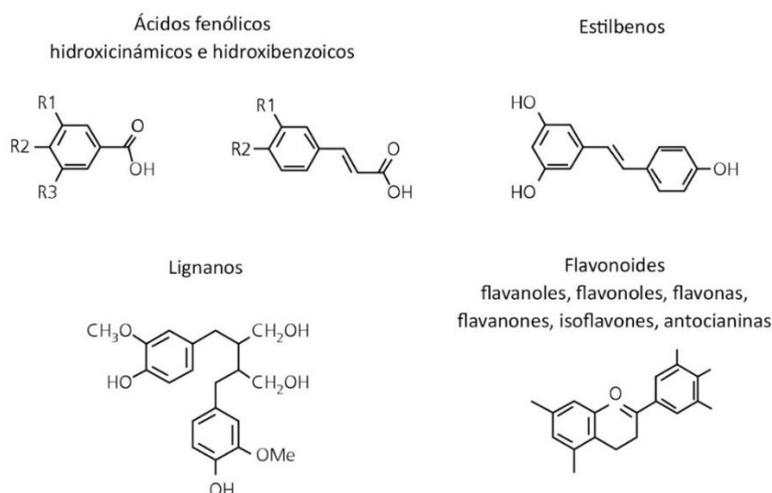
Los **sesquiterpenos** son compuestos lipofílicos incoloros. Consisten en un esqueleto de 15 carbonos y poseen una estructura diversa. Dependiendo de su estructura, los sesquiterpenos pueden ser acíclicos o contener anillos. Este grupo comprende algunos

miles de compuestos, a menudo identificados en plantas, microorganismos y organismos marinos.

### 1.2.2 *Compuestos fenólicos*

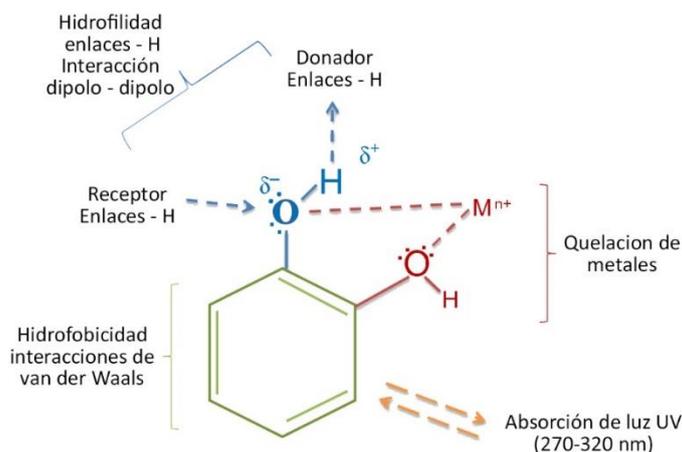
Los polifenoles representan una amplia gama de fitoquímicos que están formados por un grupo complejo de moléculas asociadas en general con la mayoría de las paredes celulares de las plantas. Poseen varias funciones importantes que incluyen la inhibición del desarrollo de patógenos, descomposición de microorganismos y protección contra la radiación UV, estrés fotosintético y especies reactivas de oxígeno, así como la regeneración celular, entre otras [23]. Adicionalmente, estos compuestos son bien conocidos por sus actividades biológicas multifacéticas en humanos y se exploran ampliamente por su potencial como agentes anticancerígenos, antiinflamatorios, antiobesidad, entre otros [14]. Los polifenoles son un grupo de metabolitos vegetales que contienen más de un grupo hidroxilo y fenólico por molécula. Teniendo en cuenta su estructura química general, los polifenoles podrían clasificarse en varios subgrupos principales, tales como los ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, estilbenos y lignanos [16,24]. La Figura 1.4 muestra diferentes estructuras químicas de los principales grupos fenólicos.

Los **flavonoides** son los compuestos fenólicos que se encuentran más distribuidos en los alimentos vegetales y también los más estudiados. Son pigmentos característicos de las plantas y cumplen funciones esenciales de reproducción al atraer polinizadores e insectos dispersores de semillas. Los flavonoides en los alimentos no solo son responsables del color, sino que también participan en el sabor, en la protección de la peroxidación lipídica como los compuestos vitamínicos. Según el grado de hidroxilación y la presencia de un doble enlace  $C_2-C_3$  en el anillo heterocíclico de pirona, los flavonoides se pueden dividir en 13 clases siendo los más importantes los flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianidinas o antocianinas y flavanonas [25].



**Figura 1.4.** Estructuras químicas de compuestos fenólicos y polifenoles [24].

Los **ácidos fenólicos** se caracterizan por tener un anillo bencénico, un grupo carboxílico y uno o más grupos hidroxilo y/o metoxilo en la molécula, (Figura 1.5). Estos compuestos se pueden dividir en dos grupos: ácidos benzoicos y ácidos cinámicos, y derivados de los mismos. Los ácidos fenólicos constituyen aproximadamente un tercio de los compuestos fenólicos en la dieta humana y se caracterizan por una notable actividad antioxidante[25].



**Figura 1.5.** Propiedades fisicoquímicas, moleculares y mecanismos de actividad antioxidante de los polifenoles en función de su estructura funcional fenólica básica [25].

Todos los compuestos fenólicos exhiben una absorción intensa en la región UV (ultravioleta) del espectro, y los que están coloreados también absorben fuertemente en la región visible. Cada clase de compuestos fenólicos tiene características distintivas de absorción. Por ejemplo, los fenoles y los ácidos fenólicos muestran máximos espectrales

en el rango de 250-290 nm; los derivados del ácido cinámico tienen máximos principales en el rango de 290-330 nm; flavonas y flavonoles exhiben bandas de absorción de la misma intensidad aproximadamente 250 y 350 nm [25].

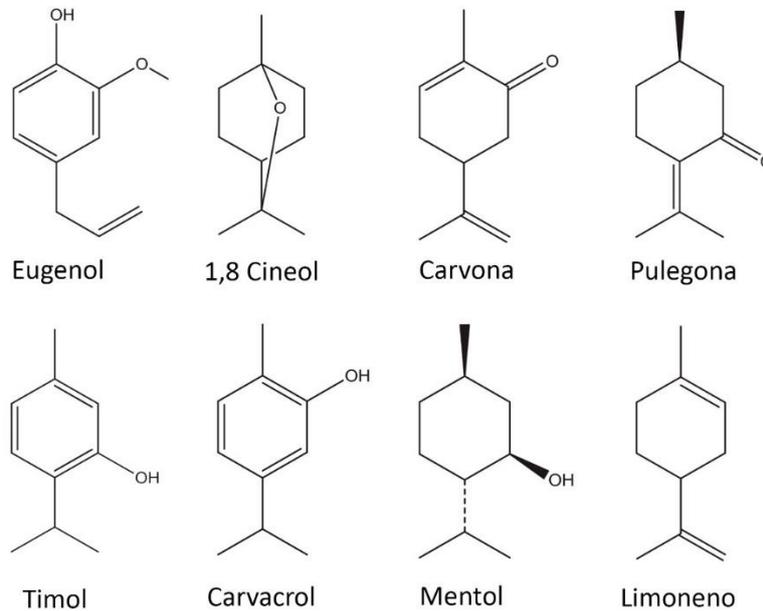
### 1.2.3 Alcaloides

Los alcaloides son uno de los grupos más diversos de metabolitos secundarios que se encuentran en plantas, organismos marinos, microorganismos y tienen una variedad de tipos de estructura, vías biosintéticas y actividades farmacológicas [26]. Son compuestos cíclicos con una distribución limitada en los organismos vivos [27]. Como metabolitos secundarios, se cree que los alcaloides desempeñan un papel defensivo en la planta contra herbívoros y patógenos. Con más de 20000 compuestos aislados de fuentes naturales, debido a su potente actividad biológica, muchos de estos compuestos han sido explotados como productos farmacéuticos, estimulantes, narcóticos y venenos [28]. Si bien no existe una clasificación general para todos los alcaloides, según Eagleson [29], es posible dividirlos en tres principales categorías: (i) alcaloides verdaderos, que son aquellos que derivan de aminoácidos y un anillo heterocíclico con nitrógeno, por ejemplo, atropina, nicotina, etc.; (ii) los proto-alcaloides, que incluyen compuestos con átomos de nitrógeno derivados de un aminoácido que no forma parte del anillo heterocíclico, por ejemplo, adrenalina y efedrina; y (iii) los pseudo-alcaloides cuyos compuestos no se originan a partir de aminoácidos, entre ellos, la cafeína, la teobromina, etc.

### 1.3 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas naturales complejas de metabolitos secundarios volátiles, que pueden ser aislados de las plantas mediante hidrodestilación, destilación al vapor, destilación en seco o mediante un proceso mecánico adecuado (para frutos). Se pueden encontrar en varios órganos de plantas (flores, frutas, semillas, hojas, tallos y raíces) y se almacenan en estructuras secretoras que difieren en morfología, función y distribución. Los principales componentes de los aceites esenciales (mono y sesquiterpenos, incluidos hidrocarburos, alcoholes, éteres, aldehídos y cetonas) son responsables de las propiedades fragantes y biológicas de las plantas aromáticas y medicinales. Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades, varios de ellos producen efectos farmacológicos, demostrando propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas, entre otras. Otros son biocidas contra una amplia gama

de organismos como bacterias, hongos, virus, protozoos, insectos y plantas [30]. La Figura 1.6 muestra las estructuras químicas de algunos de los componentes volátiles más frecuentes en aceites esenciales.



**Figura 1.6.** Estructuras químicas de componentes seleccionados de aceites esenciales.

Los aceites esenciales se utilizan actualmente en una amplia gama de aplicaciones. Gran parte de ellos son usados como fragancias en perfumería, así como en la industria de alimentos y bebidas. También han sido protagonistas, en los últimos años, de un auge de productos naturales tradicionales en la medicina, la conservación de alimentos y cosméticos. Recientemente, ha habido un creciente interés en los productos naturales debido a su disponibilidad, pocos efectos secundarios o toxicidad, así como una mejor biodegradabilidad en comparación con los antibióticos y conservantes convencionales [31].

### 1.3.1 Eugenol

El eugenol (4-alil-2-metoxifenol) es un compuesto fenólico presente en productos naturales, como los aceites esenciales de clavo de olor, nuez moscada, canela, albahaca y laurel. Su estructura química se muestra en la Figura 1.6. Es un compuesto amarillo pálido con un aroma picante y soluble en alcohol, cloroformo, éter y aceites vegetales [32]. En La Tabla 1.3 se indican algunas propiedades físicas del eugenol.

**Tabla1.3.** Propiedades físicas del eugenol [33]

Propiedad física	Valor
Peso molecular ( $\text{g mol}^{-1}$ )	164.2
Punto normal de ebullición ( $^{\circ}\text{C}$ )	225
Punto normal de fusión ( $^{\circ}\text{C}$ )	-9.1
Solubilidad en agua a $21^{\circ}\text{C}$ ( $\text{mg ml}^{-1}$ )	1.44
Densidad a $20^{\circ}\text{C}$ ( $\text{g ml}^{-1}$ )	1.06
Presión de vapor a $25^{\circ}\text{C}$ (mbar)	0.0925

Se caracteriza por tener diferentes propiedades biológicas, como efectos antimicrobianos, analgésicos, antiinflamatorios, antioxidantes, antimutagénicos y anticancerígenos [34,35]. Suele emplearse principalmente como agente aromatizante en cosméticos y productos alimenticios. En odontología, es completamente reconocido como analgésico en el tratamiento dental y empastes dentales en su combinación con óxido de zinc [36], incluyendo su uso en tratamiento de caries dentales, encías esponjosas y sangrantes y enfermedades periodontales [32,37]. Adicionalmente, varios estudios han demostrado que el eugenol posee actividad biológica contra un amplio espectro de bacterias gram-negativas y gram-positivas [38,39]. Algunos ejemplos de trabajos publicados sobre las distintas aplicaciones del eugenol se reportan en la Tabla 1.4.

**Tabla 1.4** Revisión de trabajos seleccionados sobre actividades biológicas y farmacológicas del eugenol en distintas aplicaciones.

Autor	Aplicación	Actividad	Ref.
Leite, 2007	Farmacológica	Antimicrobiana ( <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> strains)	[40]
Sanla-Ead, 2011	Alimento	Antimicrobiana ( <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> )	[39]
Koh, 2013	Odontológica	Antiinflamatoria en fibroblastos gingivales y fibroblastos de ligamentos periodontales	[41]
Sauperl, 2014	Textil	Antimicrobiana ( <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> ) Antifúngica ( <i>C. albicans</i> )	[42]
Martínez-Herrera, 2016	Odontológica	Inflamatorio en tejidos y fibroblastos de pulpa dental	[43]
Pramod, 2016	Odontológica	Antimicrobiana	[37]
Vatanparast, 2017	Neuronal	Excitabilidad neuronal - epileptiforme inducida	[44]
Carvalho, 2017	Alimento	Antifúngica ( <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> )	[45]
da Silva, 2018	Bioquímica	Antioxidante, antimicrobiana ( <i>Escherichia coli</i> , <i>taphylococcus aureus</i> )	[46]
Rathinam, 2018	Medicinal	Anti-virulencia y anti-biofilm ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	[47]
Das, 2018	Oncológica	Actividad anticancerígena y citotoxicidad ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	[36]
Garrido-Miranda, 2018	Alimento	Antioxidante y antifúngica ( <i>Botrytis cinerea</i> )	[48]

Entre los estudios mencionados, se destacan por su interés para esta tesis el de Koh y col. [41], quienes evaluaron la actividad antiinflamatoria del eugenol en células de pulpa y fibroblastos gingivales, y encontraron que, mediante el uso adecuado del eugenol, se pueden obtener resultados óptimos en la inhibición de células de pulpa gingivales en el tratamiento dental. De manera similar Martínez-Herrera y col. [43], evaluaron el efecto antiinflamatorio del eugenol en fibroblastos de pulpa dental cultivados. Sus resultados indican que el eugenol es un agente proinflamatorio cuando está en contacto directo con tejidos sanos y se comporta como un agente antiinflamatorio en los tejidos que experimentan procesos inflamatorios/apoptóticos, como en los casos de inflamación de la pulpa en los dientes primarios. Por su parte Pramod y col. [37] estudiaron la actividad del eugenol incorporado en nanocápsulas de policaprolactona ante infecciones periodontales. Los resultados de este estudio sugieren que las nanocápsulas con eugenol

podrían prevenir la resorción del hueso septal en la periodontitis y, además, serviría como un nuevo sistema de administración de fármacos coloidales para mejorar la actividad terapéutica del eugenol en el tratamiento de infecciones periodontales. Jadhav y col. [5] desarrollaron y evaluaron tabletas mucoadhesivas a base de hidroxipropil metilcelulosa y eugenol para una aplicación gingival. Sus estudios concluyeron que el material desarrollado presentó buenas características de liberación controlada, mejorando las posibilidades del eugenol como agente antibacteriano, analgésico local y anestésico.

La incorporación de estas sustancias activas en distintos materiales poliméricos da origen a los materiales activos que gracias a sus propiedades específicas han permitido desarrollar una variedad de productos con distintas aplicaciones como por ejemplo, empaques activos con propiedades fungicidas [49], implantes biomédicos como tejidos funcionales [50], o implantes oculares [51], sistemas de administración de drogas [52], aditivos alimenticios [53] entre otros. En este contexto, en las últimas décadas, ha habido una creciente demanda por los materiales activos debido a las múltiples ventajas que estos ofrecen y con ello, también han surgido una variedad de técnicas de incorporación de compuestos activos en materiales poliméricos. A continuación se hace una breve descripción de las principales técnicas utilizadas en el desarrollo de materiales activos.

#### **1.4 Técnicas de incorporación de sustancias activas en materiales poliméricos**

Las características hidrofílicas/hidrofóbicas, termo-sensitivas y de compatibilidad química/biológica de los compuestos activos de origen natural, hacen que en muchos casos sea necesario el uso de polímeros no solo como portadores o medios de transporte ("*carriers*"), para facilitar el control, dosificación y suministro, sino también como agentes coadyuvantes para mejorar la bioabsorción y disponibilidad de estos compuestos. A raíz de esta necesidad, surgieron una variedad de técnicas para incorporar agentes bioactivos en un gran número de materiales poliméricos. A continuación, se hace una breve descripción de las técnicas tradicionales más relevantes utilizadas para incorporar sustancias bioactivas de origen natural en matrices poliméricas.

##### **1.4.1 Impregnación húmeda**

Es una técnica comúnmente utilizada en la impregnación de medicamentos y agentes bioactivos en polímeros. Este método consta de varias etapas. En la primera etapa, la

sustancia activa es disuelta en un solvente orgánico. Seguidamente, una matriz huésped (polímero) es sumergida en la solución previa (solvente + agente activo). Finalmente, se pueden aplicar varias etapas de filtrado y secado para eliminar residuos de solvente. A pesar de su extensa aplicación, esta técnica presenta algunos inconvenientes ya que implica el uso de solventes orgánicos, operaciones unitarias con altos consumos energéticos y productos finales con residuos de solvente [54]. No obstante, la impregnación en medios líquidos ha sido usada ampliamente en el desarrollo de materiales activos, por lo que se pueden citar algunos estudios como la impregnación de extracto de *Clinacanthus nutans* en aerogeles de sílice y ácido algínico en etanol con fines farmacéuticos [55]; incorporación de eugenol en quitosano en el desarrollo de telas antimicrobianas empleando ácido acético como solvente [42]; fabricación de sistemas de liberación controlada de fármacos a partir de la impregnación de vitamina E en sílice mesoporosa utilizando hexano como solvente [54].

#### 1.4.2 Revestimiento (*coating*)

La técnica de revestimiento, o “*coating*” por su designación en inglés, consiste en recubrir un sustrato o material polimérico con una sustancia activa de interés para mejorar las propiedades o cualidades de la superficie del material. En el desarrollo de polímeros activos existen varias técnicas de recubrimiento dependiendo del área de aplicación. Por ejemplo, en el área de alimentos es muy común el uso de la técnica de pulverización o *spray*, que consiste en la aspersion de una solución de recubrimiento en pequeñas gotas (alrededor de 20  $\mu\text{m}$ ) sobre la superficie del sustrato [56]. Por otro lado, cuando se requieren recubrimientos más profundos, se utiliza el método de *inmersión* que consiste en la inmersión directa del producto en un medio acuoso que contiene la sustancia de recubrimiento, con el fin de obtener una delgada película membranosa sobre la superficie del producto. Este método se usa generalmente para mejorar los atributos de calidad fisicoquímica de frutas y verduras mínimamente procesadas, así como productos cárnicos [57]. El recubrimiento *sol-gel* es otra técnica utilizada en la fabricación de polímeros bioactivos, principalmente en el campo biomédico, debido a que usa materiales híbridos modificados de forma orgánica o cerámica formados a partir de una solución coloidal (sol) que actúa como precursor de un gel. Algunos estudios han

reportado el uso de esta tecnología para el revestimiento de membranas de quitosano con carotenoides [58] y recubrimiento de prótesis de cadera con quitosano [59].

### 1.4.3 Encapsulación

La encapsulación es una tecnología en pleno auge con muchas aplicaciones potenciales en el área industrial, farmacéutica y alimenticia. Es un proceso por el cual pequeñas partículas de la sustancia activa a encapsular se empaquetan dentro de un material de recubrimiento para formar cápsulas. Tiene como finalidad proteger los compuestos bioactivos (polifenoles, micronutrientes, enzimas, antioxidantes y nutraceuticos) de ambientes adversos y mejorar la biodisponibilidad y liberación controlada en sitios específicos. En el desarrollo de material particulado se puede diferenciar las *nanocápsulas*, que son de tamaño coloidal con diámetros que varían en el orden de nanómetros (también conocidas como nanocápsulas y nanoesferas), y las *microcápsulas*, que poseen tamaños en un rango micrométrico. Dependiendo de su aplicación, tanto las nanocápsulas como microcápsulas pueden estar compuestas de diferentes matrices poliméricas que incluyen polímeros naturales como albúmina, gelatina, alginato, colágeno, quitosano,  $\alpha$ -lactoalbúmina, etc. Dentro de las principales técnicas de nano y microencapsulación se encuentran: emulsificación, coacervación, complejación de inclusión, emulsificación- evaporación de solventes, secado por aspersion, secado en frío y dispersión sólida [60]. En el contexto farmacológico y biomédico se pueden mencionar algunos estudios en donde se han desarrollado partículas bioactivas a partir de la combinación de diferentes sustancias activas y materiales poliméricos, como la nanoencapsulación de aceites esenciales para el control de mosquitos [61]; microencapsulación a base de zeína reticulada con ácido cítrico y  $\beta$ -caroteno para sistema de administración oral de compuestos lipofílicos [62]; encapsulación de extractos de semillas de uva en ácido poliláctico como agente protector y restaurador de tejidos dentales [63]; microencapsulación de compuestos activos del jugo de mora y bacterias probióticas en goma arábica/maltodextrina/proteína de suero, para una aplicación médica [64] y encapsulación de eugenol en caprolactona para el tratamiento de infecciones periodontales [37].

#### 1.4.4 *Electrospinning*

Es un método de procesamiento que utiliza fundamentalmente un campo eléctrico para estirar una solución o masa fundida compuesta de un polímero y una sustancia activa para formar estructuras (principalmente fibras) con una alta superficie específica [65]. Esta tecnología puede variar dependiendo de la configuración y propiedades requeridas, por lo que se pueden encontrar tres tipos de técnicas principales, como la de chorros inducidos electrostáticamente, ionización por electropulverización y electropulverización [66]. Asimismo, existen otras tecnologías utilizadas para el mismo fin, como el secado en frío, lixiviación de partículas de hielo, evaporación de solvente, separación de fases inducida térmicamente entre otras [67]. Dada la naturaleza de esta tecnología, su principal aplicación está orientada hacia la fabricación de prótesis y tejidos bioactivos, por lo que se pueden citar algunos ejemplos de estudios que implementaron esta técnica en la incorporación de curcumina en gomas de policaprolactona para el desarrollo de tejidos funcionales [68]; aceites esenciales de árbol de té y manuka en fibras de ácido poliláctico para la fabricación de apósitos antibacteriales [69] y extracto de *Zataria multiflora* en quitosano/alcohol polivinílico/gelatina, para el desarrollo de apósitos funcionales [70].

#### 1.4.5 *Moldeado por evaporación de solvente (“solvent casting”)*

Básicamente es un proceso que está compuesto por tres operaciones: en la primera etapa, se disuelve un polímero junto con la sustancia activa en un solvente; en el siguiente paso la solución formada es transferida a un molde para darle forma al material, y en la tercera etapa la solución es sometida a un tiempo de secado en donde ocurre una evaporación parcial o total del solvente, quedando como resultado un material compuesto (polímero + compuesto activo) en la forma deseada [71]. Si bien esta técnica es utilizada con gran frecuencia, cabe resaltar que posee ciertos inconvenientes como el hecho de que en la etapa de secado de esta técnica los compuestos bioactivos se pueden volatilizar o degradar térmicamente afectando su rendimiento, y además, el producto final puede quedar con propiedades mecánicas limitadas y/o residuos de solvente [67]. Dada la versatilidad de esta técnica para incorporar sustancias y moldear materiales en distintas formas, diferentes estudios han empleado esta técnica como complemento para desarrollar materiales funcionales, tales como: películas activas antibacteriales

(polietilenglicol/aceite esencial de canela) [72]; tejidos antifúngicos a partir de la encapsulación de aceites esenciales en alginato de sodio [73]; películas antioxidantes compuestas por nanopartículas de ácido poliláctico/aceite de peperina [74]; scaffolds activos de caprolactona [75], entre otros.

#### 1.4.6 Extrusión

Es una tecnología extensamente aplicada para preparar dispersiones sólidas. En esta técnica el agente activo es agregado durante el proceso de fusión y/o extrusión del material. Para ello, el material polimérico se bombea con un tornillo giratorio a temperatura elevada a través de un troquel de manera uniforme. El uso de la técnica requiere de componentes térmicamente estables a la temperatura de procesamiento [33]. La extrusión es una tecnología muy utilizada en la producción de alimentos, materiales biomédicos y principalmente en productos farmacéuticos, como pellets, gránulos, tabletas, sistemas de disolución rápida oral, sistemas de administración transdérmica y transmucosa, e implantes [77,78]. Si bien esta técnica es ampliamente usada, presenta algunas desventajas como: (i) requiere gran cantidad de reactivos: polímeros, compuestos activos y (ii) en su etapa de secado, los compuestos bioactivos se pueden volatilizar o degradar térmicamente afectando su rendimiento y actividad. Dependiendo del tipo de fabricación y aplicación de diferentes materiales activos, se pueden encontrar tecnologías similares que usan este mismo principio como: mezcla por centrifugación en caliente, extrusión por fusión en caliente, incrustaciones mediante secado por pulverización, liofilización y mezcla en rollo o molienda conjunta [79]. Diversos estudios han reportado el uso de la extrusión en el desarrollo de materiales activos, por ejemplo, sistemas de dosificación oral a partir de la combinación de ácido oleanólico en polivinil pirrolidona [80]; sistemas controlados de bioabsorción de extracto de *Angelica gigas* en caprolactama/acetato de polivinilo/polietilenglicol [81]; dispersiones sólidas de extracto de cacao en biopolímeros [82]; nanocompuestos biocompatibles a partir de la incorporación de harina de semillas de kenaf (rica en polifenoles y flavonoides) en una mezcla de biopolímeros (lecitina/concentrado de proteína suero/ácido ascórbico) [83]; sistemas de liberación controlada de extracto de *Ginkgo biloba* en biopolímeros [84].

#### **1.4.7 Impregnación con fluidos supercríticos**

Este proceso utiliza CO<sub>2</sub>-sc como agente promotor para dispersar un compuesto activo o aditivo en un material polimérico. Esta técnica permite ajustar el grado de penetración del soluto cambiando las condiciones de proceso y obtener el producto final libre de solvente. Dada su versatilidad, mediante la impregnación supercrítica, se pueden incorporar diferentes tipos de solutos orgánicos, principalmente compuestos hidrófobos y termosensibles (como medicamentos o aceites esenciales) en numerosos polímeros naturales y sintéticos basados en el efecto de plastificación/hinchamiento por CO<sub>2</sub>. Esta técnica de incorporación de sustancias activas constituye el núcleo principal de esta tesis, por lo tanto, tendrá una explicación más profunda los capítulos siguientes.

### **1.5 Objetivos y estructura de la tesis**

#### **1.5.1 Objetivo General**

El objetivo general de esta tesis es aportar conocimientos para el desarrollo de materiales poliméricos con actividad específica para potenciales aplicaciones odontológicas mediante la impregnación de sustancias naturales bioactivas utilizando la tecnología de fluidos supercríticos.

#### **1.5.2 Objetivos específicos**

En ese marco general, los objetivos específicos de esta tesis son:

- Estudiar e identificar mediante un relevamiento bibliográfico, sustancias bioactivas con actividad biológica potenciales para aplicaciones odontológicas.
- Instalar y poner a punto de un sistema experimental de alta presión a escala de laboratorio para realizar ensayos de impregnación.
- Realizar estudios de impregnación a un hilo dental de poliamida comercial con eugenol utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico como solvente, analizando el efecto de diferentes variables de proceso como presión, temperatura, velocidad de despresurización y tiempo de contacto. Este estudio comprende tanto ensayos experimentales como el modelado matemático de los resultados, con el fin de determinar condiciones óptimas de operación y altos rendimiento de impregnación.

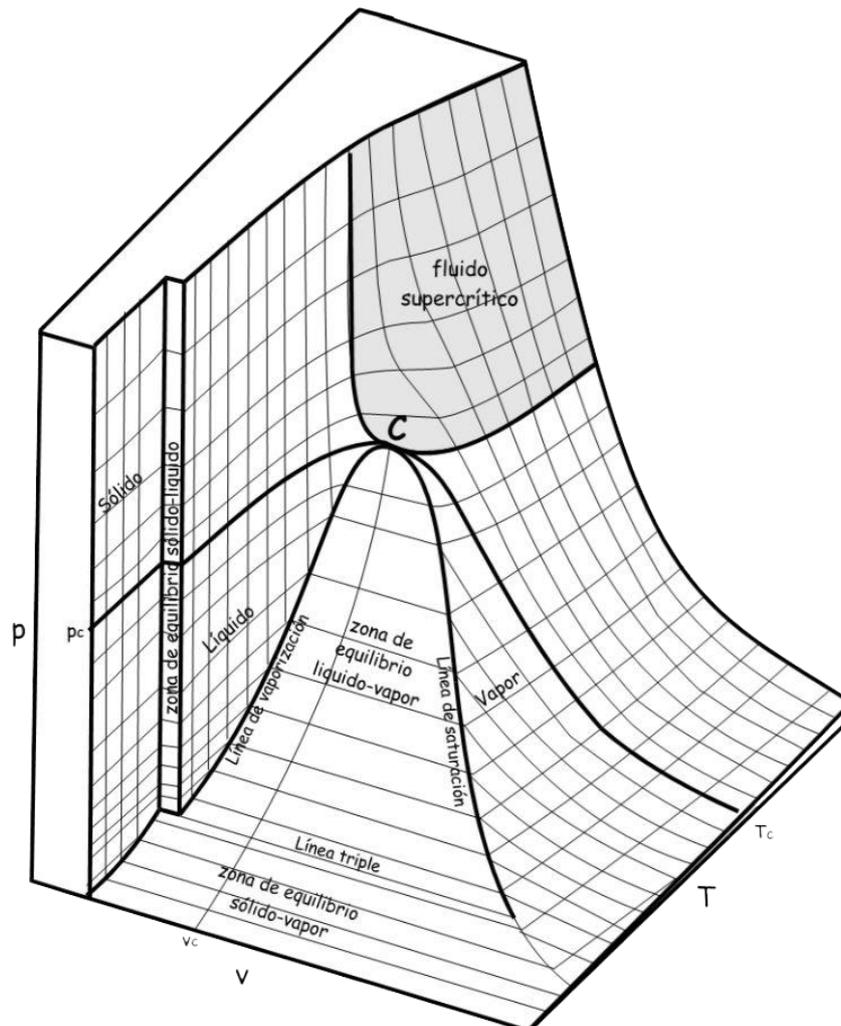
- Analizar las propiedades finales del hilo impregnado evaluando las propiedades mecánicas, térmicas, morfológicas, y de actividad específica (antimicrobiana).
- Evaluar la cinética de liberación y de impregnación del compuesto activo utilizado (eugenol).
- Realizar un diseño y dimensionamiento de un equipo impregnador a escala industrial a partir de los datos experimentales obtenidos durante el estudio.

## 1.6 Estructura de la tesis

Esta tesis se organiza en 7 capítulos. En el capítulo 1 se presenta una introducción general, donde se describe la motivación y las características del principio activo y los distintos métodos tradicionales que suelen emplearse para incorporar sustancias activas en polímeros a diferencia de la técnica de impregnación supercrítica. El capítulo 2 trata sobre los principios de los fluidos supercríticos y sus distintas aplicaciones. El capítulo 3 expone los aspectos generales de la técnica de impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico, así como una revisión bibliográfica de los temas actuales que se han desarrollado en relación con esta tesis. El capítulo 4 presenta la metodología utilizada para llevar a cabo el proceso de impregnación supercrítico, así como también el diseño de experimentos y los distintos modelos matemáticos empleados para el estudio de los resultados. Además, se detallan las técnicas de caracterización que se usaron y que se mencionaran a lo largo de esta tesis. Los resultados del proceso de impregnación se evalúan en el capítulo 5. En este apartado se detallan la influencia de las diferentes variables del proceso sobre el tratamiento a alta presión. También se resaltan las mejores condiciones de rendimiento de impregnación y se caracterizan y discuten los fenómenos difusivos que actúan durante el proceso. Los resultados de la caracterización del hilo dental antes y después del proceso de impregnación supercrítico junto con la cinética de liberación del eugenol impregnado en las fibras de poliamida en aire y saliva artificial son discutidos en el capítulo 6. Finalmente, el capítulo 7 describe el diseño y dimensionamiento de un proceso industrial para impregnar eugenol en bobinas de hilo de poliamida 6 con CO<sub>2</sub> supercrítico. Este apartado también incluye la estimación de los requerimientos de masa y energía de los principales equipos de la planta industrial.

## CAPÍTULO 2

# FLUIDOS SUPERCRÍTICOS, FUNDAMENTOS Y APLICACIONES



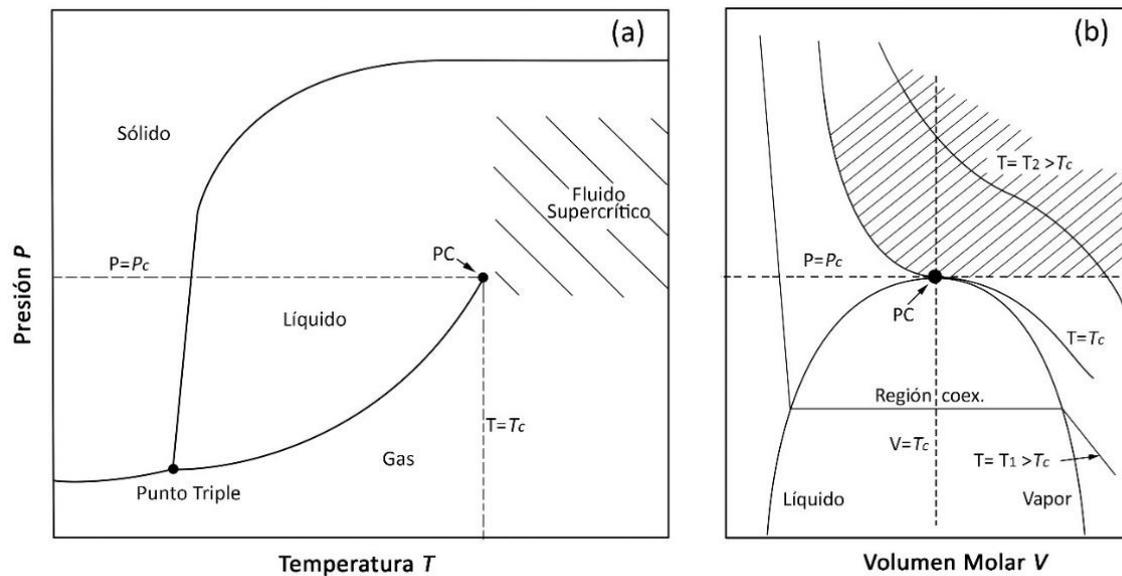
## 2. Capítulo 2: Fluidos supercríticos, fundamentos y aplicaciones

### 2.1 Fluidos supercríticos

El estado termodinámico de un componente puro está determinado por tres variables: la presión  $P$ , el volumen  $V$  y la temperatura  $T$ . La relación entre estas tres variables se conoce como la ecuación de estado y está representada por una superficie en el diagrama tridimensional de  $P$ ,  $V$  y  $T$ . Cualquier componente puro, de acuerdo al valor de estos tres parámetros, será un sólido, un líquido o un gas. El diagrama *presión-temperatura* (Figura 2.1a) muestra los tres estados de la materia. El punto ( $PC$ ) se conoce como el punto crítico y corresponde a una temperatura crítica  $T_c$ , una de presión crítica  $P_c$  y densidad crítica  $\rho_c$  de un compuesto puro. En el  $PC$  existe un estado intermedio entre un líquido y un gas llamado estado crítico. Cuando la presión y la temperatura se encuentran por encima del punto crítico, las fases se vuelven indistinguibles como gas o líquido, y se convierten en un **fluido supercrítico (FSC)**. En esta condición, el fluido puede tener densidad y propiedades solventes similares a las del líquido, pero con menor viscosidad y mayor difusividad, parecidas a la de un gas, como se enumera en la Tabla 2.1. Asimismo, si uno de estos parámetros cae por debajo de su valor crítico mientras que el otro permanece superior a su valor crítico, se considera un **estado subcrítico**.

**Tabla 2.1.** Rangos típicos para algunas propiedades físicas de gases, líquidos y FSCs [85]

Propiedad	Gas	Fluido supercrítico	Líquido
Densidad ( $\text{g cm}^{-3}$ )	$6 \times 10^{-4} - 2 \times 10^{-3}$	0.2 – 0.9	0.6 – 1.2
Coef. de difusión ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )	0.1 – 0.4	$2 \times 10^{-4} - 7 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$
Viscosidad (cP)	0.01 – 0.03	0.01 – 0.09	0.2 – 3.0



**Figura 2.1.** (a) Diagrama presión-temperatura de un componente puro. (b) El mismo diagrama en el espacio presión-volumen con curva de coexistencia y varias isothermas, incluida la crítica. La región sombreada se considera supercrítica. Adaptado de [86].

Un rasgo característico de los fluidos supercríticos es que poseen una compresibilidad isotérmica amplia, por el hecho en que la región supercrítica que se forma a partir de la pendiente de la isoterma en el diagrama *presión-volumen* de la Figura 2.1b, es excepcionalmente pequeña. Esto significa que un pequeño cambio en la presión conduce a un gran cambio en el volumen. Además, por encima de la temperatura crítica, la línea de coexistencia líquido-vapor ya no existe. Por lo tanto, los fluidos supercríticos pueden considerarse como "solventes híbridos" porque las propiedades pueden ajustarse de líquido a gas sin cruzar un límite de fase, simplemente con un cambio en la presión o la temperatura. En la Tabla 2.2. se muestra las propiedades críticas de algunas sustancias usadas como solventes en estado supercrítico.

**Tabla 2.2.** Temperatura crítica ( $T_c$ ), presión crítica ( $P_c$ ) y densidad crítica ( $\rho_c$ ) de algunos fluidos supercríticos comunes [87]

Sustancia	$T_c$ (°C)	$P_c$ (bar)	$\rho_c$ (kg m <sup>-3</sup> )
Dióxido de carbono	31.2	73.8	486
Agua	374.3	220	322
Metanol	239.6	80.9	272
Metano	-83.6	46.0	162
Etano	32.4	48.8	203
Propano	96.8	42.4	217
Isopropanol	235.2	47.6	273
n-butano	152	70.6	228

En particular, el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) constituye un solvente muy adecuado para el procesamiento de materiales basados en polímeros y productos naturales, debido a las siguientes características:

- ✓ Su temperatura crítica cercana a la del ambiente (31°C) permite operar a temperaturas relativamente bajas, preservando así compuestos termolábiles y contribuyendo a la eficiencia energética de los procesos.
- ✓ Su alta densidad crítica (486 kg m<sup>-3</sup>) le otorga un buen poder solvente en condiciones leves de presión y temperatura.
- ✓ El uso como solvente "volátil" facilita su completa evaporación y eliminación del producto final por despresurización.
- ✓ Posee una alta solubilidad en muchos polímeros similar a la de solventes orgánicos, lo que le proporciona un poder de hinchamiento a la matriz polimérica.
- ✓ Su efecto plastificante en materiales poliméricos permite reducir la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), facilitando la incorporación de solutos dentro del material.
- ✓ Al no ser tóxico, inflamable, ni reactivo, permite una operación más segura.
- ✓ Es considerado un solvente GRAS ("generally recognized as safe") y de bajo impacto ambiental.
- ✓ Es compatible con muchos productos naturales alimenticios o farmacéuticos.
- ✓ Amplia disponibilidad y costo relativamente bajo.

En el marco esta tesis el CO<sub>2</sub> se empleará como solvente supercrítico, por lo tanto, la siguiente discusión estará enfocada a las propiedades generales de este compuesto.

## 2.2 Propiedades de los fluidos supercríticos

Aunque a menudo se persigue en la práctica por razones ambientales, el interés principal en los fluidos supercríticos surge a raíz de sus propiedades intermedias entre las de los gases y líquidos. Su uso como solventes aprovecha el efecto de su alta densidad (del tipo de los líquidos) combinado con su alta difusividad y baja viscosidad (como la de los gases). Como se ha mencionado previamente, en comparación con los líquidos, los fluidos supercríticos poseen menores densidades y viscosidades y mayores difusividades. Estas propiedades "híbridas" se pueden observar en la Tabla 2.2 la cual proporciona algunos valores característicos de densidad, viscosidad y difusividad.

En el estado supercrítico, la distinción entre la fase líquida y la fase gaseosa desaparece y el fluido ya no se puede licuar elevando la presión ni se puede formar gas al aumentar la temperatura. Por lo tanto, las propiedades fisicoquímicas de un fluido dado, como la densidad, la difusividad, la constante dieléctrica y la viscosidad pueden controlarse fácilmente cambiando la presión o la temperatura sin cruzar los límites de fase. A continuación, se presenta una descripción de las propiedades fisicoquímicas más relevantes en el desarrollo de esta tesis.

### 2.2.1 Densidad

La densidad de los fluidos supercríticos es una propiedad intermedia entre los gases y los líquidos. Esto les concede una característica particular: se trata de fluidos densos, pero a la vez muy compresibles. En la región supercrítica, en condiciones isotérmicas, la densidad de un fluido supercrítico aumenta con la presión. Sin embargo, cuando la presión es constante, la densidad del fluido disminuye con el incremento de la temperatura [88]. En este contexto, la dependencia de la densidad con la presión y la temperatura determina el comportamiento de otras propiedades relacionadas con la densidad, como la viscosidad, difusividad y poder solvente. La Figura 2.2 muestra varias curvas isotérmicas de densidad de CO<sub>2</sub> en la región supercrítica.

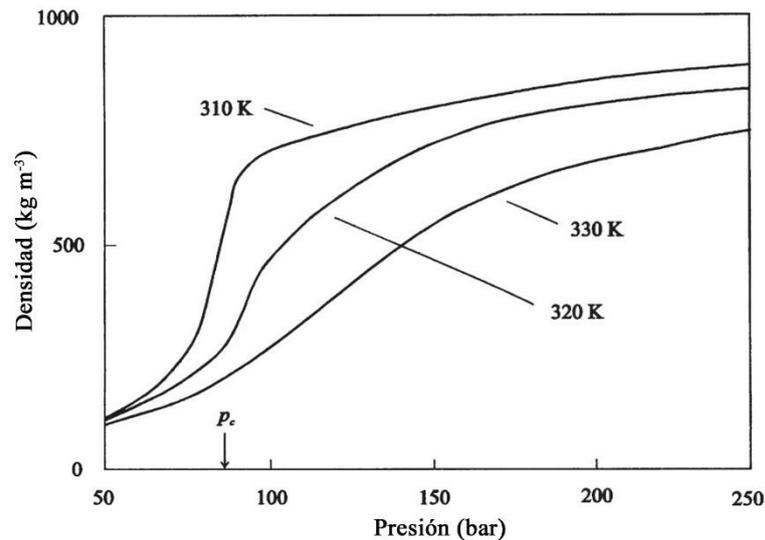
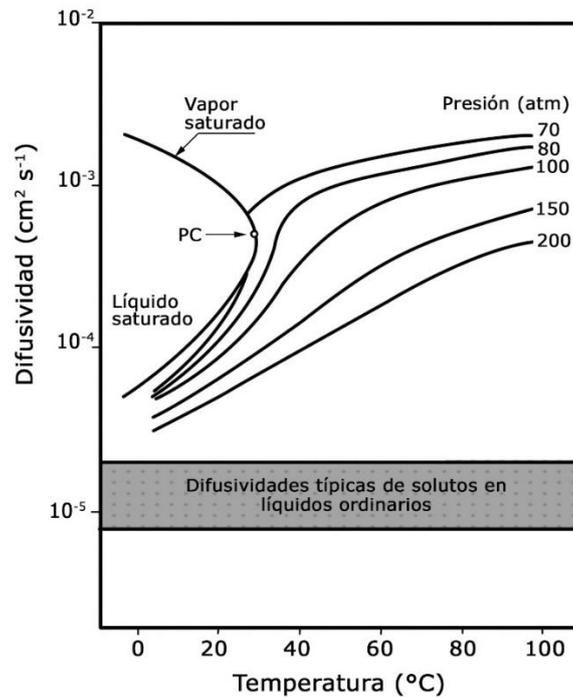


Figura 2.2. Densidad de CO<sub>2</sub> puro en función de la temperatura y la presión [89].

En la figura se puede observar que, a medida que aumenta la temperatura, el cambio es menos dramático y se mueve a presiones más altas. Esto trae como consecuencia cierta complejidad en el control de la densidad cerca de la temperatura crítica y al mismo tiempo dificultades en el control de experimentos y procesos [89].

### 2.2.2 Difusividad

La difusión de solutos a través de fluidos supercríticos depende tanto de la energía cinética de las moléculas de soluto como de la resistencia que ofrece el solvente a su movimiento (y por lo tanto de su viscosidad y densidad) [90]. La Figura 2.3 ilustra la autodifusividad del dióxido de carbono en un amplio rango de presión-temperatura y para fines comparativos, también se proporciona el rango de difusividad para solutos en líquidos orgánicos. A partir del gráfico se puede apreciar que el coeficiente de autodifusión del dióxido de carbono (que es aproximadamente el mismo que el coeficiente de difusión de una molécula de tamaño similar que se difunde a través del dióxido de carbono) es aproximadamente uno o dos órdenes de magnitud mayor que la difusividad de los solutos en los líquidos [91].

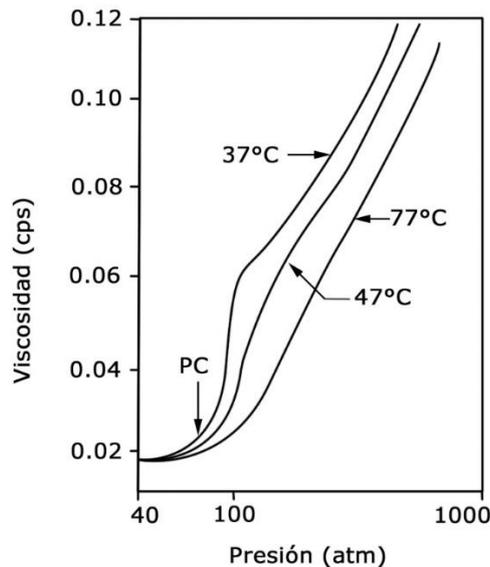


**Figura 2.3.** Variación de la difusividad en  $\text{CO}_2$  en función de la temperatura a diferentes presiones. Modificado de [92].

Además, también se observa que la temperatura tiene un efecto positivo en la difusividad ya que esto permite incrementar la velocidad de las partículas, especialmente en las proximidades del punto crítico, mientras que la presión tiene un efecto contrario, debido a que en estas condiciones se aumenta la densidad y viscosidad del fluido [89].

### 2.2.3 Viscosidad

La viscosidad de un fluido supercrítico es casi la misma que la de un gas y es 10 veces menor que la de un líquido. Por lo cual, son menos resistentes que los líquidos hacia los componentes que fluyen a través de ellos, lo que le otorga propiedades de flujo favorables [93]. Esto permite que los fluidos supercríticos penetren matrices con baja permeabilidad más fácilmente que los solventes convencionales. El comportamiento de la viscosidad del dióxido de carbono se muestra en la Figura 2.4. Aunque la viscosidad cambia rápidamente en la región crítica (similar a la difusividad en la Figura 2.3), incluso a los niveles de alta presión de 300-400 atm es solo alrededor de 0.09 centipoises (cps), un orden de magnitud por debajo de las viscosidades típicas de los solventes orgánicos líquidos [91].



**Figura 2.4.** Variación de la viscosidad del CO<sub>2</sub> en función de la presión a tres temperaturas diferentes. Modificado de [92].

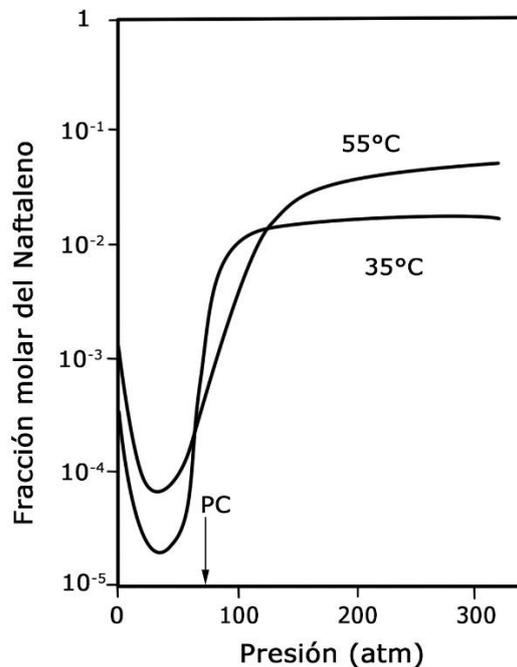
Tal como se observa en la imagen, a una temperatura constante, un incremento en la presión causa un efecto positivo en la viscosidad del fluido, sin embargo, este efecto produce una disminución de los fenómenos de difusión y transporte de solutos [92].

#### 2.2.4 Solubilidad en fluidos supercríticos

Tal como se mencionó anteriormente, el conjunto de propiedades intermedias de los fluidos supercríticos, como la alta densidad (similar a la de los líquidos), alta difusividad y baja viscosidad (parecida a la de los gases) hacen que los FSC posean un gran poder de disolución y fácil transferencia de masa a través de una interfase. Además por su alta compresibilidad permite que el poder solvente puede ajustarse dentro de un rango muy amplio [94].

El poder de disolución de un fluido supercrítico depende de su densidad, que a diferencia de la de los solventes líquidos, es altamente ajustable al cambiar la presión o la temperatura, especialmente en las proximidades del punto crítico, en donde un pequeño aumento de presión en condiciones isotérmicas causa un incremento pronunciado en la densidad del fluido. Sin embargo, este efecto tiende a atenuarse con el aumento de la distancia de los valores críticos. Por consiguiente, el poder solvente de un fluido supercrítico puede controlarse más fácilmente que la de un solvente líquido [95]. Este

comportamiento es posible observarlo en la Figura 2.5 que muestra la variación de la solubilidad del naftaleno en CO<sub>2</sub> supercrítico.



**Figura 2.5.** Variación de la solubilidad del naftaleno en CO<sub>2</sub> supercrítico en función de la presión en dos temperaturas diferentes [92].

A medida que aumenta la densidad de CO<sub>2</sub>, la distancia intermolecular media disminuye y las interacciones intermoleculares específicas entre el solvente y el soluto aumentan proporcionalmente. En la figura se observa que cerca de la presión crítica de CO<sub>2</sub> (72.8 atm), la solubilidad aumenta bruscamente como resultado del aumento marcado de la densidad con la presión. A presiones muy altas, la solubilidad alcanza un máximo.

No obstante, el efecto de la temperatura sobre la solubilidad es algo más complejo. Por debajo de 60 atm y por encima de 120 atm, la solubilidad del naftaleno aumenta con el incremento de la temperatura. Sin embargo, la solubilidad tiende a disminuir con el aumento de la temperatura a presiones entre 60 y 120 atm. Esto significa que la temperatura reduce la densidad (y el poder solvente) del fluido; por otro lado, incrementa la presión de vapor de los solutos, favoreciendo su disolución. El efecto predominante determinará si la solubilidad aumenta o se reduce con la temperatura (a una presión dada). La combinación de todos estos efectos da origen al fenómeno

conocido como “crossover” o inversión de la solubilidad, es decir un incremento o disminución de la solubilidad con la temperatura según el rango de presión.

### 2.2.5 Tensión superficial

La tensión superficial es un fenómeno presente en la interfaz gas-líquido o en las diferentes fases existentes, y es una medida de la fuerza elástica que existe en la superficie de un fluido. Las moléculas en la interfase experimentan una mayor atracción en el lado líquido, pero una atracción débil en el lado gaseoso, generando una tensión que tiende a contraer la capa superficial al área más pequeña posible. La tensión superficial del líquido disminuye con el aumento de la presión, en la fracción líquida del componente supercrítico, mientras que la tensión superficial del gas aumenta con la presión, correspondiente a la concentración creciente del componente menos volátil en el gas [96]. En el caso de sistemas con equilibrio líquido-fluido supercrítico, la tensión superficial presenta gran dependencia de las condiciones de presión y temperatura. La tensión superficial disminuye a medida que aumenta la presión, debido a tres fenómenos simultáneos que reducen la diferencia de densidad entre las fases: mayor disolución de fluido supercrítico en la fase líquida, aumento de densidad de la fase supercrítica por compresión y el incremento de la concentración de solutos en la fase supercrítica.

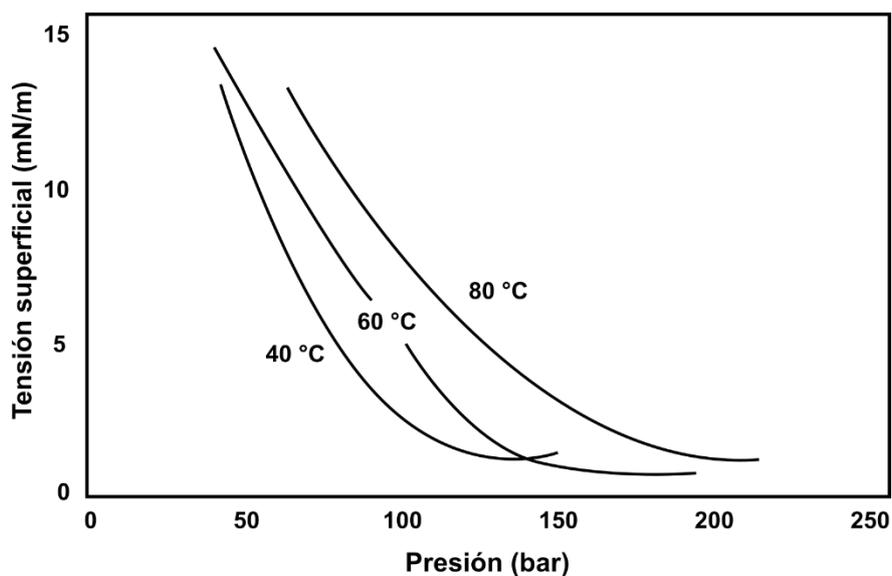


Figura 2.6. Tensión superficial del sistema CO<sub>2</sub> + escualeno. Adaptado de [96]

Al aproximarse al punto crítico de la mezcla, las densidades de ambas fases se vuelven similares, y la tensión superficial tiende a cero [90]. La Figura 2.6 muestra un ejemplo del comportamiento de la tensión superficial en el sistema CO<sub>2</sub> + escualeno.

### **2.2.6 Conductividad térmica**

Es una propiedad que está asociada al transporte de energía a nivel molecular y por tanto está directamente relacionada a las otras propiedades como la densidad, viscosidad y capacidad calorífica del fluido. Suele ser un parámetro importante en procesos que utilizan fluidos supercríticos ya que permite una mayor homogeneización de la temperatura y a su vez, un mejor control sobre la densidad y el poder solvente del fluido. En el caso de los gases en condiciones de baja densidad, la conductividad térmica es baja y aumenta linealmente con la presión, a una temperatura dada. Por el contrario, a presiones bajas la conductividad aumenta con la temperatura, mientras a que presiones altas disminuye. En la región supercrítica, la conductividad térmica aumenta con la densidad [90].

## **2.3 Aplicaciones de los fluidos supercríticos**

Las propiedades únicas de los fluidos supercríticos (densidad, viscosidad, poder solvente, etc.), y su capacidad de ajuste mediante las condiciones de operación, principalmente la presión y la temperatura, hay una gran motivación para su utilización en una gran variedad de aplicaciones. A continuación, se describen brevemente los principales campos de aplicación de los fluidos supercríticos. Se pueden encontrar más detalles sobre estas aplicaciones en la bibliografía y citas mencionadas.

### **2.3.1 Cromatografía**

La cromatografía supercrítica (SFC, por sus siglas en inglés) combina los fluidos supercríticos con las técnicas cromatográficas, utilizando diversos métodos de detección. Es una técnica en la cual los componentes de una mezcla se separan en función de sus interacciones diferenciales con dos fases químicas o físicas: una fase estacionaria y una fase móvil (el fluido supercrítico). Esta técnica en particular utiliza las propiedades similares a la de un líquido (densidad y la difusividad) del FSC, lo que le proporciona una alta capacidad de solubilizar los analitos, mientras que las propiedades cercanas a la de un gas (viscosidad y difusividad) le aportan una gran eficiencia de separación a una alta

velocidad de fase móvil. Estas características le otorgan muchas ventajas, como alta eficiencia de separación, bajo consumo de solventes orgánicos y corto tiempo de separación. Además, la cromatografía supercrítica tiene esencialmente el mismo perfil de polaridad que la cromatografía de fase normal, lo que lo hace muy adecuado para el análisis de compuestos con polaridades medias y bajas, como los lípidos [97].

### 2.3.2 *Fraccionamiento*

En este proceso, se utiliza un fluido supercrítico para fraccionar una mezcla multicomponente. El fluido se pone en contacto con la mezcla a separar (en forma continua o semicontinua) en condiciones de presión y temperatura tales que permitan la formación de dos fases. Los componentes de la mezcla se distribuyen de manera diferente entre ambas fases: los compuestos más volátiles tenderán a pasar a la fase supercrítica, mientras que los menos volátiles quedarán en la fase líquida. El fraccionamiento supercrítico combina las ventajas tanto de la destilación como de la extracción líquida, ya que separa los componentes tanto por sus diferencias de presión de vapor como por interacciones específicas, por lo que se ha propuesto el nombre de “*destracción*” para este fenómeno [94,98].

### 2.3.3 *Extracción*

La extracción con fluidos supercríticos consiste básicamente de dos pasos: la extracción y la separación del extracto del solvente. En la extracción, el solvente supercrítico fluye a través de un lecho fijo de partículas sólidas y disuelve los componentes extraíbles del material. El solvente alimenta al extractor y se distribuye uniformemente a la entrada del lecho fijo. Luego, el solvente cargado se retira del extractor y se alimenta al precipitador donde se separa el extracto del solvente [99]. El rendimiento de la extracción depende en gran medida de la presión y la temperatura, puesto que influyen sobre las propiedades del solvente (por ejemplo, la densidad) que a su vez están relacionadas con la solubilidad de los compuestos de interés en el fluido supercrítico. Por otra parte, es válido señalar que la optimización de este proceso también depende de otros parámetros como: caudal de fluido, cantidad y tipo de cosolvente, cantidad de muestra (así como tamaño de partícula) y uso de agentes dispersantes [100]. Es un método extensamente utilizado para el aislamiento de componentes con alto valor agregado, como nutracéuticos, productos farmacéuticos y extractos alimenticios, así como productos naturales en general,

especialmente aceites esenciales de plantas aromáticas y compuestos activos como terpenos y polifenoles [101–103].

#### **2.3.4 Reacciones**

En este tipo de proceso, los fluidos supercríticos son utilizados como medio de reacción, participando activamente en la reacción o funcionando únicamente como el medio solvente para los reactivos, catalizadores y productos. Gracias a las propiedades de los fluidos supercríticos (es decir, grandes variaciones en la densidad y la viscosidad con pequeños cambios en la presión y/o temperatura), es posible aumentar las velocidades de reacción siempre y cuando se mantenga o mejore la selectividad. Además, la separación de los productos de los reactivos puede verse favorecida por la facilidad con que se puede ajustar su solubilidad en el solvente supercrítico [104]. Mediante cambios adecuados de presión y temperatura, también es posible modificar el estado de fases del sistema (homogéneo o heterogéneo) del modo más ventajoso para la reacción. La tecnología supercrítica puede ser ventajosa como solvente para reacciones involucradas en el procesamiento de combustibles, biocatálisis, conversión de biomasa, catálisis homogénea y heterogénea, control ambiental, polimerización, síntesis de materiales, síntesis química, entre otras [105–107].

#### **2.3.5 Precipitación y formación de partículas**

Algunos productos utilizados en la medicina, farmacia y la industria de alimentos se pueden obtener utilizando técnicas de alta presión, aprovechando las grandes variaciones de solubilidad que pueden tener muchos fármacos en fluidos supercríticos. Estos incluyen la micronización, encapsulación, y la impregnación de compuestos biológicamente activos en una gran variedad de polímeros. Las propiedades específicas de los fluidos supercríticos permiten la formulación de diferentes tipos de productos con características específicas, como el tamaño de partícula y su distribución, la morfología y la cristalinidad. Las principales tecnologías que utilizan los fluidos supercríticos y sus principios generales se describen brevemente a continuación. Para una profundización en el tema, se recomienda la lectura de las citas referidas en cada caso.

### 2.3.5.1 *Precipitación supercrítica por efecto antisolvente (SAS)*

En este proceso, el polímero y el compuesto activo se disuelven en un solvente líquido y la solución se pulveriza en una cámara de alta presión donde ya existe un fluido supercrítico (antisolvente), lo que provoca un contacto rápido entre los dos medios, haciendo que se formen pequeñas gotitas del compuesto activo junto con el polímero y el solvente original se disuelva en el fluido supercrítico. Esto da como resultado una nucleación y la formación de partículas más pequeñas. El material insoluble puede así recuperarse como polvo. En esta técnica, además de la temperatura y la presión, el tamaño de partícula y la morfología también dependen del patrón de pulverización, del tamaño de gota de la pulverización y de la transferencia de masa entre las gotas y el fluido supercrítico. El patrón de pulverización y el tamaño de la gota dependen aún más de la velocidad de pulverización y de las dimensiones de la boquilla [95].

### 2.3.5.2 *Solución de dispersión mejorada por fluidos supercríticos (SEDS)*

Es una versión modificada del proceso SAS en el que la solución líquida y el fluido supercrítico se rocían juntos usando una boquilla coaxial especialmente diseñada. Aquí, el fluido supercrítico tiene un propósito múltiple, ya que se usa como antisolvente y como medio de dispersión. El contacto espontáneo de las corrientes de alta velocidad de una solución líquida y un fluido supercrítico genera la mezcla finamente dispersa y la precipitación de partículas [104].

### 2.3.5.3 *Partículas a partir de soluciones saturadas de gas (PGSS)*

Es un proceso en el cual el fluido supercrítico se disuelve ya sea en un sustrato, solución o suspensión con la sustancia de interés y luego se hace expandir rápidamente a través de una boquilla. Dependiendo del sistema, se forman partículas sólidas finas o gotas líquidas. Este proceso no requiere que el portador o el material del núcleo sean solubles en el fluido supercrítico. Sin embargo, el solvente debe ser altamente soluble en la fase líquida, favoreciendo que el proceso sea adecuado para polímeros, que generalmente absorben una gran cantidad de dióxido de carbono. En este proceso tanto la morfología como el tamaño de partícula están directamente relacionadas con el tipo de fluido supercrítico y con la temperatura de fusión [107].

### 2.3.6 *Impregnación supercrítica (SSI)*

El proceso consiste en la disolución de un soluto o sustancia de interés en un fluido supercrítico que luego se pone en contacto con una matriz polimérica durante un tiempo determinado. Durante el proceso, la alta difusividad y la baja tensión superficial del fluido supercrítico permiten que el polímero se hinche y promueva la absorción de un compuesto dentro de la matriz polimérica. Transcurrido un tiempo, el sistema es despresurizado a una velocidad controlada, produciéndose una rápida desorción del solvente, quedando retenidas las moléculas de soluto dentro de la matriz polimérica. Este proceso se tratará con más detalle en el capítulo siguiente, por tratarse de la técnica aplicada y estudiada en esta tesis.

### 2.3.7 *Extracción rápida de soluciones supercríticas (RESS)*

Es una tecnología comúnmente utilizada para producir recubrimientos de película delgada, fibras de polímero y grano fino cuando el polímero tiene cierto grado de solubilidad en el fluido supercrítico. La técnica se basa en la diferencia de solubilidad que existe entre polímero y el fluido supercrítico a presiones altas y bajas, respectivamente. En este proceso, la sustancia a micronizar se solubiliza en un fluido (generalmente CO<sub>2</sub>) y se expande de manera rápida en un recipiente a presión más baja, a través de un inyector (*nozzle*) calefaccionado. La etapa de expansión rápida causa una caída repentina en la capacidad de disolución del solvente cuando el fluido sale de su estado supercrítico, causando la nucleación y el crecimiento de cualquier especie de soluto de baja presión de vapor que esté presente en la solución antes de la expansión. En esta técnica, aparte de la presión y la temperatura, la velocidad despresurización juega un papel muy importante dado que posee una fuerte influencia sobre la velocidad de nucleación, la morfología, así como también en el tamaño y distribución de partícula [108].

## 2.4 Conclusiones

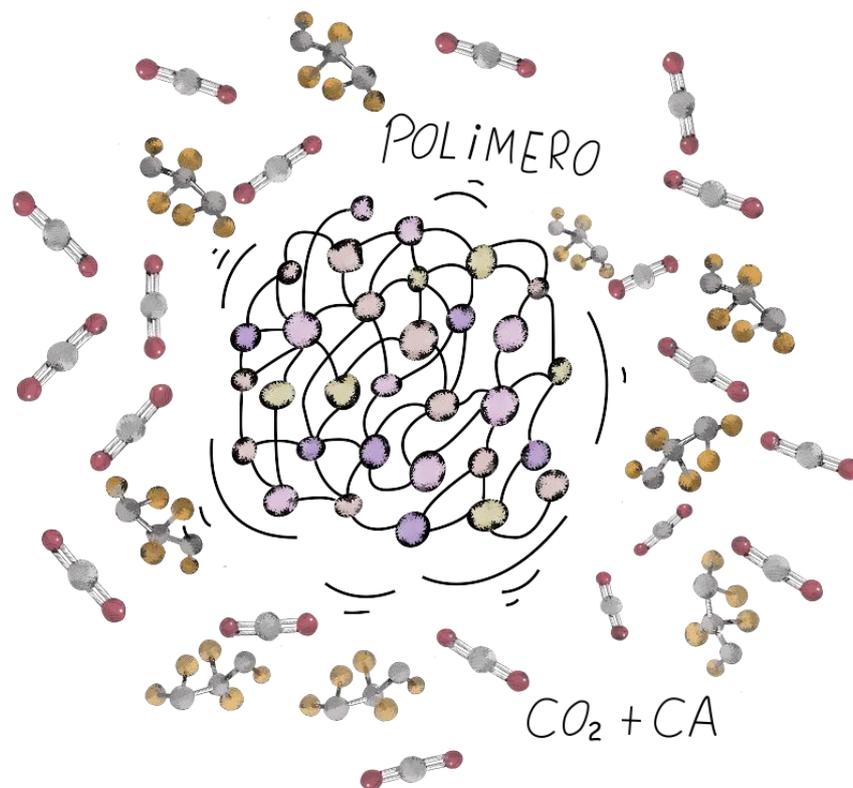
Las propiedades especiales de los fluidos supercríticos tales como la alta densidad (similar a la de los líquidos), alta difusividad (como la de los gases) y baja viscosidad, le otorgan grandes ventajas en el momento de realizar distintas operaciones de separación, extracción, reacción, precipitación e impregnación.

Uno de los fluidos supercríticos más utilizados es el CO<sub>2</sub>, puesto que ofrece múltiples ventajas como solvente: no es tóxico, no es inflamable ni reactivo, tiene bajo costo, requiere condiciones de operación (temperatura, presión) relativamente suaves y tiene una gran capacidad de plastificación e hinchamiento de materiales poliméricos. Estas características le proporcionan cierta versatilidad en el procesamiento de una amplia gama de polímeros y compuestos activos, y facilitan el desarrollo de operaciones como la extracción, separación e incorporación de sustancias apolares y termosensibles.

Los fluidos supercríticos son muy flexibles en su uso como solventes, debido a que se pueden controlar y modificar sus propiedades a partir de pequeños cambios en sus condiciones operativas, por ejemplo, es posible aumentar o reducir su densidad junto con otras propiedades asociadas como la solubilidad, realizando cambios en la presión y/o temperatura, lo que a su vez facilita el control general de un proceso en particular.

## CAPÍTULO 3

# FUNDAMENTOS DE LA IMPREGNACIÓN ASISTIDA POR CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO



## 3. Capítulo 3: Fundamentos de la impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico

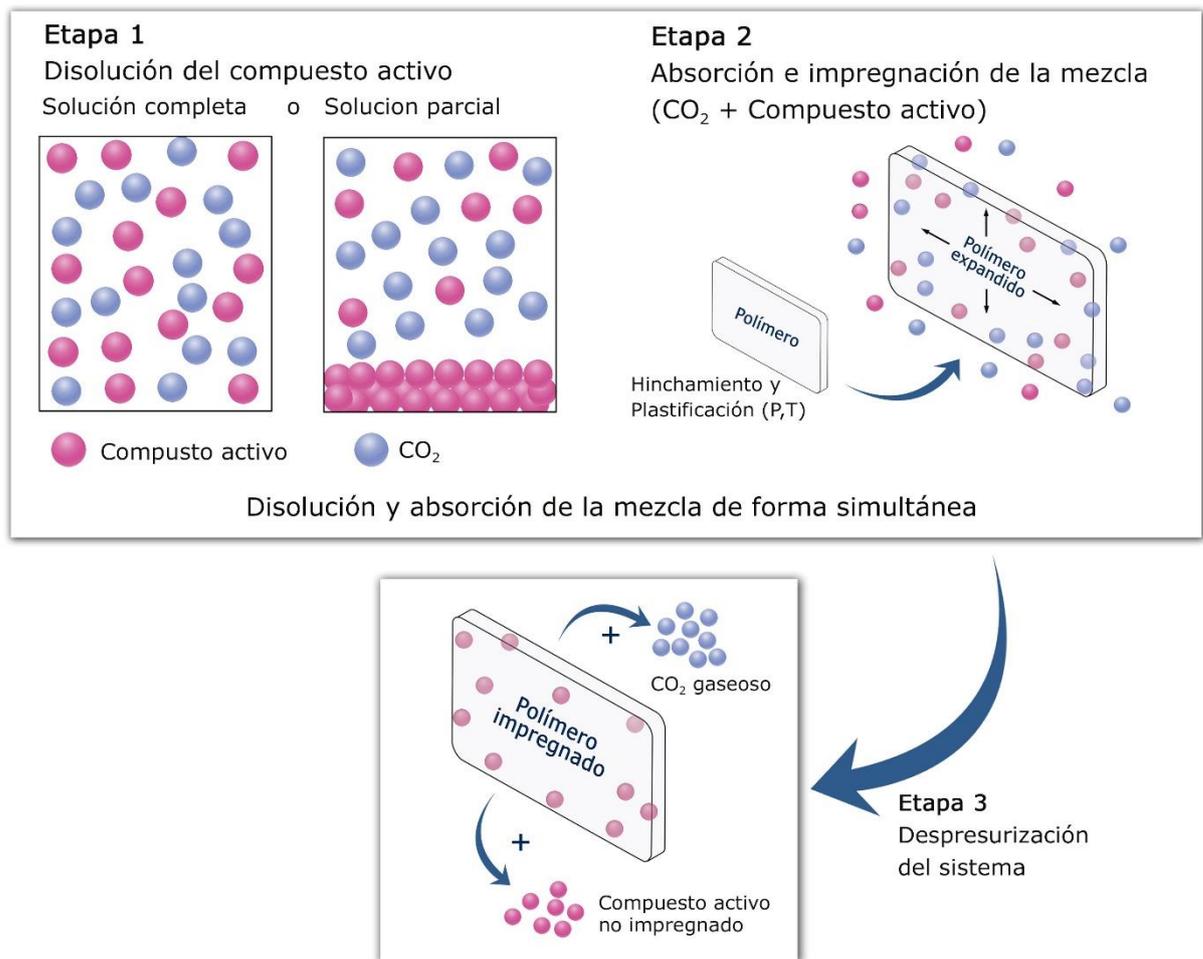
### 3.1 Aspectos generales

La impregnación asistida por dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>-sc) es una técnica interesante y efectiva que ha sido propuesta para incorporar sustancias activas en matrices poliméricas para diferentes aplicaciones. Este proceso utiliza CO<sub>2</sub>-sc como agente promotor para dispersar un compuesto activo o aditivo en un material polimérico. El poder solvente, la alta difusividad y la baja tensión superficial del CO<sub>2</sub> son las propiedades clave que permiten incorporar una variedad de solutos en diferentes polímeros. En este proceso, se pueden distinguir tres etapas: (1) disolución, (2) absorción de la mezcla y (3) despresurización del sistema. Las etapas (1) y (2) pueden ocurrir de modo simultáneo. La Figura 3.1 ilustra las tres etapas principales en un proceso de impregnación supercrítico.

**1) Disolución del aditivo o sustancia activa a impregnar en CO<sub>2</sub>-sc:** este proceso ocurre dentro de una cámara de "saturación" separada o dentro de la misma celda de impregnación.

**2) Sorción de la mezcla supercrítica (compuesto activo y CO<sub>2</sub>-sc) en la matriz polimérica:** en esta etapa, se producen los efectos de hinchamiento y plastificación inducido por CO<sub>2</sub>, aspectos que favorecen la difusión interna de la sustancia activa.

**3) Despresurización del sistema:** durante este procedimiento, se produce una disminución drástica de la densidad de fluido supercrítico por la disminución de la presión, causando una reducción en la solubilidad del soluto en la fase CO<sub>2</sub> y a su vez, una contracción de la matriz polimérica. Cuando el CO<sub>2</sub> es liberado, las moléculas del soluto permanecen retenidas dentro del material, puesto que dejan de ser solubles en CO<sub>2</sub> gaseoso, permitiendo obtener un material impregnado libre disolvente [46,109,110].



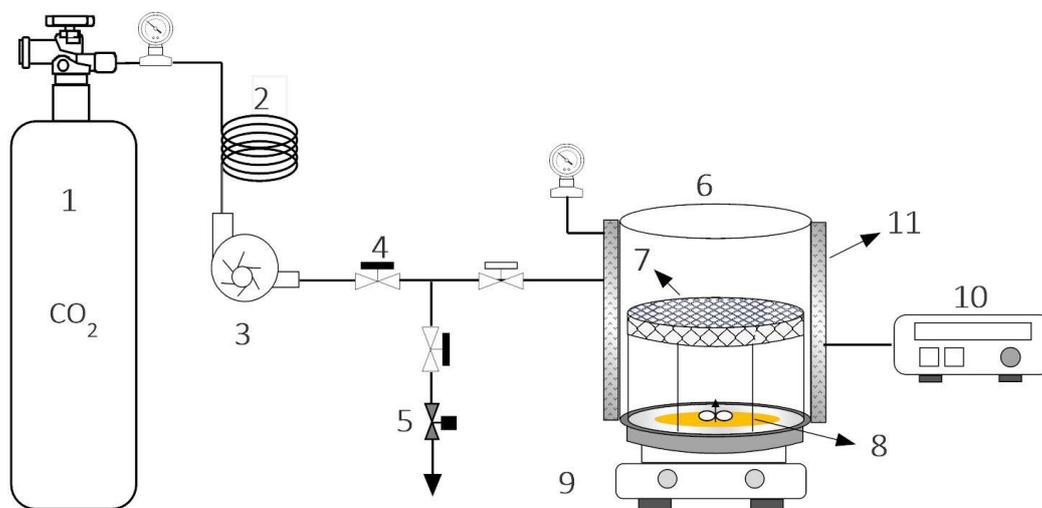
**Figura 3.1.** Esquema representativo de los tres pasos del proceso de impregnación.

La eficiencia de impregnación depende de varios aspectos: las propiedades del polímero (densidad, grado de ramificación, cristalinidad, morfología); interacciones específicas entre el polímero y la sustancia activa; el coeficiente de reparto del sustancia entre el polímero y la fase fluida (y su dependencia de las condiciones de presión y temperatura); la capacidad de hinchamiento y plastificación del solvente [111,112].

Según Kikic y Vecchione [113], el proceso de impregnación supercrítico está definido por dos criterios importantes, el grado de solubilidad del soluto en el fluido supercrítico y la afinidad del soluto con la matriz polimérica. Cuando existe una afinidad importante entre el soluto y polímero, las distintas interacciones químicas que se producen durante el proceso, se convierten en la fuerza impulsora que se refleja en una mayor incorporación y dispersión molecular del soluto en el polímero. Por otra parte, cuando la sustancia

activa presenta una alta solubilidad en  $\text{CO}_2\text{-sc}$ , se facilita el transporte de las moléculas del soluto hacia la matriz y por lo tanto, dependiendo las condiciones del proceso y la afinidad química entre el compuesto activo y el polímero, pueda que se favorezca en gran medida el proceso de impregnación.

El proceso de impregnación asistido por  $\text{CO}_2$  supercrítico, puede llevarse a cabo en tres modos diferentes: (1) Estático, (2) Dinámico y (3) Semi-dinámico. La Figura 3.2 muestra un esquema típico de la configuración experimental para un proceso estático o “*batch*”. En el modo *batch*, las cantidades determinadas de compuesto activo (en exceso o no) y polímero se colocan en el mismo reactor de impregnación, pero físicamente separadas por un filtro de metal o papel para evitar el contacto directo entre ellas. Luego, se introduce  $\text{CO}_2$ , precalentado o no, en la celda de alta presión termostatazada y el sistema se presuriza hasta la presión de trabajo. En esta configuración, la disolución del aditivo y la sorción de la mezcla (aditivo +  $\text{CO}_2\text{-sc}$ ), así como el hinchamiento del polímero, se producen simultáneamente (ver Figura 3.1).



**Figura 3.2.** Sistema de impregnación supercrítica en modo estático o “*batch*”. 1: cilindro de  $\text{CO}_2$ ; 2: serpentín de refrigeración; 3: compresor; 4: válvula; 5: válvula micrométrica; 6: celda de impregnación; 7: soporte metálico; 8: sustancia activa; 9: agitador magnético; 10: controlador de temperatura; 11: camisa de calefacción.

Por otro lado, en un proceso de impregnación *semicontinuo* o *continuo*, la disolución del compuesto activo puede realizarse en el mismo reactor de impregnación o en un recipiente de disolución anterior. En la última opción, la sorción de la mezcla (compuesto activo y  $\text{CO}_2\text{-sc}$ ) en la matriz polimérica comienza solo cuando se permite que la mezcla

supercrítica saturada entre en la celda de impregnación con un flujo constante de CO<sub>2</sub>. A medida que la mezcla supercrítica fluye, se va produciendo el proceso de impregnación y la mezcla supercrítica que sale del segundo recipiente es recirculada nuevamente a la línea de entrada del sistema. En el proceso **semicontinuo** luego de un periodo de recirculación la mezcla supercrítica es purgada al final de la línea del proceso. Después de la purga, el sistema es cargado nuevamente con el compuesto activo y CO<sub>2</sub> fresco para realizar el mismo procedimiento. Este tipo de configuración ha sido implementada por Ubeyitogullari y Ciftci [114,115] en la impregnación de partículas de fitoesteres en aerogeles de almidón, Manna y col. [116] en la impregnación con CO<sub>2</sub>-sc de ketoprofeno en micropartículas de PVP, García-Casas y col. [117] en la incorporación de quercetina en micropartículas de sílice porosa a través de CO<sub>2</sub>-sc y Milovanovic y col. [118] en la incorporación de timol en films de PLA/PCL mediante CO<sub>2</sub>-sc.

En el **método continuo**, luego de un tiempo determinado de recirculación, la mezcla supercrítica es derivada a una segunda celda de impregnación que se encuentra con polímero virgen para comenzar un nuevo ciclo de impregnación luego de alcanzadas las condiciones del proceso. La cantidad de mezcla supercrítica que no se alcanza a transferir entre un tanque de impregnación y otro, se ventea al exterior. Algunos estudios han reportado el uso del modo dinámico en sus distintas aplicaciones [119,120].

A diferencia de otras tecnologías convencionales utilizadas para incorporar sustancias activas en polímeros, la técnica impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico ofrece importantes ventajas, tales como:

- ✓ Permite la impregnación de una gran cantidad de diferentes polímeros naturales y sintéticos.
- ✓ Facilita la incorporación de diferentes tipos de solutos orgánicos en materiales poliméricos, principalmente compuestos hidrofóbicos y termosensibles como drogas y aceites esenciales.
- ✓ La incorporación de solutos y el grado de impregnación se pueden ajustar cambiando las condiciones del proceso (por ejemplo: presión, temperatura y velocidad de despresurización).
- ✓ El producto final queda completamente libre de cualquier contaminación residual por solvente.

- ✓ Como el CO<sub>2</sub> es un gas en condiciones ambientales, se evapora completamente al despresurizar y no se requieren etapas posteriores de secado de los productos.
- ✓ La técnica permite trabajar en condiciones relativamente suaves gracias a bajo punto crítico del CO<sub>2</sub> ( $T_c = 31.4^\circ\text{C}$ ;  $P_c = 7.38 \text{ MPa}$ ), deseable cuando se quiere impregnar compuestos de base natural con actividad biológica.

### 3.2 Interacción CO<sub>2</sub>/polímero

En el proceso de impregnación con CO<sub>2</sub>-sc, es necesario la comprensión del comportamiento de fase de los sistemas polímero—fluido supercrítico, por lo tanto, se deben considerar varios fenómenos asociados, como la solubilidad de CO<sub>2</sub> en polímeros (absorción del polímero), la reducción de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), la plastificación inducida por CO<sub>2</sub>, la difusión y la cristalización.

#### 3.2.1 Solubilidad de CO<sub>2</sub> en polímeros

La capacidad de ajustar las propiedades físicas de los fluidos supercríticos, al cambiar la presión y la temperatura, facilita el control de las propiedades físicas de un polímero en comparación con los aditivos poliméricos tradicionales, que a menudo son difíciles de controlar y separar con precisión [10]. Dada la importancia que tiene la solubilidad del CO<sub>2</sub> en polímeros, un número considerable de investigaciones se han centrado en las propiedades termodinámicas y/o cinéticas de la absorción del CO<sub>2</sub>-sc en una variedad de matrices poliméricas. La Tabla 3.1 resume algunos ejemplos de estudios publicados acerca de la absorción de CO<sub>2</sub> en distintos materiales poliméricos.

**Tabla 3.1** Ejemplos de medición de solubilidad de CO<sub>2</sub> en algunas matrices poliméricas

<b>Autor</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método</b>	<b>Ref.</b>
Berens y col.	PMMA, PVA, PVC, PA6	Gravimétrico	[121]
Lin y col.	PBAT	Gravimétrico	[122]
Muth col.	PVC	Gravimétrico	[123]
Kazarian col.	PMMA	Espectroscopía IR	[124]
Schnitzler y Eggers	PET	Gravimétrico	[125]
Sato y col.	PVA y poliestireno	Balanza de suspensión magnética	[126]
Tang y col.	Polisulfona	Gravimétrico	[127]
Cravo y col.	PHBV	Gravimétrico	[128]
Yu y col.	PLLA	Gravimétrico	[129]
Aionicesei y col.	PLLA	Balanza de suspensión magnética	[130]
Pantoula y Panayiotou	PMMA y Poliestireno	Microbalanza de cristal de cuarzo	[131]
Azimi y Razaei	PMMA/estireno	Balanza de suspensión magnética	[132]
Ivanovic y col.	Policaprolactona	Balanza de suspensión magnética	[133]
Fried y col.	CA/PMMA	Espectroscopía IR	[134]
Aubert	PMMA, PI, PC, PS	Microbalanza de cristal de cuarzo	[135]

Según Berens y col. [136], la solubilidad del CO<sub>2</sub> en muchos polímeros es tan alta como la de los típicos solventes orgánicos en estado líquido que suelen usarse como agentes de hinchamiento, oscilando entre aproximadamente el 10 y más del 30% en peso. En sistemas CO<sub>2</sub> /polímero, a densidades bajas, la solubilidad del CO<sub>2</sub> disminuye con el incremento de la temperatura, mientras que, a densidades más elevadas, la solubilidad del CO<sub>2</sub> se incrementa con el aumento de la temperatura [130,137,138]. En la Figura 3.3, se observa el efecto de la presión y la temperatura en las curvas absorción CO<sub>2</sub> en policarbonato y PLLA.

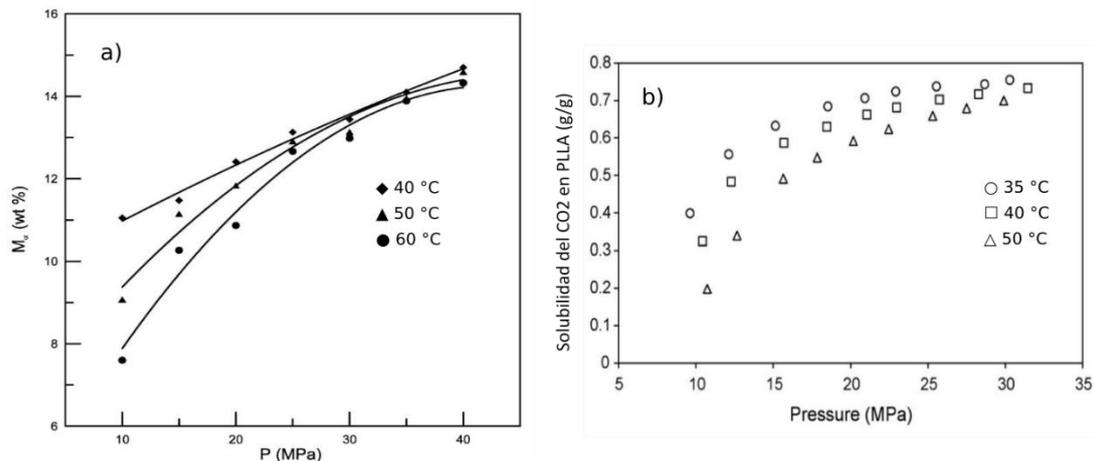


Figura 3.3. Solubilidad del CO<sub>2</sub> en a) policarbonato [137], b) PLLA [130]

Teniendo en cuenta lo anterior, varios métodos y configuraciones experimentales han sido propuestos para medir la cinética de sorción de CO<sub>2</sub> en polímeros. Entre los estudios destacados, Fried y col. [134], implementaron la técnica de espectroscopía infrarroja para medir la solubilidad del CO<sub>2</sub> en acetato de celulosa (CA) y polimetilmetacrilato (PMMA). De acuerdo con sus resultados, los autores sugieren que existe una interacción dipolo-dipolo entre el CO<sub>2</sub> y los grupos carbonilos de las cadenas poliméricas. Por su parte Aubert [135], utilizó el método de microbalanza de cristal de cuarzo para ganar mayor precisión en la determinación de la solubilidad del CO<sub>2</sub>-sc en 10 clases de polímeros. Berens y col. [136], propusieron un método de desorción gravimétrico para analizar la absorción/desorción y determinar difusividad del CO<sub>2</sub>-sc en 4 tipos de polímeros vitreos PMMA, acetato de polivinilo (PVA), cloruro de polivinilo (PVC) y policarbonato (PC). Este último método fue empleado para medir la solubilidad del CO<sub>2</sub> en Poliamida 6 (PA6) como parte de este trabajo doctoral, por lo que se explicará con más detalle en el capítulo 4.

Por otra parte, el CO<sub>2</sub> es un solvente razonable para moléculas pequeñas, tanto polares como no polares. Para muchos compuestos, incluidos los monómeros más comunes, se puede obtener una miscibilidad completa a presiones elevadas. Sin embargo, el punto crítico de la mezcla, es decir, la presión más baja a una temperatura dada donde el CO<sub>2</sub> aún es completamente miscible, aumenta bruscamente con el aumento del tamaño de la molécula. En consecuencia, la mayoría de los componentes y polímeros más grandes exhiben una solubilidad muy limitada en CO<sub>2</sub>. Los polímeros que exhiben una alta solubilidad en CO<sub>2</sub> se caracterizan típicamente por: una estructura principal flexible y un

volumen libre alto (por lo tanto, una  $T_g$  baja) e interacciones débiles entre los segmentos de polímero [9].

### 3.2.2 Efecto plastificante

Este fenómeno se produce cuando la matriz polimérica absorbe  $\text{CO}_2$  y se hincha de tal manera en que el fluido actúa como una especie de "lubricante", promoviendo que las moléculas de la cadena se deslicen unas sobre otras, incrementando su movilidad y, en consecuencia, el ablandamiento del polímero. La presencia de moléculas de  $\text{CO}_2$  disueltas en un polímero da como resultado la plastificación de los dominios amorfos de la matriz, y una disminución importante en la  $T_g$ . El efecto de plastificación facilita las propiedades de transferencia de masa de solutos dentro y fuera de la fase polimérica y está determinado en gran medida por las interacciones polímero—solvente [9]. La plastificación de polímeros se ha estudiado durante años, algunas investigaciones se han desarrollado sobre el análisis de este efecto como tal, en la movilidad de grupos éster del PMMA [139], anillos de fenilo en el poliestireno [140] y el aumento de volumen libre [141].

### 3.2.3 Cristalinidad de polímeros

La plastificación inducida por  $\text{CO}_2$  en cadenas amorfas de polímeros semicristalinos tiene implicaciones morfológicas significativas debido a la posible formación de cristales. Este fenómeno se produce en algunos polímeros cuando la movilidad de sus cadenas inducida por  $\text{CO}_2$  les permite reorganizarse en configuraciones cinéticamente más favorables, provocando la formación de regiones cristalinas. Tras la despresurización del sistema, el  $\text{CO}_2$  escapa rápidamente de la matriz y deja las alteraciones morfológicas inducidas "congeladas". De esta manera, el  $\text{CO}_2$  puede verse como una "herramienta de modificación morfológica temporal", puesto que una vez que se ha inducido la morfología deseada, el  $\text{CO}_2$  puede eliminarse del polímero por completo [11]. En múltiples estudios se ha encontrado que el  $\text{CO}_2$  puede cambiar el grado de cristalinidad de ciertos polímeros como el PET [125,142]; Poli (aril éter cetona) [143]; ácido poliláctico [144] entre otros. En este sentido, la absorción de  $\text{CO}_2$  puede producir un efecto recristalizante análogo al inducido por tratamientos térmicos ("annealing").

Por otra parte, el efecto plastificante del CO<sub>2</sub> produce también una reducción en la  $T_g$ , debido a la mayor movilidad de las cadenas en la zona amorfa, haciendo al polímero más susceptible a la penetración de otros compuestos [145]. El CO<sub>2</sub> también solvata débilmente los segmentos moleculares del polímero, actuando así como un “lubricante molecular” [146], disminuyendo las interacciones cadena-cadena y aumentando la distancia entre cadenas. Este efecto puede afectar incluso a todo el polímero, modificando también la parte cristalina en materiales semicristalinos, provocando una disminución del grado de cristalinidad. Este efecto de disminución en la cristalinidad en polímeros ya ha sido observado en diferentes estudios de impregnación con CO<sub>2</sub> tales como: la impregnación de scaffolds de PCL con extracto de líquen *Usnea* patagónico [147], impregnación de films de LLDPE con eugenol [112]; incorporación de  $\alpha$ -tocoferol en films de PET/PP mediante CO<sub>2</sub>-sc, impregnación de fitoesteres en aerogeles de almidón nanoporosos [115]; entre otros.

#### 3.2.4 Difusión de solutos en polímeros

Por encima de la  $T_g$ , la velocidad de relajación de cadenas de un polímero es más rápida que la difusión de CO<sub>2</sub>, por lo que es de esperar que la difusión obedezca la ley de Fick. La difusión de CO<sub>2</sub> ocurre principalmente dentro de las cadenas amorfas de la matriz polimérica, y por esta razón la difusión en polímeros semicristalinos puede ser más compleja que en polímeros vítreos. En el caso de los polímeros semicristalinos, el CO<sub>2</sub> es prácticamente insoluble en las estructuras cristalinas. En consecuencia, el grado de cristalinidad y/o la fracción amorfa disponible para las moléculas de CO<sub>2</sub> pueden influir en las características de difusión. Además, es probable que la cristalización inducida por CO<sub>2</sub> conduzca un incremento en el factor de tortuosidad y, por tanto, un aumento de la longitud de la ruta de difusión en función del tiempo [12].

El efecto de plastificación e hinchamiento del CO<sub>2</sub> disuelto en la matriz polimérica puede acelerar la difusión de aditivos en la matriz. La “*lubricación molecular*” proporcionada por las moléculas de CO<sub>2</sub> disueltas dentro del polímero, hace que la difusión de solutos proceda de una manera menos obstaculizada. La facilidad con que un soluto difunde a través de la matriz se debe a la plastificación, aumento en el volumen libre y al grado de “*fricción molecular*” que se produce entre las funcionalidades del soluto difundente y las cadenas poliméricas.

El contenido de CO<sub>2</sub> en la matriz permite manipular el volumen libre de polímero, y las características de difusión del soluto pueden también "ajustarse" mediante el control de temperatura y presión. Cuando la concentración del CO<sub>2</sub> disuelto es baja, las distancias entre cadenas del polímero son menores que en altas concentraciones, lo cual se refleja en una menor velocidad de difusión [9]. Diferentes investigaciones se han realizado para determinar el coeficientes de difusión de sustancias en polímeros en CO<sub>2</sub> supercrítico, tales como difusión de colorantes artificiales en poliéster, polietileno y PET [45,46,47] y monoterpenos en polietileno de baja densidad (LDPE) [150], ácido mefenámico en PMMA [151] y radical nitróxido (TEMPONE) en PDLLA hinchado por CO<sub>2</sub> [152].

### 3.3 Efecto de las condiciones de operación sobre el rendimiento de impregnación

#### 3.3.1 Efecto de la presión

Para un proceso de impregnación en condiciones isotérmicas, el gradiente de concentración del soluto establecido entre la fase CO<sub>2</sub> y el polímero depende de la saturación de la fase CO<sub>2</sub> con el compuesto activo y del mantenimiento de esta condición durante el ensayo de impregnación. En este sentido, si la fase de CO<sub>2</sub> se mantiene saturada con el compuesto activo (debido a un exceso del aditivo dentro de la celda de impregnación), el aumento de la presión (o densidad) de CO<sub>2</sub> conducirá a un aumento de la cantidad del compuesto disuelto en la fase de CO<sub>2</sub>-sc. Por lo tanto, el soluto estará más concentrado en la fase fluida, a medida que la presión aumenta, generando un gradiente de concentración mayor del compuesto activo entre la fase de CO<sub>2</sub> y la matriz polimérica, lo que promoverá la impregnación del compuesto en el material. A esto se suma el fenómeno de hinchamiento del polímero que se incrementa con la presión de CO<sub>2</sub>, lo que podría ser positivo para la incorporación del aditivo, ya que esto facilita su difusión dentro del polímero. Un gran número de estudios han reportado este efecto positivo de la presión sobre la incorporación de distintos compuestos activos en polímeros [49,112,153–155].

Por otro lado, el aumento de la presión podría ser contraproducente en el proceso de impregnación. El incremento en la presión de una fase CO<sub>2</sub> inicialmente no saturada con el compuesto activo resultará en un efecto de dilución, ya que se produce un aumento de la fracción másica y/o densidad del CO<sub>2</sub> con la presión (en un recipiente de volumen constante), mientras permanece constante la masa del soluto disuelto en dicha fase. En

tal sentido, a medida que aumenta la presión, se genera un gradiente de concentración más bajo del compuesto activo establecido entre la fase de CO<sub>2</sub> y la matriz polimérica, lo que resulta en un efecto negativo en el proceso de la incorporación del aditivo en la estructura del polímero. Algunos estudios han informado tal efecto sobre el proceso de impregnación [156–158].

Finalmente, la presión también puede tener un efecto sobre el equilibrio de partición del soluto, es decir, a mayor presión es más probable que la partición se desplace hacia la fase fluida, al aumentar el poder solvente del CO<sub>2</sub>. No obstante, con el incremento de la presión, también aumenta la plastificación del polímero, por lo que el resultado final dependerá de cuál de estos dos efectos prevalezca.

### 3.3.2 Efecto de la temperatura

La temperatura es otro parámetro importante que puede afectar la impregnación supercrítica de un soluto en una matriz polimérica. El posible efecto depende principalmente de dos condiciones del proceso, (1) si se decide operar o no por encima del punto crítico de mezcla y (2) si el rango de presión utilizado se encuentra por encima o por debajo de la presión de crossover. Como se mencionó en el capítulo anterior, la presión de *crossover* es aquella sobre el cual aumenta la solubilidad de un soluto, mientras que por debajo de este punto la solubilidad disminuye con la temperatura a presión constante [159].

Cuando se requiere operar en condiciones de miscibilidad completa (es decir, hay disolución completa del compuesto activo en la fase CO<sub>2</sub>), en este punto la temperatura no tienen un efecto significativo en el proceso incluso si el compuesto activo, la fase CO<sub>2</sub> y el rango de presión utilizado se encuentren por debajo de la presión de crossover debido a que el soluto se encuentra totalmente solubilizado en el CO<sub>2</sub>-sc [160].

Sin embargo, cuando se requiere operar en condiciones de miscibilidad parcial (i.e. existe un exceso de masa del compuesto activo dentro de la celda de impregnación), el efecto de la temperatura dependerá principalmente de la solubilidad del compuesto en la fase CO<sub>2</sub>. De este modo, para un experimento donde el compuesto activo se encuentra en exceso y se trabaja por debajo de la presión de crossover, el aumento de la temperatura a una presión constante podría tener un efecto negativo en la impregnación debido a la disminución en el poder solvente del CO<sub>2</sub>, como consecuencia de la disminución de la

densidad, y la cantidad de compuesto activo disuelto. Algunas investigaciones han reportado este efecto negativo de la temperatura sobre la incorporación de solutos en matrices poliméricas [114,154,155].

Por último, el aumento de la temperatura podría afectar las propiedades estructurales del polímero y, en consecuencia, sus propiedades de transporte. Por encima de la temperatura de transición vítrea, la movilidad de las cadenas del polímero facilitaría la difusión de la solución supercrítica (compuesto activo + CO<sub>2</sub>-sc) en el polímero, a partir de un mayor grado de absorción CO<sub>2</sub> e hinchamiento de la matriz [161]. Esta tendencia ha sido observada por algunos autores en sus experimentos de impregnación [120,162,163].

### ***3.3.3 Velocidad de despresurización***

La velocidad de despresurización es un parámetro esencial con el cual finaliza el proceso de impregnación y el rendimiento de este podría estar afectado dependiendo de la forma en que se realice este procedimiento. Generalmente la velocidad con que se lleva a cabo la despresurización se encuentra en un rango entre 0.05 y 10 MPa/min. Por tanto, la forma en que se implementen estas velocidades podría aumentar la fuerza de las interacciones fisicoquímicas entre el polímero y el compuesto activo [161].

Para compuestos activos con baja afinidad hacia un polímero, una velocidad de despresurización rápida podría aumentar la cantidad de aditivos incorporados debido a la rápida disminución del poder solvente del CO<sub>2</sub>, pero también podría causar cambios estructurales no deseados dentro de la estructura del polímero, como un efecto de espumado, agrietamiento o incluso podría destruir el material debido al aumento drástico del volumen de CO<sub>2</sub>. Mientras que una disminución controlada de la presión protegería la matriz, pero podría causar una pérdida excesiva de soluto en el fluido supercrítico, dependiendo de la presión inicial. En consecuencia, la velocidad de despresurización es un parámetro que debe optimizarse para cada sistema polímero—solutos—solvente [112,161].

A una velocidad de despresurización lenta, el proceso podría facilitar la absorción o deposición de un compuesto activo en un polímero solo si este permanece disuelto en la fase supercrítica (el soluto se encuentra muy lejos de su límite de solubilidad), de esta forma, se mantiene una mayor afinidad polímero—solutos que la establecida entre soluto

y el CO<sub>2</sub> durante la mayor parte de la descompresión. Algunas investigaciones han reportado un efecto positivo de la velocidad de despresurización sobre la incorporación de aceite esencial de orégano en microesferas de almidón [164], la impregnación de lactulosa en quitosano [119], incorporación de quercetina y timol en apósitos de algodón [165].

Por otra parte, si el soluto se mantiene cerca de su límite de solubilidad en la fase CO<sub>2</sub>, es probable que exista poca dependencia de la velocidad de despresurización en la incorporación del soluto.

No obstante, cuando la afinidad entre soluto y la fase del CO<sub>2</sub> es mayor que la interacción polímero—soluto, el uso de una descompresión lenta puede ser contraproducente debido a que es más probable que el soluto se mantenga disuelto en la fase supercrítica en lugar del polímero. Además, parte del compuesto podría nuevamente solubilizarse en la fase de CO<sub>2</sub> y escapar con él, causando una disminución en el rendimiento final de impregnación. Varios estudios han reportado una disminución del rendimiento de impregnación a partir de una descompresión lenta [154,155], mientras que otras investigaciones han reportado que la velocidad de despresurización puede ocasionar efectos notables sobre la estructura del polímero, por lo que dependiendo del tipo de matriz polimérica y la forma en que se efectúe la operación, la despresurización podría facilitar la retención o liberación del compuesto activo impregnado [155,166].

#### *3.3.4 Tiempo de contacto*

La impregnación del soluto en un polímero en CO<sub>2</sub>-sc, es un proceso gobernado por la termodinámica y la cinética de transferencia de masa. Las condiciones de equilibrio (cantidad máxima del compuesto activo que puede incorporarse al material) dependen solo de la termodinámica y, por lo tanto, dependerá de las condiciones operativas como la presión, la temperatura y las concentraciones globales del sistema. En cambio, el tiempo requerido para alcanzar las condiciones de equilibrio, dependerá de la cinética de impregnación que está gobernada por el gradiente de concentración entre la fase fluida y el polímero y por supuesto la afinidad química entre estas dos fases [161]. Esto significa que, cada sistema polímero—CO<sub>2</sub>—soluto presenta características termodinámicas y cinéticas particulares. El tiempo de contacto puede tener algunos efectos sobre el material impregnado, por ejemplo, finalizar la impregnación antes de alcanzar el

equilibrio crea un gradiente de concentración del compuesto activo a lo largo de la sección transversal que puede dar un perfil de liberación adecuado para algunas aplicaciones específicas [167]. Así mismo, Xu y col. [168] señalan que el equilibrio de impregnación puede depender también de la forma en que evoluciona la cristalización inducida por el CO<sub>2</sub> en polímeros semicristalinos. Un ejemplo de este efecto se observó en el estudio de Sugiura y col. [169] donde la impregnación supercrítica de una droga hidrofóbica (tranilast) en fibras de PLLA disminuyó después de 20 min debido a la recristalización y luego alcanzó el equilibrio después de 1 h.

Por otro lado, algunos estudios sugieren que es importante implementar un tiempo de contacto lo suficientemente largo para alcanzar las condiciones de equilibrio. Fernandez-Ponce y col. [170], estudiaron la cinética de impregnación con CO<sub>2</sub>-sc de extracto de hojas de mango en tejidos de algodón a 30 MPa, 45 °C, 0.5 MPa min<sup>-1</sup> y distintos tiempo de contacto (3,5,10 y 24 h). Los resultados indicaron que al aplicar un tiempo de contacto más prolongado (24h) se alcanzó la máxima cantidad de polifenoles impregnados en las fibras de algodón mejorando inclusive las actividades antioxidantes del material tratado. Una tendencia similar fue observada por Franco y col. [171] al incorporar mediante la impregnación con CO<sub>2</sub>-sc  $\alpha$ -tocoferol en films de PET/PP a 17 MPa, 40°C y diferentes tiempos de impregnación (2 – 48 h). En este estudio se encontró que la cantidad de  $\alpha$ -tocoferol impregnada en el material aumentó significativamente al utilizar tiempos de contacto más prolongados. Sin embargo, los resultados revelaron que, aunque el tiempo máximo de contacto fue de 48 h, el equilibrio se alcanzó a partir de las 24 horas de impregnación. Por su parte, Pajnik y col. [172] en la impregnación supercrítica del extracto de piretro en fibras de algodón (8 MPa, 40°C y 1,2,4,8,18 y 24 h) encontraron que al implementar 24 horas de impregnación se alcanzó la máxima saturación del compuesto activo en el material de algodón. Milovanovic y col. [163] también observaron un fenómeno parecido en la cinética de impregnación del timol en acetato de celulosa a 20 MPa, 35 °C y diferentes tiempos de contacto (2 – 44 h). Los autores señalan que, para este caso, la saturación máxima también fue alcanzada a las 24 h de impregnación.

### **3.4 Antecedentes de impregnación con FSC**

Numerosos autores han aplicado la técnica de impregnación supercrítica para incorporar sustancias activas en diferentes matrices poliméricas que van desde extractos de plantas

hasta drogas sintéticas, apuntando en general a determinar las condiciones óptimas de operación (presión, temperatura, velocidad de despresurización, velocidad de agitación, velocidad de enfriamiento y tiempo de contacto), así como el análisis de aspectos cinéticos del proceso (cinética de impregnación o absorción de CO<sub>2</sub>) y la evaluación de los productos obtenidos en términos de rendimientos de impregnación, cinética de liberación, propiedades mecánicas, térmicas y morfológicas entre otras. La Tabla 3.2 resume una compilación variada de trabajos publicados durante las dos últimas décadas sobre la impregnación supercrítica de sustancias activas en diferentes materiales poliméricos.

En este contexto, cabe resaltar que en la mayoría de las investigaciones en donde se aplica esta técnica, se pretende desarrollar materiales, sistemas o dispositivos que mejoren la accesibilidad y compatibilidad del aditivo, con el fin de obtener una liberación sostenida capaz de administrar el compuesto durante períodos cortos o prolongados a una velocidad constante, evitando las fluctuaciones y dosificaciones excesivas.

Bajo esta perspectiva es posible notar que la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc ha estado presente en un gran número de estudios y aplicaciones tal como se resumen en la Tabla 3.2. Sin embargo, esta técnica ha tenido un importante campo de acción en el desarrollo de materiales y dispositivos con aplicaciones biomédicas. Dado que la investigación principal realizada en el marco esta tesis está relacionada con el uso de la técnica de impregnación supercrítica en la incorporación de una sustancia bioactiva en un polímero para una aplicación odontológica, resulta de gran importancia destacar algunos trabajos previamente mencionados que se encuentran en una línea similar de aplicación. Por ejemplo, en el desarrollo de tejidos funcionales, Markovic y col. [20], evaluaron la incorporación del timol en nanofibras de polipropileno a partir de la impregnación con CO<sub>2</sub>-sc combinando diferentes presiones (7, 10 and 20 MPa) y temperaturas (35 y 50°C), en tiempos de impregnación entre 2 y 44 h. De acuerdo con los resultados, los rendimientos de impregnación estuvieron en un rango de 4.51% a 72.26% dependiendo de las condiciones de operación, mientras que, los ensayos microbiológicos de las muestras tratadas con timol mostraron actividad antimicrobiana y antifúngica contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y el hongo *Candida albicans*. De igual manera, Milovanovic y col. [156], estudiaron la incorporación timol en gasas de algodón

con CO<sub>2</sub> supercrítico para obtener fibras con propiedades antimicrobianas. En sus experimentos observaron que los rendimientos de impregnación de timol en el material de algodón rondaron entre 11% y 19.6%, después de 2 h y 24 h respectivamente a 35 °C y 15.5 MPa. Adicionalmente las muestras tratadas con timol mostraron una fuerte actividad antimicrobiana contra las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Asimismo, Markovic y col. [173] desarrollaron de un material funcional mediante la impregnación de timol con CO<sub>2</sub>-sc en nanofibras de PA6. En este trabajo se observó que es posible fabricar nanofibras de PA6 con contenidos de timol que van desde un 6% (a 7 MPa y 25 °C) hasta un 60% (a 20 MPa y 35 °C). Adicionalmente, se notó que las fibras con mayor porcentaje de timol experimentaron un mayor hinchamiento y, por tanto, cambios en sus dimensiones originales. Los autores sugieren que los porcentajes de timol en el material probablemente se deban a una buena interacción entre los grupos hidroxilos del timol que forman enlaces de hidrógeno con los átomos de nitrógeno de los grupos amida del polímero.

La impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico también ha demostrado ser una técnica de gran utilidad en el desarrollo de lentes de contacto y lentes intraoculares con propiedades específicas, permitiendo obtener distintos tipos de implantes oculares que sostienen el fármaco por más tiempo y lo liberen de forma controlada en el líquido lagrimal, favoreciendo la absorción de la sustancia activa en la zona afectada. Uno de los estudios que se destaca en esta aplicación es el de Bouledjoudja y col. [10], quienes estudiaron el proceso de impregnación de ciprofloxacina (CIP) y dexametasona 21 fosfato de sodio (DXP) en un lente de contacto comercial a base de poli-2-hidroxietil metacrilato (P-HEMA) para el tratamiento de cataratas. En este trabajo se realizaron ensayos a 8 y 20 MPa, 35 °C durante 30 – 240 min, utilizando una presurización y despresurización lenta (0.2 MPa/min) para obtener un lente transparente y evitar la aparición de espuma indeseable. Los máximos valores de impregnación para DXP y CIP en P-HEMA fueron 14.53 y 4.12  $\mu\text{g}_{\text{dro}}/\text{mg}_{\text{IOL}}$  respectivamente, indicando que hubo una mayor afinidad del DXP por P-HEMA que el CIP. El aumento de la presión fue un factor clave en el rendimiento de impregnación para ambos compuestos activos, mientras que el uso etanol (5%mol) como cosolvente mejoró la carga del DXP en P-HEMA hasta un 50 % y en CIP tan solo un 7 %. En un trabajo similar, Ongkasin y col. [175] incorporaron

metotrexato mediante CO<sub>2</sub>-sc un lente intraocular comercial compuesto por una mezcla de (PMMA y P-HEMA) en condiciones similares de presión (8 y 25 MPa) y tiempos de impregnación (30 y 240 min). En este sistema el rendimiento de impregnación estuvo entre 0.43 y 0.75  $\mu\text{g}_{\text{dro}}/\text{mg}_{\text{IOL}}$  y el valor más alto de metotrexato impregnado se obtuvo a 8 MPa, 35 °C y 250 min. El uso de cosolvente no tuvo mayor impacto en el tratamiento. Asimismo, se observó que la presión tuvo un efecto negativo en el proceso de impregnación y en la cinética de liberación, de ahí que el porcentaje de impregnación se redujo hasta un 43% al aumentar la presión de 8 a 25 MPa, y el tiempo de liberación disminuyó de 117 a 87 días para muestras impregnadas durante 250 min. Yokozaki y col. [176] por su parte, evaluaron el efecto de la presión y temperatura (9 - 15 MPa, 35 – 45°C y 0.06 -0.18 MPa min<sup>-1</sup>) sobre rendimiento de impregnación y la cinética de liberación del ácido salicílico (AS) impregnado con CO<sub>2</sub>-sc en un lente de contacto de hidrogel comercial. Los resultados indican que, en presencia de agua, la masa total de AS en el lente aumentó con la presión, y disminuyó con la temperatura, utilizando la velocidad de despresurización más lenta. Además, los perfiles de liberación revelaron que, los lentes impregnados mediante CO<sub>2</sub>-sc, liberan el AS de manera más prolongada que aquellas que fueron impregnadas mediante inmersión en solución acuosa de SA (2.0 g/l).

En otro campo de la biomedicina, algunos trabajos han reportado exitosamente el uso de la impregnación supercrítica para la fabricación de implantes biomédicos. Una de las aplicaciones más destacada en este segmento es la del desarrollo de catéteres biodegradables a base de alginato y goma gellan impregnados con un fármaco que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas [177]. Barros y col. lograron incorporar hasta un 16.64% de Ketoprofeno dentro de un catéter de goma gellan en condiciones relativamente suaves (10 MPa y 40°C). De acuerdo con los resultados de la cinética de liberación, el sistema fue capaz de liberar el ketoprofeno en solución de orina artificial en las primeras 72 horas, obteniendo un aspecto deseable en el dispositivo, ya que esto permitiría liberar el compuesto activo de manera local y rápida durante el tratamiento.

Estos estudios permiten concluir que es factible desarrollar materiales biomédicos con propiedades activas para distintas aplicaciones mediante la técnica de impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc. En este sentido, el uso de esta técnica abre un abanico de posibilidades en la investigación y obtención de distintos materiales que puedan

contribuir a la solución ciertas problemáticas en los diferentes campos de aplicación, lo que, a su vez justifica el interés y el desarrollo de este estudio.

También es importante resaltar que, en los últimos años el mayor número de publicaciones sugiere un creciente interés en la impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico en los campos de alimentos, insumos biomédicos y farmacéuticos, particularmente en el procesamiento de sistemas basados en polímeros biodegradables y biocompatibles. En este sentido se pueden mencionar algunos trabajos relacionados con el desarrollo de materiales activos en la mejora de la bioabsorción y biodisponibilidad de sustancias en alimentos enriquecidos con bioactivos que promueven la salud, como la impregnación de fitoesteroles [114] y aceite de café verde [178] en aerogeles de almidón, aceite de chía en micropartículas de proteína de soja [179], aceite de pescado en aerogeles de proteína de suero, huevo y caseinato de sodio [180], curcumina en PLGA [181], extracto de *H. italicum* en xerogel de almidón de maíz, entre otros. Asimismo, se pueden mencionar algunos estudios en el desarrollo de dispositivos de liberación controlada de fármacos que incluyen ketoprofeno [182] y carvedilol [183] en PVP, vitamina K3 y D3 en aerogel de alginato [184], ketoprofeno en PLLA [185], ibuprofeno en hidrogeles de alginato de sodio [186] y mcl-PHA [187], gemcitabina en PLGA [188].

**Tabla 3.2.** Incorporación de sustancias activas en polímeros con CO<sub>2</sub> supercrítico

Autor	Polímero impregnado	Soluto bioactivo	Aplicación	Ref.
Sicardi, 2000	PET	Colorantes	Modelado	[149]
Ferri, 2005	PET	Colorantes azoicos	Textil	[189]
Herek, 2006	PHB y PET	Curcumina	Textil	[190]
Gong, 2007	PMMA tetrahidrofurfurilo metacrilato	Diacetato de clorhexidina	Dispositivo de liberación controlada	[191]
Shen, 2008	Acetato de celulosa	Vainillina y mentol	Empaque de alimentos	[192]
Andanson, 2009	PMMA	Triflusal	Dispositivo de liberación controlada	[193]
Banchero, 2009	PVP	Piroxicam	Mejoramiento de absorción fármaco	[194]

López-Periago	PMMA	Triflusal	Mejoramiento de absorción fármaco	[193]
Belhadj, 2009	sílice mesoporosa	Acetato de $\alpha$ -tocoferilo	Liberación controlada de fármacos	[54]
Yoganathan, 2010	Policaprolactona	Ibuprofeno	Liberación controlada de fármacos	[145]
de Almeida, 2010	Policarbonato y gel de silicio	Colorante fotocromico	Óptica	[195]
Varona, 2011	Almidón modificado	Aceite esencial de lavanda	Empaques activos	[196]
Tsutsumi, 2011	Copolimero de ácido poliláctico y Carbonato de 2,2-dimetiltrimetileno	Limoneno	Empaques activos	[197]
Diez-Municio, 2011	Microesferas y andamios de quitosano	Lactulosa	Dispositivo de liberación controlada	[119]
Masmoudi, 2011	PMMA (lentes intraoculares)	cefuroxima sódica	Dispositivo de liberación controlada	[198]
Días, 2012	Membranas N-carboximetil quitosano (CBC) y agarosa	Quercetina y timol	Apósitos para heridas tópicas	[165]
Hussain, 2012	Microfilms Polimetilmetacrilato	Ibuprofeno	Dispositivo de liberación controlada	[199]
Comin, 2012	Aerogel (cebada $\beta$ -glucano)	Aceite de linaza	Empaques activos	[153]
Cabezas	Scaffolds (PLA)	5-fluorouracilo	Ingeniería de tejidos	[166]
Almeida, 2013	Microesferas de almidón	Aceite esencial de orégano	Tecnología de alimentos	[164]
Fanovich, 2013	Andamios de policaprolactona	Extracto de <i>Usnea</i>	Ingeniería de tejidos	[133]
Milovanovic, 2013	Gasa de algodón	Timol	Apósitos para heridas tópicas	[200]
Días, 2013	Membrana N-carboxibutil quitosano, colágeno / celulosa y ácido hialurónico	Extracto de Jucá ( <i>Libidibia ferrea</i> )	Apósitos para heridas tópicas	[50]
de Souza, 2014	Films de almidón de yuca	Cinamaldehido	Empaques activos	[155]
Torres, 2014	Films de LLDPE	Timol	Empaques activos	[201]
Rojas 2015	Films de LLDPE	2-nonanona	Empaques activos	[158]

Pantić, 2015	Capsulas de aerogeles de ácido algínico	Vitaminas K <sub>3</sub> y D <sub>3</sub>	Dispositivo de liberación controlada	[184]
Champeau, 2015	PLA, PET y PP	Ketoprofeno y aspirina	Dispositivo de liberación controlada	[111]
Milovanovic, 2015	Aerogel de almidón	Timol	Tecnología Farmacéutica	[202]
Goñi, 2016	Films de LLDPE	Eugenol	Empaques activos	[112]
Mustapa, 2016	Aerogeles de sílice y ácido algínico	Extracto de <i>Clinacanthus nutans</i>	Tecnología Farmacéutica	[55]
Marizza, 2016	Microcontenedores de polivinilpirrolidona	Ketoprofeno	Mejoramiento de absorción fármaco	[182]
Milovanovic, 2016	Acetato de celulosa	Timol	Tecnología Farmacéutica	[203]
Goñi, 2016	Films de LDPE	Timoquinona y pulegona	Empaques activos	[204]
Pascoal, 2016	Apósitos comerciales	Aceite de copaiba	Apósitos para heridas tópicas	[205]
Giufriada, 2016	Nanopartículas de PHBA	Progesterona	Tecnología farmacéutica	[206]
Ivanovic, 2016	Scaffolds de Policaprolactona-hidroxiapatita	Timol	Ingeniería de tejidos	[133]
Ubeyitogullari, 2016	Aerogeles de almidón	Fitoesterol	Tecnología de alimentos	[115]
Rojas, 2017	Compuesto de LPDE/montmorillonita	Timol	Empaques activos	[207]
Herrera, 2017	Films de LDPE	Timoquinona y pulegona	Tecnología de empaques	[208]
Pajnik, 2017	Fibras de algodón	Extracto de piretro	Textil	[209]
Medeiros, 2017	Films de LLDPE	Aceite esencial de clavo de olor	Empaques activos	[157]
Alvarado, 2017	Films de Nanofibras de ácido poliláctico	Timol	Empaques activos	[49]
Ubeyitogullari, 2017	Nanopartículas de aerogel de almidón	Fitoesteroles	Mejoramiento de absorción fármaco	[114]
Bastante, 2017	Films de PET/PP	Extracto de hojas de <i>Olea europea</i> , ácido cafeico	Tecnología de empaques	[154]
Sannchez, 2017	Fibras de Poliéster	Extracto de hojas de mango	Textil	[210]
Goñi, 2018	Films de LDPE	Carvona	Empaques activos	[211]

Marković, 2018	Nanofibras de poliamida	Timol	Ingeniería de tejidos	[173]
Pajnik, 2018	Tejidos de polipropileno y poliamida y perlas de acetato de celulosa	Extracto de piretro	Textil	[118]
Yokozaki, 2018	Hidrogel de silicona	Maleato de timolol	Vitamina E	[212]
Da silva, 2018	Apósito de colágeno y celulosa	Extracto de flores de jambu ( <i>Spilanthes acmella</i> )	Apósitos para heridas tópicas	[213]
Belizón, 2018	Films de PET/PP	Extracto de hojas de mango	Empaques activos	[162]
Milovanovica, 2018	Films de ácido poliláctico/policaprolactona	Timol	Empaques activos	[118]
García-Casas, 2019	micropartículas de sálica	Quercetina	Tecnología de alimentos	[214]
Campardelli, 2019	Parches de Policaprolactona	Nimensulida	Suministro transdérmico de drogas	[215]
Franco, 2019	Films de PET/PP	$\alpha$ -tocoferol	Empaques activos	[171]

### 3.5 Conclusiones

La técnica de impregnación asistida por dióxido de carbono supercrítico es un método eficiente para incorporar compuestos activos en una variedad de materiales poliméricos utilizados en diversos campos de aplicación que van desde el farmacéutico hasta el biomédico.

Las principales ventajas de esta técnica están relacionadas con las propiedades excepcionales del CO<sub>2</sub>-sc y su capacidad de plastificación que mejoran la velocidad de difusión del soluto en el polímero y la facilidad de eliminación del solvente.

Para un mismo sistema polímero/compuesto, el rendimiento de impregnación depende principalmente de las interacciones polímero/compuesto activo, así como también de cuatro parámetros de operación: temperatura, presión, velocidad de despresurización y tiempo de contacto. No obstante, también existen otros parámetros y fenómenos asociados al rendimiento, tales como las propiedades del polímero (densidad, grado de ramificación, morfología); interacciones específicas soluto-polímero; el coeficiente de

reparto de la sustancia entre el polímero y la fase fluida, y la capacidad de hinchamiento y plastificación del solvente.

El gran número de estudios mencionados anteriormente demuestran que la impregnación asistida  $\text{CO}_2\text{-sc}$  es una técnica versátil y eficiente para incorporar sustancias activas en una variedad de polímeros, lo que a su vez permite desarrollar materiales activos para distintos campos de aplicación.

# CAPÍTULO 4

---

## METODOLOGÍA

## 4. Capítulo 4: Metodología

En este capítulo se presenta la metodología teórica y experimental aplicada en este trabajo. Inicialmente se detallan los materiales utilizados en todas las pruebas experimentales, así como el equipamiento empleado para los ensayos de alta presión. También se describe el procedimiento de impregnación supercrítico del hilo dental y otros procedimientos como la cinética de sorción del CO<sub>2</sub>/eugenol en PA6 y la cinética de liberación y de desorción del eugenol impregnado en la poliamida en distintos medios. Se incluyen y muestran los modelos matemáticos utilizados en el ajuste de datos experimentales y finalmente se describen las técnicas y equipos usados en la caracterización del hilo dental impregnado con eugenol en CO<sub>2</sub> supercrítico.

### 4.1 Materiales

#### 4.1.1 Dióxido de carbono

Para todos los ensayos de impregnación realizados en esta tesis, se utilizó dióxido de carbono industrial extra seco (humedad especificada menor a 10 ppm v/v) suministrado por Linde Argentina.

#### 4.1.2 Eugenol

El agente activo utilizado para impregnar las fibras de poliamida 6, fue el eugenol (2-metoxi-4-(2propenil) fenol), el cual es un líquido oleoso de color amarillo, con pureza mayor a 99%, un peso molecular de 164.2 g·mol<sup>-1</sup> y punto de ebullición de 254 °C, certificado por Sigma-Aldrich. En la Figura 4.1 se presenta los espectros de absorción en el infrarrojo (FTIR) (Fig. 4.1 a) y UV—vis (Fig. 4.1 b) del eugenol. Además, en la Tabla 4.1 se muestran los principales picos característicos de absorción del eugenol y sus asignaciones de grupos funcionales, siendo el pico a 1514 cm<sup>-1</sup> el pico característico para su seguimiento [216].

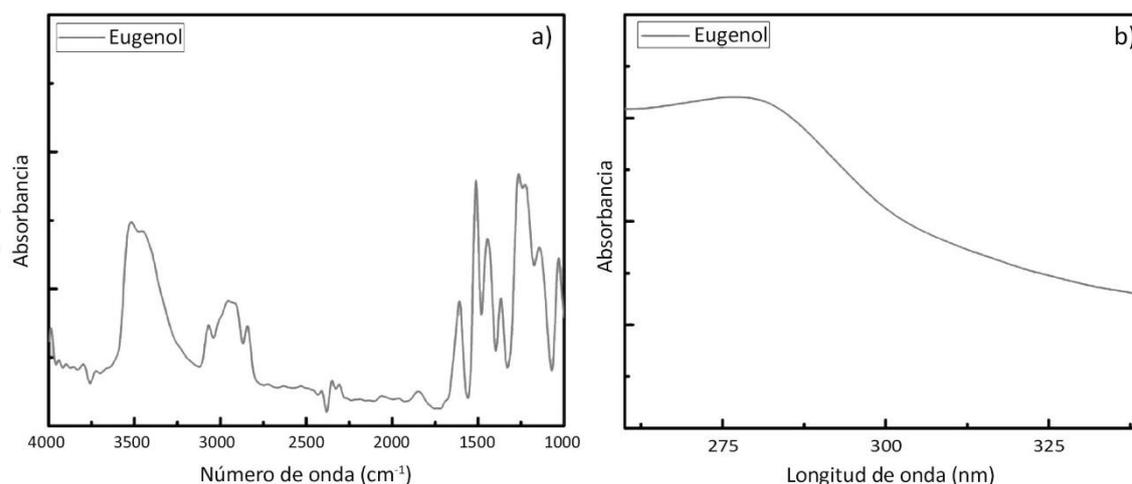


Figura 4.1. Espectros: a) FTIR y b) UV- vis del eugenol [217]

Tabla 4.1. Principales picos de absorción IR del eugenol [216]

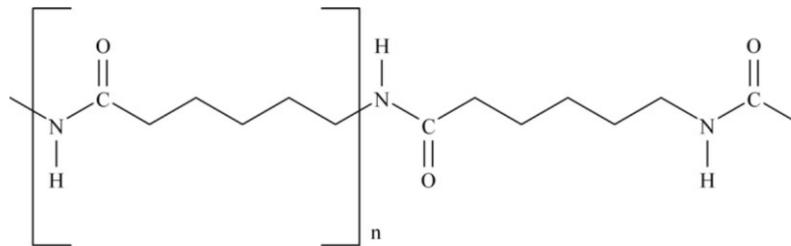
Número de onda (cm-1) Modo de vibración	Grupos funcionales
2870 (sim), 2960 (asim) tensión	Metilo (-CH <sub>3</sub> )
1370 (sim), 1450 (asim) flexión	Metilo (-CH <sub>3</sub> )
2860 (sim), 2930 (asim) tensión	Metileno (-CH <sub>2</sub> -)
1465, 720 flexión	Metileno (-CH <sub>2</sub> -)
3000, 3040 tensión	C=C→H
650–1000 flexión	C=C↓H
910, 990 flexión	Vinilo C=CH <sub>2</sub>
1514, 1608, 1637 tensión	Aromático C=C
3300–3550 tensión	Fenol CO→H
1300–1400 flexión	CO↓H

Adicionalmente, en la Fig. 4.1b en el análisis UV—vis se observa la absorbancia característica del eugenol a 280 nm.

#### 4.1.3 Poliamida 6

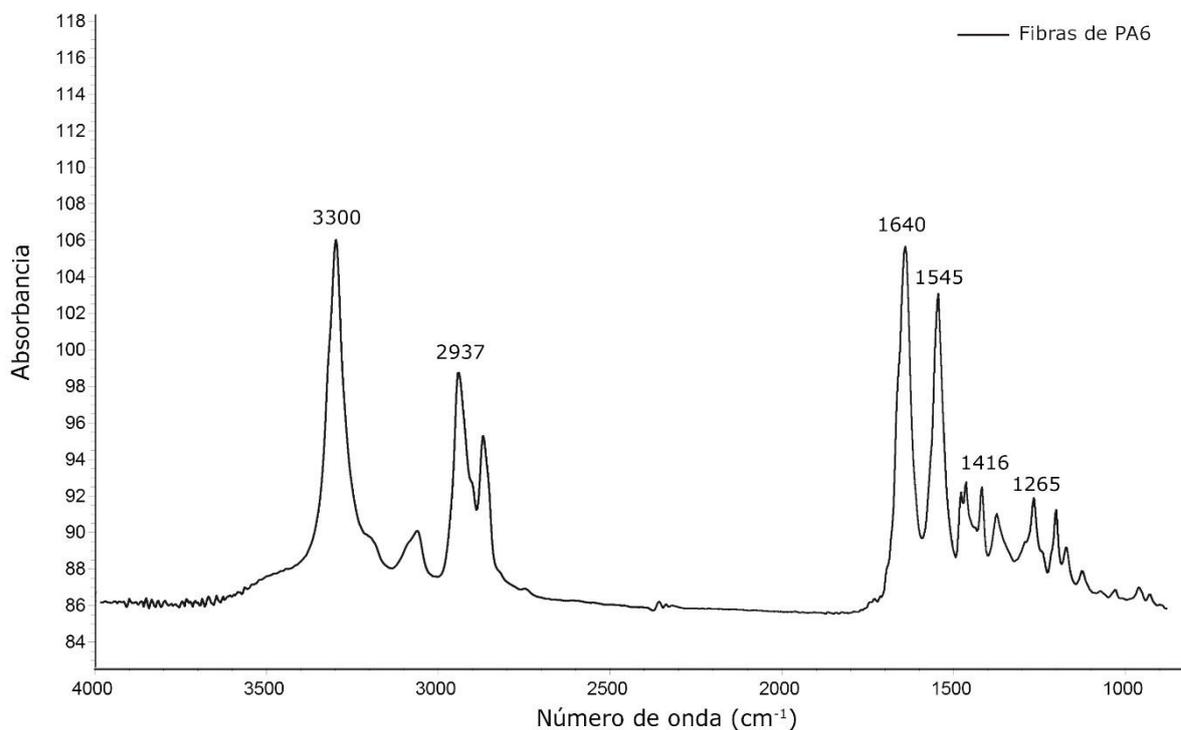
El nylon o poliamida 6 es un polímero termoplástico lineal de alta temperatura, de gran rendimiento y procesamiento, ampliamente utilizado a nivel industrial como reemplazo de productos de vidrio y metal. Es un material muy versátil debido a sus excelentes propiedades mecánicas, como su resistencia, alto módulo de Young, rigidez, tenacidad, lubricidad, resistencia a la temperatura, a la fatiga y a la abrasión. Posee una unidad

repetitiva  $-(H-N-C=O)-$  cada 6 átomos de carbono en su cadena lineal, tal como observa en la Figura 4.2



**Figura 4.2.** Estructura química de la poliamida 6

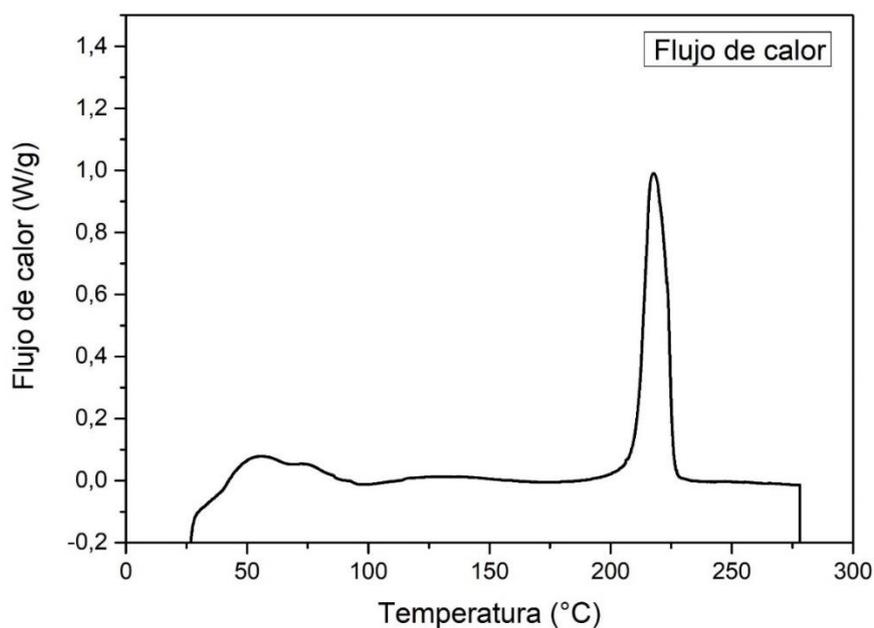
Tiene una alta estabilidad oxidativa, y por lo tanto puede soportar temperaturas de hasta 280 °C [218]. Para el desarrollo de este trabajo, se usó un hilo dental comercial compuesto por filamentos de poliamida 6 (BucalTac Dental Care, Buenos Aires, argentina) con una densidad de  $86.97 \pm 0.73 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ .



**Figura 4.3.** Espectro de absorción en el infrarrojo (FTIR) de la Poliamida 6.

La Figura 4.3 muestra el espectro de absorción en el infrarrojo (FTIR) de la PA6, en el cual se destaca la banda  $3300 \text{ cm}^{-1}$  característica de las vibraciones  $-\text{NH}_2$  y  $\text{N}-\text{H}$ , también se

observa la vibración de estiramiento asimétrica y simétrica del  $\text{CH}_2$  en la región  $2800$  a  $2950\text{ cm}^{-1}$ . El pico central a  $1641\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la amida I dominada por las tensiones del  $\text{CO}$ , mientras que la amida II observada a  $1545\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las deformaciones del  $\text{N—H}$ . Finalmente, la banda  $1416\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la deformación  $\text{CH}_2$ , y la amida III en el pico  $1265\text{ cm}^{-1}$  indica la vibración de tipo  $\text{C—N}$  [219].



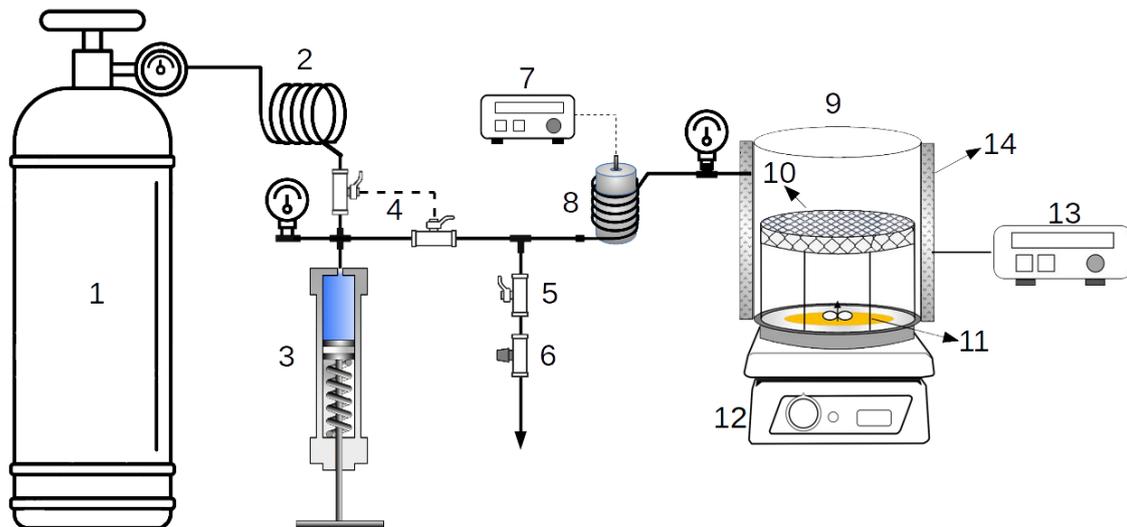
**Figura 4.4** Termograma obtenido por DSC de fibras de poliamida 6.

La Figura 4.4 muestra el comportamiento térmico de una muestra del hilo de PA6, determinado por calorimetría diferencial de barrido (DSC). En el termograma se observa una temperatura de transición vítrea  $T_g$  de aprox.  $75\text{ °C}$  y una temperatura de fusión en torno de  $217\text{ °C}$ . A partir de la energía total absorbida se estimó un porcentaje de cristalinidad del material del 29% aproximadamente.

## 4.2 Equipo experimental de la tesis

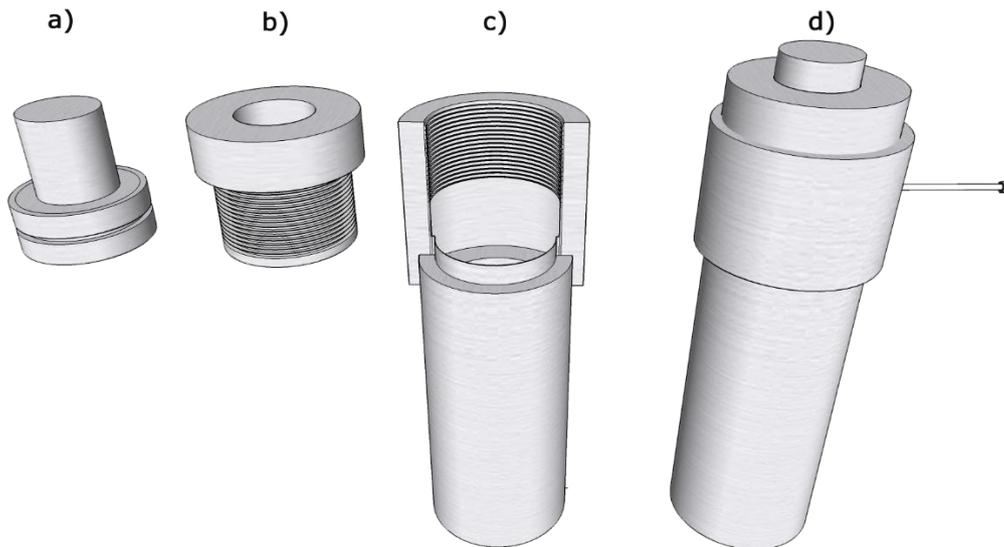
### 4.2.1 Impregnador supercrítico modo batch

Los ensayos de impregnación supercrítico realizados durante esta tesis se llevaron a cabo en un equipo en modo batch de impregnación de alta presión a escala laboratorio, construido en la planta piloto del Instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Córdoba. Un esquema de este equipo se ilustra en la Figura 4.5.



**Figura 4.5.** Sistema de impregnación supercrítica. (1) cilindro de CO<sub>2</sub>, (2) serpentín de refrigeración, (3) generador de presión manual, (4) válvulas de control; (5) válvula principal de descarga, (6) válvula micrométrica, (7) controlador de temperatura, (8) serpentín de calentamiento, (9) celda de impregnación, (10) soporte metálico, (11) sustancia activa, (12) agitador magnético, (13) controlador de temperatura, (14) camisa de calefacción.

El núcleo del equipo está constituido por la celda de impregnación, que es una cámara de presurizado en donde se colocan todos los elementos necesarios para el proceso de impregnación (soporte metálico, la muestra de polímero o sustrato, la barra magnética de agitación y la sustancia activa). La celda consiste en un recipiente de acero inoxidable de 15 mm de altura, 30 mm de diámetro interno y 5 mm de espesor de pared. Tiene un orificio roscado en la parte superior por donde se cargan los elementos a impregnar y, además, cuenta con un tapón y tapa roscada metálica para un cierre hermético. El tapón está provisto de un o-ring polimérico que al hincharse por la presión interna asegura el cierre de la celda. El volumen interno total de la celda es aproximadamente 50 cm<sup>3</sup>. Adicionalmente la celda posee una línea de acero inoxidable de 1/8" insertada en la parte lateral que funciona como carga y descarga CO<sub>2</sub>. La Figura 4.6 muestra un esquema de la celda de impregnación y sus distintas partes. Cabe mencionar que la celda está provista de una camisa eléctrica de calentamiento conectada a un controlador de temperatura, para ajustar el sistema a las condiciones de operación deseada.



**Figura 4.6.** Esquema de la celda de impregnación de acero inoxidable. a) tapón de la celda; b) rosca de tapón; c) corte transversal de celda; d) celda armada.

Aguas arriba se encuentra el cilindro de  $\text{CO}_2$  y un generador manual de presión (GMP) que permite cargar el fluido en la celda y elevar la presión a las condiciones de trabajo. El conjunto se comunica a través de líneas de 1/8" y válvulas de seguridad. Durante el proceso de compresión, el GMP se mantiene refrigerado (alrededor de  $5\text{ }^\circ\text{C}$ ) con el fin de alimentar el  $\text{CO}_2$  en estado líquido, mientras que la presión del sistema es monitoreada por los manómetros conectados al generador y a la celda. Mediante el serpentín de precalentamiento, se lleva la alimentación de  $\text{CO}_2$  a la temperatura de trabajo.

Aguas abajo se encuentra la línea que se deriva del sistema de alimentación de la celda. Esta línea está compuesta por una válvula principal de descarga y de una válvula micrométrica por medio de la cual se controla la velocidad de despresurización. La Figura 4.7 ilustra un esquema real del equipo de impregnación supercrítico a escala laboratorio.

Con el equipo en óptimas condiciones de operación, se pudieron realizar pruebas de impregnación a diferentes condiciones de trabajo en un rango de temperaturas de  $35$  a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  y presiones entre  $8$  y  $16\text{ MPa}$ .

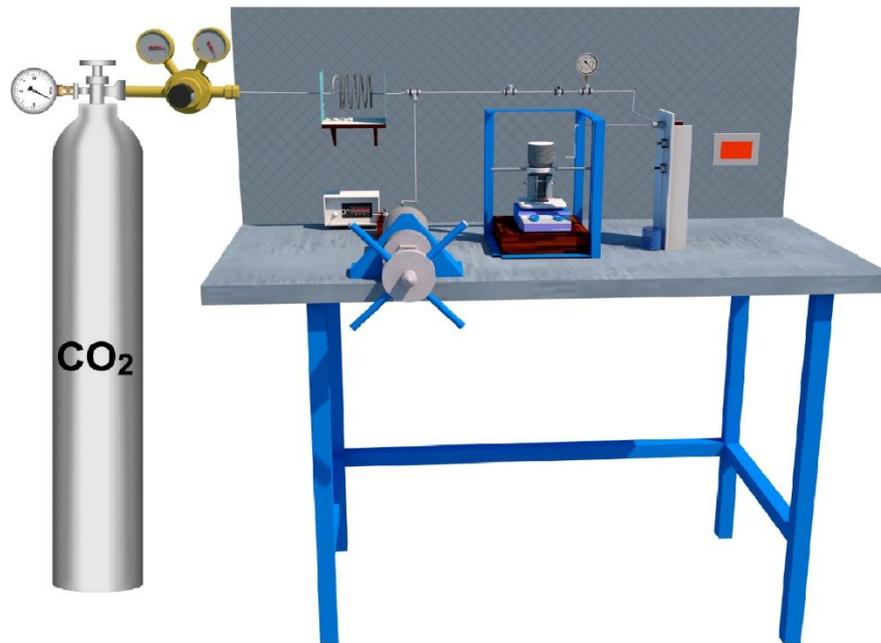


Figura 4.7 Esquema real del equipo de impregnación supercrítica a escala laboratorio.

### 4.3 Procedimiento experimental de impregnación

A continuación, se explica el procedimiento experimental estándar utilizado para impregnar eugenol en PA6 objeto de estudio en esta tesis. También se detallan algunos modificaciones y pasos adicionales, necesarios para realizar ensayos de solubilidad y cinética de impregnación.

#### 4.3.1 Proceso de carga y ajuste de condiciones de operación

Antes de realizar cualquier ensayo, se asegura que todas las válvulas del equipo se encuentren completamente cerradas, y que las líneas de CO<sub>2</sub> y la celda de impregnación estén limpias y en óptimas condiciones de operación. En cada corrida, una cantidad correspondiente del compuesto activo –dependiendo de las condiciones de operación – se carga dentro de la celda con una micropipeta. Luego, se introduce una pequeña barra magnética de agitación con recubrimiento de teflón junto con un soporte de malla metálica en el fondo de la celda, con el fin de sostener la muestra del polímero y separarla tanto del compuesto activo como de las paredes internas de la celda. Posteriormente, una muestra del polímero previamente pesada en balanza analítica se coloca cuidadosamente dentro de la celda sobre el soporte metálico. La celda se cierra por completo colocando el tapón y asegurándolo mediante la tapa roscada, y luego se

conecta a la línea de alimentación del CO<sub>2</sub>. Seguidamente, la camisa de calentamiento se coloca alrededor la celda, mientras que un agitador magnético se ubica justo debajo de la misma, se enciende el control de temperatura y se ajusta a la temperatura de trabajo. Posteriormente, se abre válvula del cilindro de CO<sub>2</sub> y con precaución, se abre lentamente la válvula acceso de CO<sub>2</sub> a la celda. Luego se ajusta la presión del sistema mediante el GMP. Una vez que el sistema alcanza las condiciones de presión y temperatura deseadas, se enciende el agitador magnético y se deja el equipo en funcionamiento durante un tiempo para que ocurra el proceso de impregnación, con las válvulas de entrada y salida cerradas. Si es necesario, durante este proceso se hacen pequeñas correcciones de presión a través del GMP.

#### 4.3.2 *Descompresión del sistema y descarga del material impregnado*

La descompresión del sistema se llevó a cabo mediante dos tipos de despresurización. Los ensayos de rendimiento impregnación y cinética de impregnación del eugenol en fibras de PA6 se realizaron por medio de una *despresurización controlada*, mientras que para las mediciones de cinética de sorción del CO<sub>2</sub> en films de PA6, se efectuaron a través de una *despresurización rápida*.

##### 4.3.2.1 *Despresurización controlada*

Transcurrido el tiempo de impregnación, se enciende una cinta de calefacción que rodea la válvula micrométrica con el fin facilitar el proceso de despresurización, ya que durante este procedimiento se produce un enfriamiento del gas debido al efecto de *Joule-Thomson* durante la descompresión isoentálpica del CO<sub>2</sub>. Después, se apagan tanto el agitador magnético como el controlador de temperatura. Luego se abre la válvula de descarga principal y con mucho cuidado, se regula la apertura de la válvula micrométrica hasta alcanzar una velocidad de flujo constante medido visualmente a través del manómetro y un cronómetro. Esta descompresión se realiza en forma manual mediante la regulación de la válvula micrométrica debido a que la densidad del fluido va variando con la presión y la caída de presión no ocurre de manera lineal. Las velocidades de despresurización utilizadas durante esta tesis estuvieron dentro de un rango de 0.5 – 5 MPa min<sup>-1</sup>. Finalizado el proceso de despresurización, se desconecta la línea de CO<sub>2</sub> y se abre la celda. Durante este paso, se extrae la muestra y se limpia cuidadosamente con un papel de seda para eliminar cualquier cantidad residual del compuesto activo de la

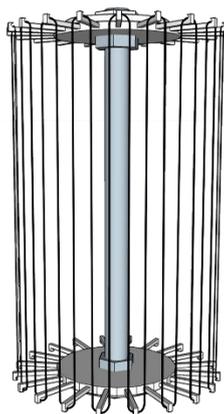
superficie de la muestra. Posteriormente, se deja al aire libre durante varios minutos para que el CO<sub>2</sub> remanente se libere por completo. Después, se registra el peso de la muestra impregnada y a continuación se introduce en un recipiente con un volumen medido de etanol para extraer y cuantificar posteriormente la sustancia activa impregnada. Para otros ensayos (i.e. cinética de liberación), luego de la despresurización, las muestras se colocan en un vial de 2 ml, se sellan herméticamente y se almacena en un refrigerador a 4 °C hasta máximo 24 h antes de su uso en los experimentos correspondientes.

#### 4.3.2.2 *Despresurización rápida*

Al igual que el procedimiento anterior, luego del periodo de contacto en condiciones supercríticas, se apaga el agitador magnético y el controlador de temperatura. Después, se abre por completo la válvula micrométrica y por último mediante un solo paso, se abre la válvula principal de descarga, permitiendo que se efectúe despresurización muy rápida (~20 segundos). Tras la despresurización, inmediatamente se extrae la muestra y se registra su peso en una balanza analítica. El proceso de descompresión, extracción y registro del peso tarda alrededor de un minuto.

#### 4.3.3 *Impregnación de eugenol en muestras de hilo dental*

En los distintos ensayos de impregnación del eugenol en poliamida, se usaron muestras de hilo dental de ~1 m enhebradas en un soporte metálico (ver Figura 4.8) para evitar el plegado del hilo y garantizar una exposición uniforme de su superficie y una penetración homogénea de la mezcla supercrítica a través de la matriz polimérica. Las muestras en mención fueron impregnadas a una temperatura constante de 60°C y diferentes valores de presión (8, 10, 11 y 12 MPa) durante 2 h, con velocidades de despresurización de 0.5 y 5 MPa min<sup>-1</sup> y una velocidad constante de agitación de aprox. 700 rpm. Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Las cantidades de eugenol correspondientes para cada ensayo se encuentran establecidas en la Tabla 4.2. Las condiciones de operación, en especial los valores de temperatura y tiempo de impregnación se seleccionaron con base a pruebas preliminares y la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de la poliamida 6 (50–55 °C) ya que la operación a 60 ° C aseguraría que el material estuviera por encima de su  $T_g$ , en un estado gomoso, más favorable para el proceso de impregnación.



**Figura 4.8.** Esquema de muestra de hilo dental enhebrada en soporte metálico para impregnar

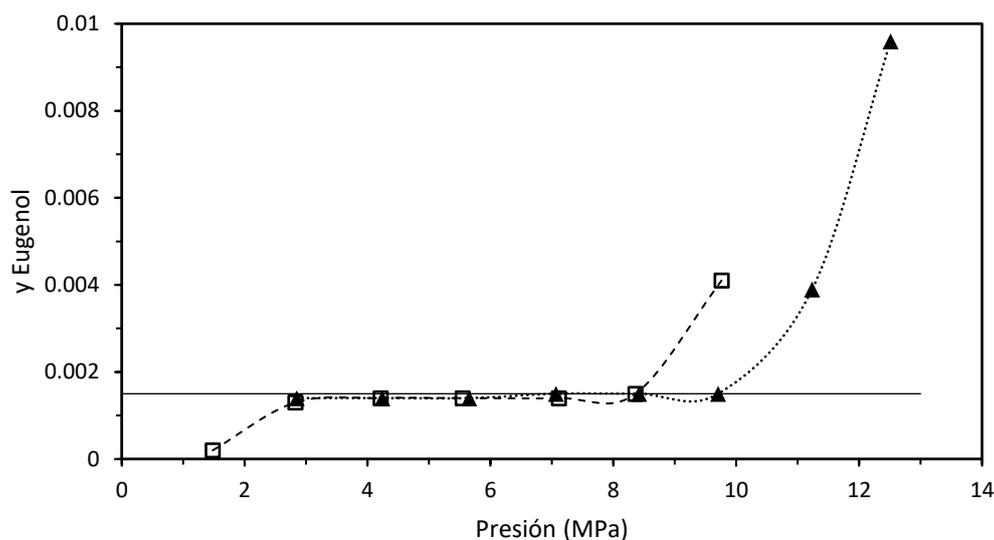
**Tabla 4.2** Diseño experimental de impregnación del hilo dental con eugenol

Temperatura (°C)	Presión (MPa)	Despresurización MPa min <sup>-1</sup>	[eugenol] (mol)	Tiempo de (h)
60	8	0.5	0,0015	2
		5		
	10	0.5	0,0015	
		5		
	11	0.5	0,0015	
		5		
	12	0.5	0,0015	
		5		

n=2

#### 4.3.4 Determinación de la cantidad de eugenol a cargar en la celda

Para garantizar una miscibilidad completa de ambos compuestos en las condiciones de operación seleccionadas, la cantidad de eugenol a cargar dentro de la celda se estimó mediante el uso de datos experimentales de equilibrio del sistema binario CO<sub>2</sub>/eugenol [220] a diferentes presiones y temperaturas (45 y 55°C) como se muestra en la Figura 4.10. Teniendo en cuenta las condiciones operativas de trabajo, se fijó una fracción molar constante de eugenol de 0.0015 para todas las corridas, ya que esta fracción se encuentra ligeramente por debajo de la solubilidad de eugenol en CO<sub>2</sub>-sc a 8 MPa y 55 °C (ver Figura 4.10).



**Figura 4.10.** Solubilidad del eugenol en CO<sub>2</sub> a 45 °C (□) y 55 °C (▲). La línea horizontal representa una fracción molar de 0.0015 [220].

La Figura 4.10 muestra que, tanto a 45°C como a 55°C, la solubilidad del eugenol va aumentando en función de la presión. Por lo tanto, a una fracción molar de 0.0015 se asegura que el eugenol se solubilice por completo en todas las condiciones experimentales de esta investigación y siempre se tenga la misma relación CO<sub>2</sub>/eugenol en el ensayo. La Tabla 4.3 resume las cantidades de eugenol a colocar en la celda de impregnación en cada combinación de presión y temperatura. En cada caso, la cantidad de CO<sub>2</sub> presente en la celda se estimó a partir de su densidad a cada condición de temperatura y presión (obtenida de la base de datos de NIST) y el volumen interno de la celda (50 ml).

**Tabla 4.3.** Cantidad de eugenol a cargar en la celda en cada condición de operación seleccionada.

Temp. (C)	Presión (MPa)	$\rho$ (kg m <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	CO <sub>2</sub> (Kg)	y Eugenol	Eugenol (g)	Eugenol (μL)
60	8	191,62	0,0096	0,0056	0,0537	50,24
60	9	235,39	0,0118	0,0056	0,0659	61,71
60	10	289,95	0,0145	0,0056	0,0812	76,02
60	11	357,79	0,0179	0,0056	0,1002	93,80
60	11,5	400,00	0,0200	0,0056	0,1120	104,87
60	12	434,43	0,0217	0,0056	0,1216	113,90

<sup>a</sup> del NIST

#### 4.4 Cinética de impregnación de eugenol en PA6

La cinética de impregnación es una metodología que consiste en realizar varios ensayos individuales de impregnación a diferentes intervalos de tiempo hasta alcanzar el equilibrio de sorción de la sustancia activa en el polímero (saturación) en un conjunto fijo de condiciones.

En cada corrida, se usaron muestras de hilo dental de poliamida 6 de 1 m, enhebradas en un soporte metálico, así como se ilustra en la Figura 4.8. Las muestras se impregnaron utilizando la misma fracción molar constante de 0.0015 (ver Tabla 4.3) a dos niveles de temperatura (40 y 60 °C), dos niveles de presión (10 y 12 MPa) en diferentes intervalos de tiempo (de 15 min a 3 h), a una velocidad de despresurización de 0.5 MPa min<sup>-1</sup> y agitación constante de 600 rpm. Todos los experimentos se realizaron por duplicado como se muestra en el diseño experimental de la Tabla 4.4

El coeficiente de reparto ( $K_{p/f}$ ) del eugenol entre el polímero y la fase fluida se estimó a partir de la relación de concentración de eugenol en el polímero y el fluido (CO<sub>2</sub>-sc), ambos en el equilibrio, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$K_{\frac{p}{f}} = \frac{q_E^p}{q_E^{CO_2}} \quad (1)$$

Donde  $q_E^p$  es la cantidad de eugenol impregnada por masa de polímero [ $g_{(eugenol)}/g_{(polímero)}$ ] y  $q_E^{CO_2}$  es la fracción de masa de eugenol en el fluido supercrítico [ $g_{(eugenol)}/g_{(CO_2)}$ ].

**Tabla 4.4** Diseño experimental de la cinética de sorción y del CO<sub>2</sub> y del eugenol en PA6

Presión (MPa)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Despresurización (MPa min <sup>-1</sup> )
10	40	15, 30, 45, 60, 120, 180	0.5
	60		
12	40		
	50		

n=2

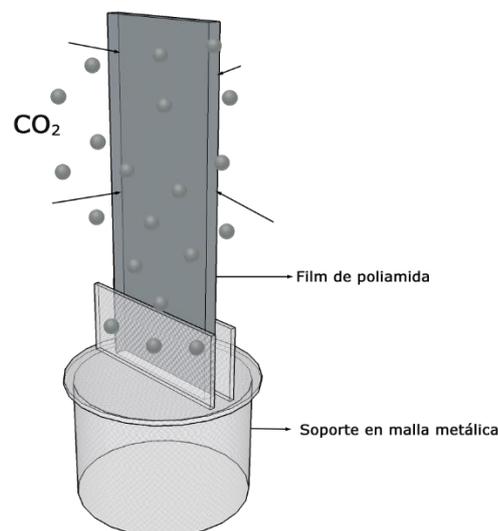
#### 4.5 Cinética de sorción de CO<sub>2</sub> en PA6

Para las mediciones de sorción de CO<sub>2</sub>, se prepararon *films de PA6* con el fin de obtener muestras con un peso y dimensiones adecuadas para este tipo de experimentos. Con esta finalidad, se tomó aproximadamente 1 g de hilo dental y se disolvió en una solución de

ácido fórmico: acetona (60:40 V/V). Luego, la solución polimérica fue vertida en una placa de Petri de vidrio (90 mm de diámetro) y se dejó en proceso de secado dentro de una campana de extracción de gases durante 24 horas hasta obtener un peso constante. Posteriormente, se obtuvo un film delgado que luego fue plegado, fundido y moldeado en una máquina automática de estampado en caliente (Hex Max, model 3838, Argentina). Este último film se cortó en tiras de  $470 \pm 10 \mu\text{m}$  de espesor con un peso aproximado de 400 mg.

Los *experimentos de cinética de sorción de  $\text{CO}_2$*  fueron realizados siguiendo el método de desorción gravimétrico propuesto por Berens y col. [136]. Este procedimiento consiste en exponer una muestra de polímero en  $\text{CO}_2$ -sc durante un tiempo y luego efectuar una descompresión muy rápida del sistema, seguido de un registro de la pérdida del peso de la muestra en balanza analítica en diferentes intervalos de tiempo.

Las pruebas de sorción de  $\text{CO}_2$  se realizaron en condiciones de operación similares a los ensayos de cinética de impregnación del eugenol en poliamida, es decir, a dos temperaturas (40 y 60 °C), y dos valores de presión (100 y 120 MPa) durante diferentes intervalos de tiempo (desde 30 hasta 4 h) bajo una agitación constante de 600 rpm.



**Figura 4.9.** Muestra de Film de poliamida sobre el soporte metálico para experimentos de sorción

En cada ensayo, una muestra de film de poliamida se coloca en un soporte de malla metálica similar al esquema que se muestra en la Figura 4.9, para mantener el film en una posición vertical y lograr una máxima exposición ante el  $\text{CO}_2$ . Después del cierre y la

presurización de la celda, el sistema se ajusta a las condiciones de trabajo seleccionadas y se deja operando durante un tiempo determinado. Tras el periodo de sorción, la celda rápidamente se despresuriza (alrededor de 20 s). Luego la celda se abre y la muestra inmediatamente se pesa en una balanza analítica ( $\pm 0.0001$  g). El paso anterior tarda aproximadamente un minuto o menos en cada experimento. A partir de la despresurización ( $t=0$ ), se registran los cambios de peso de la muestra en diferentes intervalos de tiempo, a medida que se produce la desorción del  $\text{CO}_2$  a presión atmosférica.

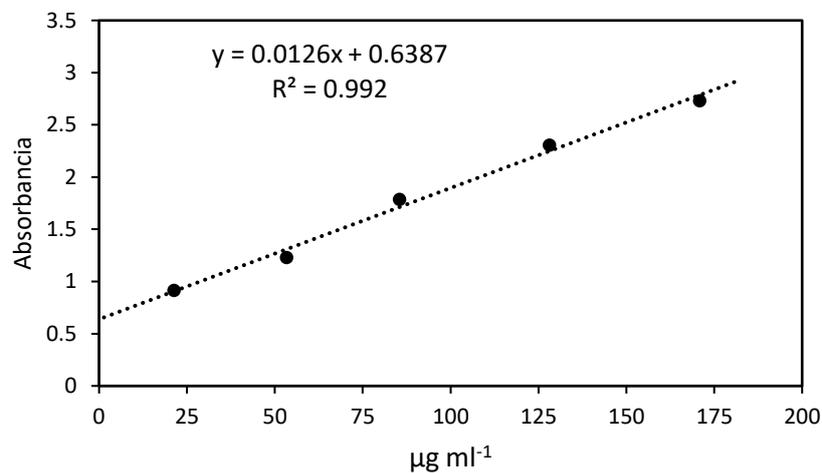
Durante la primera parte del proceso de desorción, la pérdida de peso es aproximadamente lineal si se representa en función de la raíz cuadrada del tiempo. Teniendo en cuenta lo anterior, la masa de  $\text{CO}_2$  que se absorbe en la muestra en  $t=0$  se puede estimar mediante la intersección en el eje y a partir de la extrapolación lineal de los primeros datos experimentales de desorción. Esta estrategia fue usada para calcular la masa total de  $\text{CO}_2$  absorbida por el film en todas las condiciones experimentales. Más adelante, a partir de los datos obtenidos, se construyeron las curvas de absorción de  $\text{CO}_2$ , con las cuales se estimó la solubilidad del  $\text{CO}_2$  y su coeficiente de difusión en la poliamida. Todos los experimentos se realizaron por duplicado (ver Tabla 4.4).

## 4.6 Cuantificación de muestras impregnadas

### 4.6.1 *Cuantificación de eugenol en muestras de hilo dental*

En los experimentos de impregnación, la cantidad de eugenol impregnada en las muestras se determinó mediante una extracción con etanol seguido de análisis espectrofotométrico UV. Para ello, cada muestra junto con una pequeña barra de agitación fue colocada dentro de un frasco color caramelo con 50 ml de etanol y cerrado herméticamente. Luego, la solución alcohólica fue sometida a condiciones de agitación vigorosa durante 15 minutos, con el fin de extraer el eugenol impregnado de la muestra. Teniendo en cuenta ensayos preliminares, dos pasos de extracción fueron suficientes para la extracción de todo el eugenol impregnado. A continuación, los dos extractos obtenidos se mezclaron para formar un volumen total de  $\sim 100$  ml, con el cual se determinó la concentración del eugenol midiendo la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 280 nm (banda de absorbancia característica del anillo aromático del eugenol) en un espectrofotómetro UV-vis (Lambda 25, Perkin Elmer, EE. UU., Precisión:

$\pm 0.001$  nm) [221]. La relación entre la absorbancia y la concentración de eugenol se ajustó mediante la función lineal de la curva de calibración preparada en un rango de 0.01 a 0.11 mg ml<sup>-1</sup>. La Figura 4.11 muestra un ejemplo de una las curvas de calibración utilizadas durante la investigación.



**Figura 4.11.** Curva de calibración de eugenol en etanol por espectrofotometría UV ( $\lambda=280$  nm).

El rendimiento de impregnación de eugenol (%RE) fue calculado de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\%RE = \frac{m_i}{m_f} \times 100 \quad (2)$$

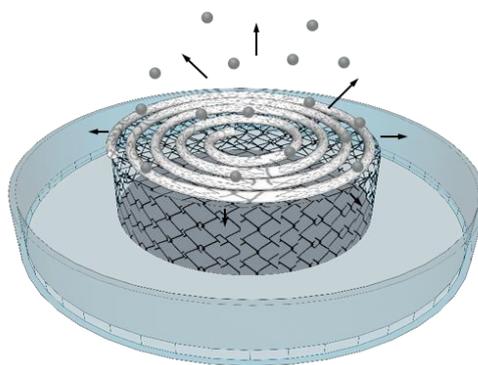
Donde  $m_i$  es la masa de eugenol impregnada en la muestra (obtenida por espectrofotometría UV) y  $m_f$  es la masa del hilo dental después del proceso de impregnación medida en balanza de precisión ( $\pm 0.0001$  g). Todos los datos obtenidos se representaron como el promedio  $\pm$  desviación estándar de un conjunto de mediciones (n=2).

#### 4.7 Cinética de liberación en aire

El conocimiento del comportamiento de liberación del eugenol impregnado al aire puede proporcionar información tecnológica significativa con respecto a la estimación de la vida útil y el diseño del empaque. Para este propósito se estudió la cinética de liberación del eugenol impregnado en las fibras de PA6 en aire en condiciones ambientales a través del siguiente procedimiento.

Todos los estudios del comportamiento de desorción de eugenol se realizaron mediante la cuantificación de la pérdida de peso del material impregnado en balanza de precisión ( $\pm 0.0001$  g).

Los experimentos de cinética de desorción se realizaron de forma similar a la metodología descrita por Goñi y col. [222]. Se impregnaron muestras de hilo dental de 50 cm de largo con eugenol 24 h antes del experimento de desorción y luego se almacenaron en viales de 2 ml para su conservación. Después, se extrajeron las muestras de los viales y se tomaron los pesos iniciales. Inmediatamente, los hilos impregnados se colocaron en placas de Petri sobre un soporte de malla metálica para que el eugenol impregnado difundiera a través de toda la superficie del hilo (ver Figura 4.12). Seguidamente se registró el peso de las muestras a diferentes intervalos de tiempo hasta alcanzar un peso constante (dentro del error de la balanza). El proceso de desorción se llevó a cabo en condiciones ambientales de presión y temperatura constante (24 °C) con ventilación de aire y humedad relativa controlada ( $\sim 60\%$ ). Después de 48 h se verificó la liberación total del eugenol, sumergiendo las muestras en un volumen de 50 ml de etanol para extraer cualquier cantidad residual de eugenol impregnada y se cuantificó por espectrofotometría UV a 280 nm tal como se explicó anteriormente. Los ensayos de cinética de liberación se efectuaron por duplicado.



**Figura 4.12.** Representación gráfica de una muestra de hilo dental impregnada en proceso de desorción

#### 4.8 Cinética de liberación en saliva artificial

La cinética de liberación en saliva artificial es un ensayo que permite simular el comportamiento del hilo dental activo una vez que la sustancia impregnada entra en

contacto con el medio salival. A partir de este ensayo, es posible obtener parámetros técnicos para la aplicación provista como el coeficiente de difusión y el tiempo de liberación del eugenol impregnado en el hilo.

Previo a los ensayos de cinética de liberación en medio húmedo, se preparó **saliva artificial** siguiendo la metodología propuesta por Boland y col. [223]. El procedimiento consistió en disolver 5.208 g  $\text{NaHCO}_3$  (Cicarelli, Argentina), 1.369 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Cicarelli, Argentina), 0.877 g  $\text{NaCl}$  (Cicarelli, Argentina), 0.44 g  $\text{KCl}$  (Cicarelli, Argentina), 0.441 g  $\text{CaCl}_2$  (Cicarelli, Argentina), 10  $\mu\text{l}$   $\alpha$ -amilasa (200000 U, Multifet AA Genencor, Argentina), en 1 L de agua destilada. La solución final fue ajustada a un pH de 7 con una solución de  $\text{HCl}$  1 N (Anedra Buenos Aires, Argentina).

Para los ensayos de liberación en saliva artificial, se tomaron muestras de hilo dental de 50 cm de longitud, previamente impregnadas con eugenol y se sumergieron por completo en 100 ml de saliva artificial contenida en un recipiente de vidrio en condiciones de agitación (30 rpm) y temperatura constante de 37 °C. Para minimizar la posible evaporación de agua o de eugenol de la solución, se usaron recipientes de vidrio con tapa y con poco espacio de cabeza (menos del 10% del volumen total del matraz). Una vez que la muestra fue sumergida dentro del medio salival, una alícuota de la solución (3 ml) fue extraída e inmediatamente analizada en el espectrofotómetro UV a 280 nm y rápidamente devuelta a la solución salival. Este paso se repitió en diferentes intervalos de tiempo hasta alcanzar una concentración constante de eugenol en la solución. La concentración del eugenol fue determinada usando una curva de calibración preparada en el rango 0.01 a 0.11  $\text{mg ml}^{-1}$ . Los ensayos de desorción en saliva se hicieron por duplicado.

Por otro lado, se hicieron pruebas de liberación para muestras de hilo impregnadas con eugenol y recubiertas con cera, con el propósito de retardar la liberación del compuesto activo presente en el material tratado. Para ello, se tomaron muestras de hilo dental impregnadas con eugenol de 50 cm y se recubrieron con cera dental para ortodoncia previamente fundida (70°C aprox.). De la misma forma que el procedimiento anterior, estas muestras fueron sumergidas en medio salival para observar su comportamiento en el fluido y analizar los cambios en sus parámetros técnicos como la disminución o retención del tiempo de liberación del compuesto activo presente en el hilo y así también en el coeficiente de difusión.

## 4.9 Modelos matemáticos

### 4.9.1 Modelos empíricos

Las curvas de desorción al aire y liberación en saliva artificial obtenidas a partir de los resultados experimentales fueron correlacionadas utilizando dos tipos de modelos empíricos: modelo de desorción de un sitio y de dos sitios.

#### 4.9.1.1 Modelo de desorción de un sitio

Este modelo empírico [224] está dado por la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = A(1 - e^{-kt}) \quad (3)$$

Donde  $M_t$  es la masa del compuesto activo liberado en el aire después de un tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la masa total de la sustancia activa impregnada en la muestra,  $k$  es una constante de velocidad de primer orden.  $A$  y  $k$  son parámetros ajustables. Este modelo empírico ha sido utilizado en algunos trabajos como el de Milovanović y col. [203] en la determinación cinética de liberación de timol impregnado en acetato de celulosa en un medio acuoso, Marković y col. [173] en sus ensayos de liberación del timol impregnado en nano fibras de poliamida en solución salina y García-González y col. [52] en el estudio de liberación de ketoprofeno y ácido benzoico incorporado en microesferas de aerogel de almidón en solución salina, entre otros.

#### 4.9.1.2 Modelo de desorción de dos sitios

Este modelo [224] considera que hay una fracción del soluto ( $F$ ) que se desorbe a una velocidad rápida, que se caracteriza por una constante de velocidad de primer orden  $k_1$ , y una segunda fracción ( $1-F$ ) en el cual el soluto se libera a una velocidad más lenta  $k_2$ , como se expresa en la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - [F e^{-k_1 t}] - [(1 - F) e^{-k_2 t}] \quad (4)$$

En donde  $F$ ,  $k_1$  y  $k_2$  son parámetros ajustables. Este modelo ha sido reportado en algunos estudios especialmente en procesos de extracción como el Barrera Vázquez y col. [225] en la extracción de agua en antraquinonas, Desai y col. [226] en la extracción de aceite

de limoncillo de *Cymbopogon flexuosus* y Dutta y col. [227] en la pseudocinética de extracción por lotes de aceite de semillas de *Crotalaria juncea*, entre otros trabajos.

#### 4.9.2 Modelos de difusión

Con el propósito de describir los procesos de difusión del CO<sub>2</sub> y el compuesto activo hacia dentro o hacia afuera de la matriz polimérica en un entorno líquido o gaseoso, los resultados experimentales de cinética de liberación, sorción del CO<sub>2</sub> e impregnación de compuestos activos, fueron correlacionados mediante soluciones analíticas de la segunda ley de Fick, para procesos de difusión unidimensionales en estado no estacionario a través de una placa plana y cilindro sólido. Estos modelos fueron propuestos por Crank [228] y se describen a continuación.

##### 4.9.2.1 Modelo de difusión a través de un cilindro sólido

La cinética de desorción del eugenol en aire y saliva artificial, así como la cinética de impregnación en medio supercrítico fueron evaluadas teniendo en cuenta que el hilo dental está compuesto por varios filamentos cilíndricos largos y sólidos ( $24,7 \pm 11 \mu\text{m}$  de diámetro), tal como se confirmó previamente por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las curvas experimentales de sorción y desorción se ajustaron mediante una solución analítica de la segunda ley de Fick [228] para un cilindro sólido en condiciones de estado no estacionario dada por la siguiente expresión:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4}{a^2 \alpha_n^2} \exp(-D_a \alpha_n^2 t) \quad (5)$$

Donde  $M_t$  es la masa de eugenol (impregnada o liberada) en el tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la masa total de eugenol absorbida o liberada (o la masa inicial de eugenol contenida en el hilo dental),  $D_a$  es el coeficiente de difusión aparente del eugenol en las fibras de poliamida en la cinética de liberación en condiciones ambientales, y también el coeficiente de difusión aparente para la cinética de difusión del eugenol en fibras de PA hinchadas por CO<sub>2</sub> en condiciones supercríticas,  $a$  es el radio de la fibra y  $\alpha_n$  son las raíces de la siguiente ecuación:

$$J_0(a\alpha_n) = 0 \quad (6)$$

$J_0(x)$  es la función de Bessel del primer tipo de orden cero.

Esta solución analítica es válida si se cumplen las siguientes condiciones y suposiciones:

1. El proceso de difusión se puede considerar del tipo Fickiano.
2. La geometría de cada fibra individual corresponde a un cilindro sólido.
3. La transferencia de masa solo se produce de forma radial.
4. El coeficiente de difusión aparente puede ser considerado constante.
5. La resistencia a la transferencia de masa en la fase fluida es despreciable con respecto a la resistencia en el polímero (es decir, pueden asumirse condiciones de sumidero del lado del aire o del líquido), y por lo tanto la velocidad global de transferencia de masa es dominada por la difusión en la fibra.
6. Existe equilibrio termodinámico en la interfaz polímero-fluido.
7. Solo es posible estimar un coeficiente de difusión aparente ( $D_a$ ) debido a que la poliamida es un polímero semicristalino y por tanto no es un medio homogéneo. En consecuencia, este coeficiente de difusión agrupa los efectos de tortuosidad y diferentes comportamientos de difusión en los dominios amorfos y cristalinos.

#### 4.9.2.2 Modelo de difusión a través de una placa plana

Similar al caso anterior, el coeficiente de difusión del  $\text{CO}_2$  en la poliamida en condiciones de alta presión, fue determinado mediante el ajuste de las curvas de sorción de  $\text{CO}_2$  usando una solución analítica de la segunda ley de Fick [228], para la difusión no estacionaria en una placa plana:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[ -\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{L^2} D_a t \right] \quad (7)$$

Donde  $M_t$  es la masa de  $\text{CO}_2$  absorbida en la muestra en el tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la cantidad de  $\text{CO}_2$  incorporada en el equilibrio después de un tiempo infinito y  $L$  es el espesor de la muestra y  $D_a$  es el coeficiente de difusión aparente del  $\text{CO}_2$  en PA6 en condiciones de alta presión. La ecuación 7 puede ser simplificada truncando el primer término de la sumatoria cuando se asume largos procesos de sorción, resultando la Ecuación 8.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp \left[ -\frac{D_a t \pi^2}{L^2} \right] \quad (8)$$

Esta solución analítica es válida siempre y cuando se cumplan las mismas condiciones de la Ecuación 6, solo que, en este caso, la geometría es una hoja plana en donde la difusión es unidimensional y ocurre en la dirección del espesor de la hoja.

#### 4.10 Ajuste de datos

Los parámetros de los modelos empíricos, así como los coeficientes de difusión aparente de ambos modelos, se estimaron mediante el ajuste de las curvas de sorción y desorción usando el método de los mínimos cuadrados del complemento solver de Microsoft Excel. El error de los modelos se calculó por medio del error absoluto (AED) y el error relativo promedio (% AARD), los cuales están definidos por las siguientes expresiones:

$$AED = \sum_{i=1}^N (x_{i,exp} - x_{i,calc})^2 \quad (9)$$

$$AARD\% = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|x_{i,exp} - x_{i,calc}|}{x_{i,exp}} \times 100 \quad (10)$$

Donde  $x_{i,exp}$  y  $x_{i,calc}$  son los datos experimentales y calculados respectivamente y  $N$  es el número de datos.

#### 4.11 Propiedades mecánicas

Con el fin de evaluar el impacto del tratamiento a alta presión y la incorporación de eugenol sobre las propiedades mecánicas del polímero, se realizaron pruebas de tracción sobre muestras originales, impregnadas y presurizadas con CO<sub>2</sub> puro en un texturómetro universal (Instron 2519-104, USA). A partir del análisis de las curvas de respuesta mecánica, se obtuvieron valores de módulo elástico, resistencia a la tracción y elongación a la rotura.

Para pruebas con hilos dentales, se tomaron muestras de ~200 mm, con una separación de agarre inicial de 100 mm y una velocidad de mordaza de 3 mm s<sup>-1</sup> hasta la rotura. El espesor de las muestras de hilo se midió antes de los ensayos con un micrómetro de precisión (0–25 mm, ± 0.001 mm, Asimeto, Alemania). Los análisis estadísticos se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y test de Tukey. Todos los experimentos se hicieron por sextuplicado y los resultados se presentan como valores promedio ± desviación estándar.

#### 4.12 Microscopía

Se analizó la superficie de muestras de hilo dental no tratadas, impregnadas y presurizadas con CO<sub>2</sub> puro mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo en un equipo FE-SEM (Zeiss Sigma VP, Alemania) operado a 4 kV, con diferentes niveles de magnificación. Previo al análisis, las muestras fueron recubiertas con una pequeña capa de Au/Pd para mejorar su capacidad conductiva. El diámetro de la fibra se determinó a partir de imágenes SEM como un promedio de varias fibras individuales. Además, las muestras de hilo impregnadas a diferentes velocidades de despresurización se analizaron con un microscopio óptico convencional (Leica DM500, Alemania).

#### 4.13 Propiedades térmicas

Con el propósito de evaluar posibles variaciones en la cristalinidad y otras propiedades térmicas de los materiales tratados durante los experimentos de alta presión, se hicieron análisis térmicos mediante calorimetría diferencial de barrido en un equipo Discovery DSC (TA Instruments, Reino Unido). Los termogramas fueron obtenidos de muestras de hilo dental impregnadas a distintos tiempos en una atmósfera de nitrógeno, calentando de 0 a 280 °C y enfriando de 280 a 25 °C, ambas velocidades a 10 °C min<sup>-1</sup>. A partir del análisis de los termogramas, el grado de cristalinidad ( $X_{DSC}$ ) se estimó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$X_{DSC} = \frac{\Delta H}{\Delta H^*} \times 100 \quad (11)$$

Donde  $\Delta H$  representa la entalpía de fusión de la muestra calculada como el área debajo de pico de fusión y  $\Delta H^*$  corresponde a la entalpía de fusión de la poliamida 100% cristalina, la cual es 230 J g<sup>-1</sup> [229].

#### 4.14 Actividad microbiológica

La actividad microbiológica de las muestras de hilo dental impregnadas con eugenol, fue evaluada siguiendo el método de contacto dinámico según la norma ASTM E2149 – 13a. Esta técnica ha sido diseñada especialmente para sustancias o agentes antimicrobianos que están adheridos o incorporados en el material a evaluar. Las especies de microorganismos testeadas fueron *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram negativa), y

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positiva), proporcionadas por el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Para esta prueba, las bacterias se incubaron en 9 ml de caldo de cultivo estéril (compuesto por 5 g·L<sup>-1</sup> de peptona de soja, 5 g·L<sup>-1</sup> de NaCl y 15 g·L<sup>-1</sup> de dextrosa) durante 18 h y a 35° C. Luego, el cultivo se diluyó con una solución buffer estéril (0.25 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.2) hasta alcanzar una concentración 1.5 – 3×10<sup>5</sup> unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Esta concentración fue el equivalente a una absorbancia de 0.28 medida a longitud de onda 475 nm en un espectrofotómetro. Al final, se realizaron las diluciones necesarias para obtener una concentración entre 1.5 – 3 × 10<sup>5</sup> UFC/ml. Esta solución fue la dilución bacteriana (inóculo) de trabajo.

Mas adelante, se colocaron 300 mg de hilo no tratado y 300 g de hilo tratado dentro de matraces que contenían 50 ml de la solución tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> estéril. Adicionalmente, se preparó un matraz similar, pero sin muestra, el cual se tomó como referencia (inóculo solo). A cada uno de estos matraces, se agregó 1 ml de la solución bacteriana previamente preparada.

Posteriormente, los matraces se incubaron a 25 °C durante 1 h, con agitación continua a 200 rpm. Después, se prepararon tres diluciones en serie 1/10 usando la solución tampón. Las suspensiones bacterianas (1 ml) se colocaron en placas en agar nutritivo por triplicado. Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 24 h y las células bacterianas sobrevivientes se contaron usando un contador de colonias estándar.

El porcentaje de reducción microbiano (%R) fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{I_0 - T}{I_0} \times 100 \quad (12)$$

Donde  $I_0$  (UFC) es el número de colonias microbianas en el "inóculo" y  $T$  (UFC) es el número de colonias microbianas en la muestra tratada.

## CAPÍTULO 5

---

---

# INCORPORACIÓN DE EUGENOL EN FIBRAS DE HILO DENTAL MEDIANTE LA IMPREGNACIÓN ASISTIDA POR CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO

## 5. Capítulo 5: Incorporación de eugenol en fibras de hilo dental mediante la impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico

En este capítulo se presentan los resultados de la impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico del eugenol en fibras de poliamida 6 (PA6) para desarrollo de un hilo dental bioactivo con potenciales aplicaciones odontológicas.

En un principio, los resultados experimentales permitieron evaluar el efecto de condiciones operativas como la presión y velocidad de despresurización sobre el rendimiento de impregnación y algunas propiedades finales del material tratado.

Por otro lado, también se exponen los resultados de la cinética de sorción del CO<sub>2</sub> en films de PA6, así como la cinética de impregnación de eugenol en las fibras de poliamida en diferentes combinaciones de presión, temperatura y tiempos de contacto. En este apartado, se modelan las curvas de sorción de ambos compuestos mediante soluciones analíticas de la segunda ley de Fick para estados no estacionarios. También se estima el coeficiente de difusión aparente para ambas especies en el polímero y se evalúa su relación con relación a las condiciones operativas (P y T).

### 5.1 Rendimiento de impregnación

Como ya se explicó anteriormente (cap. 3), obtener el mejor rendimiento de impregnación de un compuesto activo en una matriz polimérica, requiere de muchos ensayos y ajustes de variables (presión, temperatura, velocidad de despresurización) durante el proceso. El mínimo cambio de estas variables operativas no solo puede influir sobre el rendimiento, sino también afectar las propiedades finales del material, las cuales juegan un papel importante para la aplicación prevista. En este contexto, durante esta parte experimental del trabajo, se realizó un estudio de la impregnación con CO<sub>2</sub> supercrítico del eugenol en muestras de hilo dental, de acuerdo con el procedimiento descrito en la Sección 4.3, para evaluar el efecto de diferentes variables de operación sobre el rendimiento de impregnación y propiedades finales del material. Para ello, los experimentos se realizaron a diferentes valores de presión (8, 10, 11 y 12 MPa), dos

velocidades de despresurización (0.5 y 5 MPa min<sup>-1</sup>), a una temperatura constante de 60 °C durante 2 h antes de la descompresión. Cabe resaltar que el tiempo de contacto fue establecido a partir de pruebas preliminares en donde se observó que con 2 horas era suficiente para saturar las fibras de PA6. Con respecto a la temperatura, el valor se seleccionó teniendo en cuenta la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de la PA6 (50-55 °C). De esta manera, operar a 60 °C permitiría que el material estuviera por encima de su  $T_g$ , en un estado gomoso, lo que es favorable al proceso de impregnación como se mencionó en la sección 4.3.3.

La Tabla 5.1 muestra los resultados del rendimiento de impregnación (%RE) y el coeficiente de reparto ( $K_{p/f}$ ) a diferentes presiones y velocidades de despresurización incluyendo los valores de densidad del CO<sub>2</sub> puro en cada presión de operación.

**Tabla 5.1.** Rendimiento de impregnación del eugenol en fibras de hilo dental con CO<sub>2</sub>-sc

Presión (MPa)	Densidad del CO <sub>2</sub> (kg/m <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	Despresurización (MPa/min)	Rendimiento de impregnación (%)	$K_{p/f}$
8	200	0.5	11.25 ± 2.60 <sup>a</sup>	26.72
		5	8.74 ± 1.24 <sup>a</sup>	20.75
10	270	0.5	13.62 ± 0.44 <sup>b</sup>	32.34
		5	11.11 ± 0.92 <sup>a</sup>	20.75
11	340	0.5	14.57 ± 0.29 <sup>b</sup>	34.60
		5	12.98 ± 1.61 <sup>b</sup>	30.60
12	410	0.5	15.27 ± 0.89 <sup>b</sup>	36.25
		5	13.31 ± 1.92 <sup>b</sup>	31.61

<sup>a</sup> datos del NIST

De acuerdo con los resultados reportados en la Tabla 5.1, se puede observar que hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el rendimiento de impregnación. Así mismo tanto la presión como la velocidad de despresurización tuvieron un efecto importante sobre la incorporación del eugenol en las fibras, de ahí que se alcanzaron valores de rendimiento entre 8 y 15% (p/p). El porcentaje de impregnación más alto fue del 15.27% a 12 MPa y 0.5 MPa min<sup>-1</sup>, mientras que el rendimiento más bajo fue del 8.77% a 8 MPa y 5 MPa min<sup>-1</sup>.

Estos resultados son comparables en términos generales a los obtenidos por otros autores que trabajaron de manera similar con fibras poliméricas. Por ejemplo, Marković y col. [173] registraron altos rendimientos de impregnación de timol en nanofibras de

poliamida, siendo 33.8%, 47.5%, y 59.2%, y 7, 10 y 20 MPa y respectivamente, usando temperaturas de a 25 y 35 °C, después de 4 horas de impregnación. Por su parte, Milovanovic y col. [156] reportaron también altos valores de impregnación (11–19.6%) en fibras de algodón en rangos de presión de 7.8 – 25 MPa, temperaturas de 35, 40 y 50 °C y tiempos de impregnación comprendidos entre 2 y de 24 horas de impregnación, mientras que Champeau y col. [185] observaron resultados similares de impregnación (19.8%) al incorporar ketoprofeno en fibras de ácido poliláctico con CO<sub>2</sub>-sc a 30 MPa, 80 °C y 3 h de impregnación.

No obstante, en relación con estos resultados, otros estudios registraron valores de rendimientos inferiores en la impregnación de polímeros no polares. Por ejemplo, Goñi y col. [112] reportaron rendimientos de hasta un 6% en la impregnación de eugenol en films de polietileno de baja densidad (LLDPE) a 15 MPa, 45 °C y 4 h, mientras que Medeiro y col. [46] obtuvieron valores máximos de impregnación de un 2% en la incorporación de aceite esencial de clavo de olor en LLDPE (15 MPa, 45 °C y 2 h) y Torres y col. [201] un 3.81% en la impregnación de timol en el mismo polímero a 15 MPa, 40 °C y 4 h.

Si bien existe una gran influencia de la morfología del polímero sobre la cinética de impregnación (siendo la difusión más rápida en fibras debido a la mayor área de superficie disponible para la transferencia de masa), la diferencia entre los rendimientos de impregnación observada entre los ejemplos anteriormente expuestos podría deberse a una mejor interacción entre grupos funcionales del polímero y el soluto. En un sentido más amplio, es posible que los grupos funcionales polares de la poliamida que interactúan con los grupos -OH- y éter del eugenol a través de enlaces tipo puente de hidrógeno, facilitan una mayor retención y minimización de pérdidas de soluto durante el proceso de despresurización. En un trabajo similar, Markovic y col. [173] sostienen que en el proceso de impregnación supercrítica del timol en nanofibras de PA6 es probable que grupos hidroxilos del timol formen enlaces de hidrógeno con átomos de nitrógeno de los grupos amida de la PA6, lo que mejora la retención del compuesto activo en oilímero y a su vez el rendimiento de impregnación.

### **5.1.1 Efecto de la presión**

El efecto de la presión es algo un poco más complejo. Como se ha mencionado antes, la presión tiene varios efectos sobre el proceso de impregnación. Por un lado, al aumentar

la presión, también se incrementa la densidad y el poder solvente del CO<sub>2</sub>, lo que afecta de manera negativa el equilibrio de reparto del eugenol entre la fase fluida y el polímero, por lo que eugenol tiende a permanecer disuelto en la fase CO<sub>2</sub>-sc. Por otro lado, a mayores valores de presión, se mejora la absorción de CO<sub>2</sub> por el polímero y a su vez el grado de hinchamiento, lo que favorece la incorporación de moléculas disueltas como eugenol.

De acuerdo a los resultados expresados en la Tabla 5.1, se observa que, en condiciones isotérmicas, la incorporación del eugenol aumenta notablemente con la presión para ambas velocidades de despresurización. Este comportamiento probablemente se deba al efecto marcado de la sorción del CO<sub>2</sub> y del hinchamiento en el polímero como ya se explicó anteriormente. Además, este efecto también se refleja en el coeficiente de reparto cuyo valor aumenta con el incremento de la presión. Por ejemplo, a una descompresión lenta,  $K_{p/f}$  aumenta de 26.72 a 8 MPa a 36.25 a 12 MPa. Esto indica que, aunque en esta condición se incremente la solubilidad del compuesto activo en el CO<sub>2</sub>, la afinidad química entre el eugenol y las fibras, junto con los efectos de plastificación e hinchamiento favorecen el desplazamiento del compuesto activo hacia la fase polimérica, lo que se traduce en un aumento en el rendimiento de impregnación.

Diferentes comportamientos se han reportado en la literatura, dependiendo del efecto predominante para cada sistema [230]. Por ejemplo, un comportamiento similar fue observado por Masmoudi y col. [198] quien reportó un incremento de  $K_{p/f}$  a mayores densidades de CO<sub>2</sub> en el proceso de impregnación supercrítica de la cefuroxima sódica en un lente intraocular. En conclusión, los resultados sugieren que la principal causa de la absorción del eugenol, se debe al efecto de la presión sobre la modificación de las propiedades del polímero y también las interacciones químicas con la fase polimérica.

### ***5.1.2 Efecto de la velocidad de despresurización***

Como ya se mencionó en cap. 3, el efecto neto de la despresurización resulta de una combinación de varios fenómenos: las velocidades relativas de desorción del CO<sub>2</sub> y el compuesto activo, la capacidad del polímero hinchado en retornar a su tamaño original, el comportamiento de la solubilidad del soluto en el rango de temperatura y presión seleccionado durante el proceso de despresurización y otros mecanismos de

transferencia relacionados, tales como turbulencias, patrones complejos de flujo, temperatura no homogénea, etc.

El análisis de los resultados indica también que los rendimientos de impregnación más altos fueron obtenidos cuando el sistema se despresurizó a una velocidad lenta ( $0.5 \text{ MPa min}^{-1}$ ), lo que sugiere que una descompresión lenta permite que el eugenol precipite y permanezca dentro de la matriz polimérica a medida que el  $\text{CO}_2$  es liberado.

Este comportamiento también fue observado en diferentes sistemas polímero – compuesto activo, tales como eugenol [112], 2-nonanona [158] y aceite esencial de clavo [231], todos en films de LLDPE. Por el contrario, otros estudios han reportado un efecto opuesto de la velocidad de despresurización sobre el rendimiento de impregnación, como es el caso del eugenol en policaprolactona [232], cinamaldehído en almidón de yuca [233] y cetonas terpénicas en films de LDPE [208]. Lo anterior indica que la rápida desorción de  $\text{CO}_2$  condujo a una mayor retención de los compuestos activos en el polímero. No obstante, no se observó efecto significativo de esta variable sobre los valores de rendimiento de impregnación de cetonas terpénicas en nanocompuestos de LDPE/sepiolita [234].

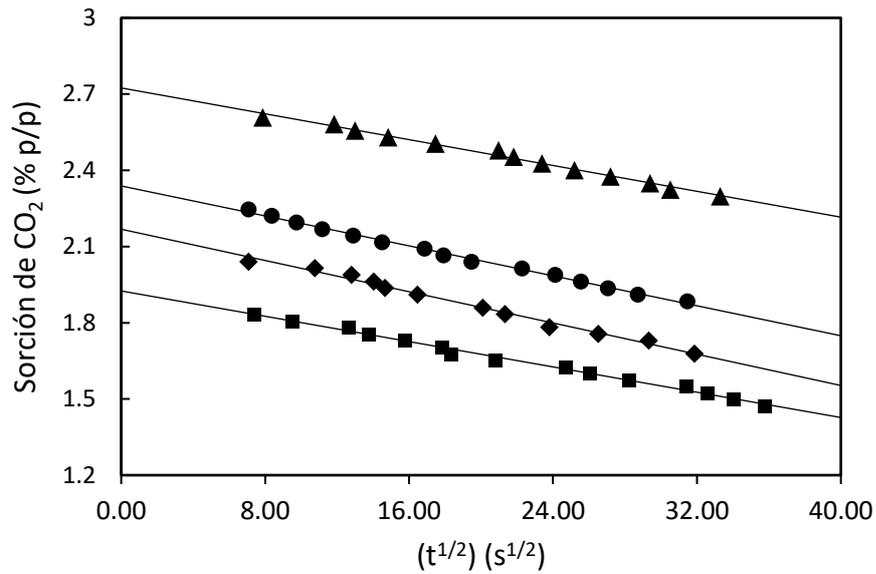
Para este caso, el efecto de la velocidad de despresurización sobre el rendimiento de impregnación se puede explicar a partir de dos fenómenos predominantes: (i) La posible condensación parcial de eugenol que se produce cuando la presión disminuye drásticamente, lo que causa una reducción en su concentración en la fase fluida (por debajo de su solubilidad) durante la mayor parte del proceso de despresurización y (ii) la separación mecánica de las fibras del hilo dental producto del cambio repentino de la presión y la desorción del  $\text{CO}_2$ , lo cual permite una liberación más rápida del eugenol ya impregnado durante la despresurización. Este fenómeno (separación de fibras) fue observado y confirmado por microscopía óptica convencional, como se muestra y discute más adelante en la sección 6.2.

## 5.2 Cinética de sorción del $\text{CO}_2$

Los conocimientos relacionados con la sorción y difusividad del  $\text{CO}_2$  en una matriz polimérica también es de gran importancia para el proceso de impregnación, debido a la posibilidad de modificar sus propiedades morfológicas y difusionales por hinchamiento y plastificación inducidos por  $\text{CO}_2$ -sc [128], lo que permite también comprender mejor el

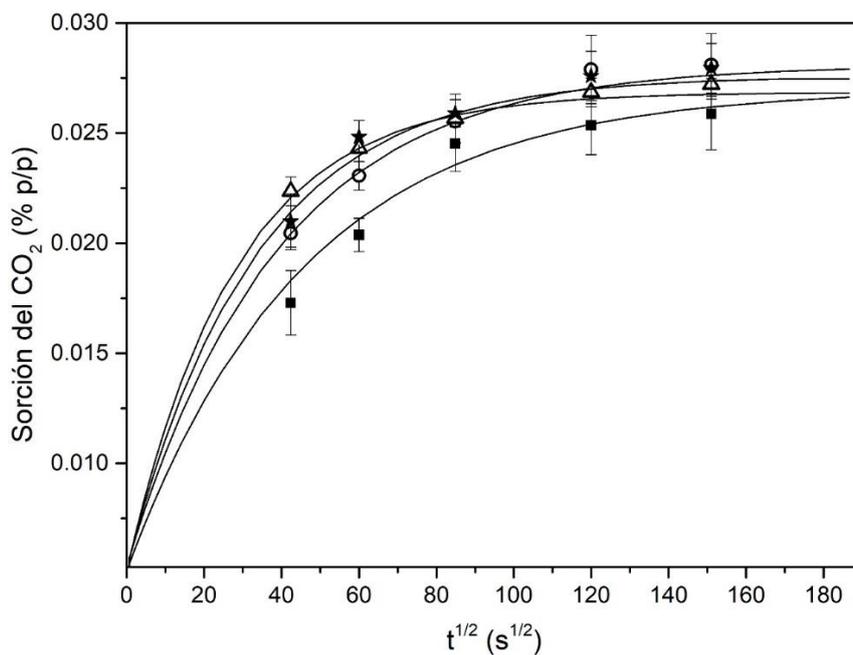
efecto de cada una de las variables del proceso. De hecho, la base real de la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc es la mejora de la difusión que se puede lograr mediante el aumento del volumen libre asociado a este efecto de hinchamiento [235]. La aparición de interacciones específicas entre el dióxido de carbono y un polímero determina la masa de fluido absorbido en él y su cinética de sorción, que depende también de las condiciones de presión y temperatura. En este contexto, hasta donde se sabe, no hay informes de datos de sorción y difusión CO<sub>2</sub> en PA6 en la literatura. Por lo tanto, durante el desarrollo de esta tesis se investigó la cinética de sorción de CO<sub>2</sub>-sc e impregnación de eugenol en PA6 en diferentes condiciones de operación, estimando los coeficientes de difusión aparente de ambas especies en este polímero para comprender mejor los fenómenos que ocurren durante el proceso.

Teniendo en cuenta lo anterior, la cinética de sorción del CO<sub>2</sub> en poliamida 6 se estudió a partir de experimentos de alta presión, registrando la masa de CO<sub>2</sub> acumulada en función del tiempo de exposición a varias combinaciones de presión y temperatura como se detalla en la Sección 4.5. Cabe recordar que, para este estudio, se prepararon películas poliméricas con el fin de obtener muestras de peso y dimensiones adecuadas para este tipo de ensayos. La Figura 5.1 muestra un ejemplo de varios perfiles de desorción del CO<sub>2</sub> a una misma condición de presión y temperatura, donde la máxima cantidad de CO<sub>2</sub> absorbida por el polímero (justo antes de la despresurización), se determinó a partir del valor encontrado justo en la intersección con el eje y, mediante la extrapolación lineal de los primeros datos experimentales de la curva de desorción.



**Figura 5.1.** Perfil de desorción del CO<sub>2</sub> de un film de Poliamida (450  $\mu\text{m}$  de espesor) a  $P = 10$  MPa,  $T = 60$  °C y un tiempo de sorción de 0.5 h (■), 1h (◆), 2h (●), 4h (▲).

A partir de los perfiles de sorción del CO<sub>2</sub> en la PA6 a distintos tiempos de contacto, se construyeron las curvas de sorción del CO<sub>2</sub> en la poliamida en todas las condiciones de presión y temperatura estudiadas tal como puede apreciarse en la Figura 5.2.



**Figura 5.2.** Perfil de sorción del CO<sub>2</sub> en placas planas de PA6 a  $P = 10$  MPa,  $T = 40$  °C ( $\Delta$ ),  $P = 10$  MPa,  $T = 60$  °C ( $\blacksquare$ ),  $P = 12$  MPa,  $T = 60$  °C (o),  $P = 12$  MPa,  $T = 40$  °C ( $\blackstar$ ). Las líneas representan el ajuste del modelo, mientras que las barras verticales indican la desviación estándar ( $n = 2$ ).

Con respecto a los perfiles de sorción  $\text{CO}_2$  en la PA6 mostrados en la Figura 5.2, se puede apreciar que los datos experimentales describen una acumulación del  $\text{CO}_2$  progresiva con la raíz cuadrada del tiempo hasta alcanzar el equilibrio de sorción, exhibiendo un típico comportamiento de sorción Fickiana. También se puede ver que existe una buena concordancia entre los valores calculados por el modelo de difusión y los datos experimentales, presentando desviaciones menores al 2% (AARD).

Por otro lado, la Tabla 5.2 indica los datos de equilibrio de sorción ( $S$ ) y el coeficiente de difusión aparente ( $D_a$ ) del  $\text{CO}_2$  para todas las condiciones experimentales estudiadas.

**Tabla 5.2.** Equilibrio de sorción y coeficiente de difusión aparente del  $\text{CO}_2$  en PA6.

Presión (MPa)	Temperatura (°C)	$\rho \text{ CO}_2$ ( $\text{kg m}^{-3}$ ) <sup>a</sup>	$S$ (% p/p)	$D_a$ ( $\text{m}^2\text{-s}^{-1}$ )	AARD%
10	40	628.61	2.77%	8.00E-10	0.91%
	60	289.95	2.81%	4.88E-10	1.51%
12	40	717.76	2.87%	6.80E-10	1.94%
	60	434.43	2.91%	5.75E-10	1.51%

<sup>a</sup> del NIST; los resultados se presentan como valores promedios  $\pm$  la desviación estándar ( $n = 2$ )

Puede observarse que en todos los ensayos experimentales se encontró que el equilibrio de sorción se produce luego de 4 horas de exposición del polímero en  $\text{CO}_2$  supercrítico. Además, el análisis de los datos indica que tanto la presión como la temperatura no tuvieron un efecto significativo sobre la cantidad de  $\text{CO}_2$  acumulada en el polímero, por lo que el mayor grado de sorción de  $\text{CO}_2$  para todas las condiciones fue de aproximadamente un 3 % p/p. Aunque no existen datos de sorción del  $\text{CO}_2$  en PA6 en la literatura actual, estos valores de sorción del  $\text{CO}_2$  son comparables en términos generales con los datos reportados por Martinache y col. [236], quienes midieron la solubilidad del  $\text{CO}_2$  en poliamida 11 fundida a 10.3 MPa y 215°C, obteniendo una sorción de 4.7 % p/p. No obstante, aunque las condiciones de este estudio son distintas, estos resultados sugieren que existe poca afinidad entre este tipo de polímero y el  $\text{CO}_2$  en condiciones de alta presión.

Con respecto al coeficiente de difusión aparente del  $\text{CO}_2$  en poliamida 6, se observa que en general estuvo en un orden de magnitud de  $10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Cabe mencionar que, para todos los casos se asume un coeficiente de difusión constante (i.e., independiente de la concentración), hecho que se respalda por los bajos niveles de sorción observados.

Como se puede ver, los resultados indican que el coeficiente de difusión aparente del CO<sub>2</sub> disminuye con la temperatura a una presión dada, siendo este efecto mucho más marcado a la presión de 10 MPa, donde se observa que el valor de  $D_a$  se redujo casi un 60% en comparación a las condiciones de presión de 12 MPa donde la reducción fue de tan solo un 20% aproximadamente. En general, el incremento de la temperatura produce un aumento en la movilidad de las moléculas, generando un efecto positivo esperado de la difusividad con la temperatura. Por este motivo, el efecto observado aquí debe explicarse por el cambio de las propiedades del fluido con la presión y la temperatura. A una presión dada, la densidad del CO<sub>2</sub> disminuye con la temperatura (Tabla 5.2), lo que a su vez produce una disminución en la capacidad de hinchamiento del polímero, llevando así a una disminución del coeficiente de difusión aparente por estar más impedido el movimiento. Por lo tanto, la difusión del CO<sub>2</sub> en el polímero resulta de una combinación de ambos efectos. Todo esto sugiere que en este caso predomina el efecto de la disminución de la densidad del CO<sub>2</sub> con la temperatura.

Este tipo de comportamiento ya ha sido observado por otro estudio como el de Azimi y col. [132] al estudiar la difusión del CO<sub>2</sub> en un copolímero de metacrilato-estireno. Por el contrario, otros autores en sus investigaciones han reportado el aumento difusivo de sorción del CO<sub>2</sub> con la temperatura en diferentes tipos de polímeros tales como policarbonato [137], cloruro de polivinilo [123] y polisulfona [127] entre otros. Cabe resaltar que, en los estudios mencionados, los experimentos se efectuaron en un rango de presión mayor (20 – 40 MPa), donde la variación de la densidad del CO<sub>2</sub> es mucho menor, lo que hace que el efecto de la temperatura sobre el movimiento molecular prevalezca, favoreciendo el proceso de difusión.

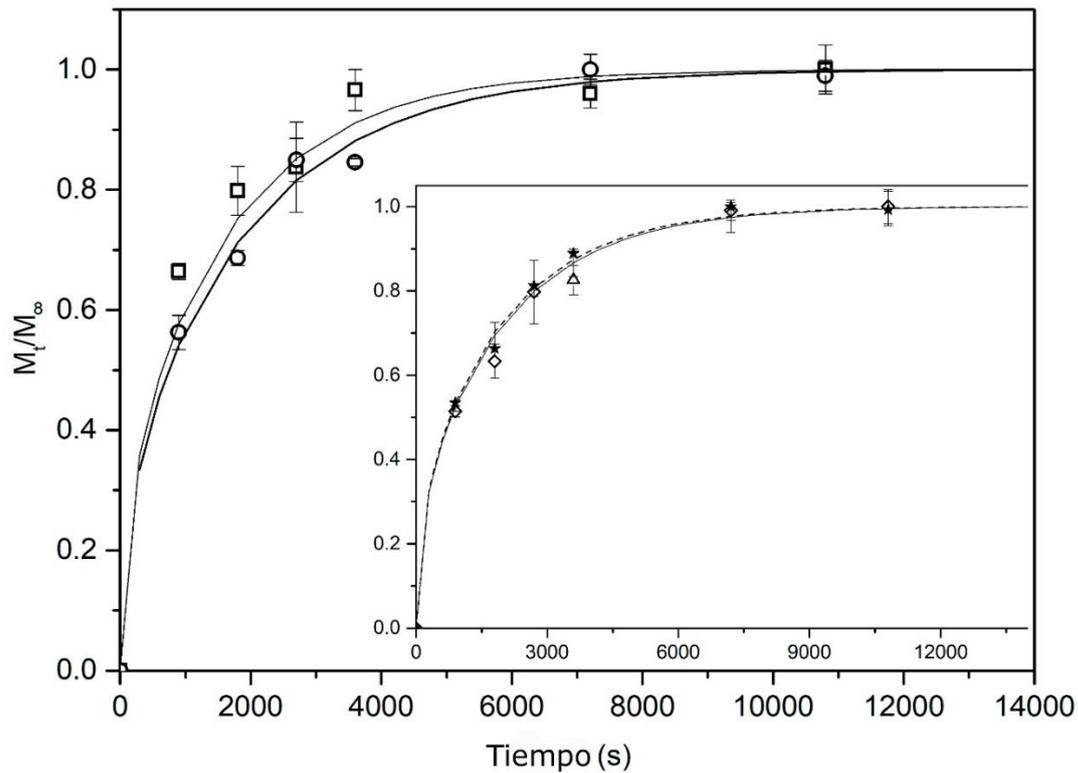
A modo de referencia, estos resultados pueden ser comparados con los coeficientes de difusión del CO<sub>2</sub> en otros polímeros, que se estimaron mediante la metodología propuesta por Berens y col. [136] u otras metodologías, como la medición del grado de hinchamiento del polímero por imagen digital. La Tabla 5.3. muestra una recopilación de coeficientes de difusión del CO<sub>2</sub> en distintas clases de polímero a diferentes condiciones de presión y temperatura.

**Tabla 5.3.** Coeficientes de difusión ( $D$ ) del CO<sub>2</sub> en polímeros.

Polímero	$D$ (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	Presión	Temp.	Metodología	Ref.
(PMDS)-entrecruzado	$7.5 \times 10^{-10}$	10,5	40	Gravimétrico	[237]
PHBV	$1-3.5 \times 10^{-11}$	10-20	35-40	Gravimétrico	[128]
P(MMA/EHA/EGDMA)	$0.9-4.1 \times 10^{-10}$	10-20	35-48	Gravimétrico	[138]
PBAT	$3.3-7.5 \times 10^{-10}$	8-18	40-80	Gravimétrico	[122]
Polisulfona	$4.2-9.5 \times 10^{-12}$	20-40	40-60	Gravimétrico	[127]
Policarbonato	$0.91-3.36 \times 10^{-11}$	20-40	25-35	Gravimétrico	[137]
PVC	$0.7-2.5 \times 10^{-11}$	20-40	40-70	Gravimétrico	[123]
PET	$0.35-5.3 \times 10^{-11}$	25-35	80-120	Gravimétrico	[125]
PLA	$6.39 \times 10^{-11}$	10	40	Gravimétrico	[129]
PA11 Fundida	$5.3 \times 10^{-7}$	10	215	Imagen digital	[236]
PCL	$1.15-2.85 \times 10^{-10}$	10-30	80	Imagen digital	[133]

### 5.3 Cinética de impregnación del eugenol

El conocimiento de las características de transferencia de masa de moléculas pequeñas en materiales poliméricos es de fundamental importancia para la comprensión, diseño y optimización de procesos de impregnación supercrítico, ya que puede brindar información acertada sobre los tiempos requeridos para el tratamiento dependiendo de las condiciones operativas, y cómo se puede reducir de manera eficiente. De hecho, la difusión del soluto en la matriz polimérica hinchada suele ser el paso que limita la velocidad de todo el proceso. El coeficiente de difusión es una medida de la movilidad de una especie en un medio [238] y es uno de los parámetros cinéticos más importantes que se utilizan para evaluar las propiedades de la barrera y el rendimiento de los materiales poliméricos en una amplia gama de aplicaciones [216]. Por esta razón, durante el desarrollo de este trabajo, se investigó el efecto de variables como la presión y la temperatura sobre la velocidad de impregnación, y de esta forma obtener valores del coeficiente de difusión aparente útiles para el diseño y optimización del proceso de impregnación supercrítico.



**Figura 5.3.** Perfil de sorción del eugenol en fibras de poliamida a  $P = 12$  MPa,  $T = 60$  °C (□),  $P = 10$  MPa,  $T = 40$  °C (○)  $P = 12$  MPa,  $T = 40$  °C (◇) y  $P = 10$  MPa,  $T = 60$  °C (★) con velocidad de despresurización de  $0.5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  para ambas condiciones: Las líneas representan el ajuste del modelo, mientras que las barras verticales indican la desviación estándar ( $n = 2$ ).

Tal como se explicó anteriormente en la Sección 4.4, la cinética de impregnación eugenol en fibras de PA6, se llevó a cabo bajo las mismas condiciones experimentales que la cinética de sorción del  $\text{CO}_2$ , con el fin de analizar ambos fenómenos difusivos dentro de la misma matriz polimérica. La Figura 5.3 ilustra las curvas de sorción del eugenol en las fibras de PA6.

Con respecto a la Figura 5.3, se observa que la cantidad de eugenol impregnada en el polímero aumenta con el tiempo hasta el punto de saturación, describiendo un proceso de difusión Fickiano. También se nota una buena aproximación entre los datos experimentales y los calculados (AARD <3.5%), indicando que el modelo de difusión aplicado funciona de manera apropiada para este tipo de sistemas. Adicionalmente, se encontró que el equilibrio de sorción del eugenol se produjo después de aproximadamente 2 h de impregnación en todas las combinaciones de presión y temperatura estudiadas.

Por otro lado, en la Tabla 5.4 se muestra el coeficiente de reparto ( $K_{p/f}$ ), el coeficiente de difusión aparente ( $D_a$ ) del eugenol y la sorción de eugenol en el equilibrio (SE%) junto con las respectivas densidades del CO<sub>2</sub> en cada combinación de presión y temperatura.

**Tabla 5.4.** Coeficiente de partición, solubilidad del eugenol y coeficiente de difusión del eugenol en poliamida 6.

Presión (MPa)	Temperatura (°C)	$\rho$ CO <sub>2</sub> (kg m <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	SE%	$K_{p/f}$	$D_a$ (m <sup>2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	AARD%
10	40	628.61	3.76%	8.18	1.29E-14	2.0%
	60	289.95	12.56%	30.43	1.21E-14	1.5%
12	40	717.76	5.22%	11.66	1.25E-14	2.7%
	60	434.43	15.96%	36.68	1.51E-14	3.2%

<sup>a</sup> del NIST; los resultados se presentan como valores promedios  $\pm$  la desviación estándar ( $n = 2$ )

A partir de estos datos, se observa que la temperatura tiene un efecto positivo sobre la incorporación del eugenol en las fibras del polímero, mientras que, por otro lado, la influencia de la presión sobre la impregnación de este compuesto es moderada. Sobre estos mismos datos, también se puede ver que el máximo rendimiento de impregnación del eugenol en el equilibrio estuvo alrededor de un 16% (a 12 MPa y 60 °C) y el mínimo valor de sorción fue de un 3.8% (a 10 MPa y 40 °C). Estos resultados son consistentes con el estudio presentado anteriormente en la sección 5.1, en donde el máximo rendimiento de impregnación en las mismas fibras de poliamida fue de un 15.27 % a 12 MPa y 60 °C con una velocidad de despresurización de 0.5 MPa min<sup>-1</sup>. Como se mencionó anteriormente, el motivo por el cual se registraron estos altos rendimientos de impregnación posiblemente se deba a una buena interacción química entre el polímero y el compuesto activo, en donde los grupos funcionales polares en la estructura de la poliamida 6, interactúan con los grupos -OH- y éter del eugenol por medio de enlaces de tipo puente hidrógeno. En un estudio similar, Markovic y col. [173] sugieren que el alto rendimiento de impregnación de timol en nanofibras de poliamida mediante CO<sub>2</sub>-sc probablemente se deba a la capacidad que tienen los grupos hidroxilos de formar enlaces de hidrógeno con los átomos de nitrógeno de los grupos amina de la poliamida.

Por otra parte, el coeficiente de reparto del compuesto activo entre el polímero y la fase fluida ( $K_{p/f}$ ) se calculó en función de los datos obtenidos como ya se explicó anteriormente en la Sección 4.4 y se muestran en la Tabla 5.4. Como se puede ver el  $K_{p/f}$  parece tener un ligero incremento con la presión a una temperatura constante, mientras que, a una presión dada, el  $K_{p/f}$  aumenta de manera pronunciada con el incremento temperatura.

Por ejemplo, a 12 MPa, el  $K_{p/f}$  pasa de 11.66 a 40°C a 36.68 a 60°C. La tendencia observada es semejante a la descrita por Sanchez-Sanchez y col.[210] quienes reportaron un incremento en el coeficiente de reparto de iriflofenonas y mangiferina (principales polifenoles del mango) con la temperatura y la presión, en un estudio sobre la incorporación de extracto de hoja de mango en tejidos de poliéster mediante la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc.

Como ya se vino discutiendo, la presión y la temperatura juegan un papel importante en la incorporación del eugenol en la poliamida durante el proceso de impregnación supercrítico. Por una parte, la disminución de la densidad del CO<sub>2</sub> con la temperatura y, por tanto, de su poder solvente, hace que el equilibrio de partición se desplace hacia la fase polimérica. Esto explicaría por qué los valores más altos de impregnación y coeficiente de partición fueron obtenidos a menores densidades de CO<sub>2</sub> (~450 kg m<sup>-3</sup>). Adicionalmente, como ya se mencionó, el incremento de la temperatura favorece la plastificación del polímero [239], haciendo que las moléculas de eugenol penetren y se incorporen más fácilmente. Además, este efecto promueve una mejor interacción entre los grupos funcionales polares del compuesto activo y las cadenas poliméricas.

Por otro lado, en ocasiones anteriores se comentó que, el efecto de la presión se encuentra principalmente relacionado con el hinchamiento del polímero inducido por la sorción del CO<sub>2</sub>. En este sentido, La dependencia limitada del  $K_{p/f}$  con la presión (a temperatura constante) concuerda con los valores de sorción del CO<sub>2</sub> reportados anteriormente en la sección 5.2, los cuales no registraron una variación significativa en las distintas condiciones estudiadas.

El coeficiente de difusión aparente del eugenol en la poliamida se estimó a partir de la correlación de datos experimentales de la cinética de impregnación con el modelo de difusión de Fick descrito en la Sección 4.9. De acuerdo con los resultados expresados en la Tabla 5.4, se observa que los valores del  $D_a$  se encuentran en un rango de  $1.2 \times 10^{-14}$  a  $1.5 \times 10^{-14}$  m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>. Estos datos sugieren que el coeficiente de difusión aparente es prácticamente independiente de la presión y la temperatura en este rango de condiciones de operación. Este comportamiento puede ser atribuido al proceso de sorción del CO<sub>2</sub>, por el hecho de que la impregnación supercrítica involucra en realidad un sistema ternario compuesto por CO<sub>2</sub>, eugenol y el polímero. De hecho, como ya se ha comentado anteriormente, una de las principales ventajas de la impregnación asistida

por CO<sub>2</sub>-sc, es la mejora de la difusión por causa de la sorción del CO<sub>2</sub>. Por lo tanto, este efecto conlleva a que la matriz del polímero se hinche, lo que produce un incremento en el volumen libre entre cadenas y en sus propiedades difusivas, facilitando el proceso de difusión de las moléculas del soluto en el medio [113,136].

En consecuencia, la velocidad de difusión está directamente relacionada con el grado de sorción. Como se vio en la Sección 5.2, la cantidad de CO<sub>2</sub> absorbida por la poliamida fue prácticamente constante en todas las condiciones evaluadas, por lo que también es de esperar que el proceso de difusión del eugenol dentro de la matriz polimérica muestre un comportamiento similar.

También se observa que el coeficiente de difusión del CO<sub>2</sub>, es cuatro ordenes de magnitud mayor que el coeficiente de difusión del eugenol en la poliamida 6 ( $10^{-10}$  vs  $10^{-14}$  m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), ambos obtenidos en las mismas condiciones experimentales de operación evaluadas. Cabe resaltar que esta comparación se hace sobre dos tipos de especímenes distintos, es decir, que los ensayos de difusión del CO<sub>2</sub> se realizaron sobre un film de PA6 y la cinética de impregnación del eugenol se efectuó sobre fibras de PA6, por lo que, al cambiar la forma del tipo de muestra, se podrían haber registrado pequeños cambios en la cristalinidad del material afectando la difusión. No obstante, algunos estudios sostienen que la variación del coeficiente de difusión introducida por cambios de cristalinidad suele ser dentro del mismo orden de magnitud [240–242]. Asimismo, dado que el  $D_a$  del CO<sub>2</sub> es mucho mayor que el del eugenol, se puede considerar que durante el proceso de impregnación las moléculas de CO<sub>2</sub> de la mezcla supercrítica (CO<sub>2</sub> + eugenol) primero penetran, saturan e hinchan rápidamente la poliamida, permitiendo que, en una segunda etapa, las moléculas del eugenol difundan en una matriz ya previamente hinchada y plastificada por el CO<sub>2</sub>. Por lo tanto, este fenómeno a su vez refuerza la validez del modelo utilizado, ya que este asume que la difusión es para una sola especie y que la difusividad es constante a lo largo del proceso.

Aunque la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc ha sido una técnica estudiada por muchos investigadores, en la literatura actual existe relativamente poca información acerca del coeficiente de difusión de compuestos activos impregnados en polímeros a alta presión. Por ejemplo, Kim y col. [243], evaluaron el comportamiento difusivo de las moléculas de un colorante en fibras de poliéster en diferentes condiciones de impregnación con CO<sub>2</sub> supercrítico, obteniendo coeficientes de difusión dentro de un rango de  $0.8 \times 10^{-16}$  a  $8$

$\times 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  (a 25 MPa y 120 °C). Por otro lado, Fleming y col. [235] usaron datos de microscopía Raman para determinar el coeficiente de difusión de un tinte en films de PET en  $\text{CO}_2$  a alta presión, registrando un valor de  $75 \pm 1.01 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  (a 20 MPa y 80°C), mientras que Goñi y col. [150], reportaron diferentes coeficientes de difusión de R-carvona en LDPE hinchado por  $\text{CO}_2$  en un rango de  $6.5 \times 10^{-11}$  a  $3 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  (a 7–9.7 MPa y 35–60°C).

En conclusión, esta variabilidad observada, permite concluir que el valor del coeficiente de difusión depende en gran medida de la naturaleza y características del polímero (grado de cristalinidad y de su estado, vítreo o gomoso), así como también de la capacidad de sorción de  $\text{CO}_2$ , la habilidad de hinchamiento y las diferentes interacciones específicas que se puede producir entre grupos funcionales del polímero y las moléculas difundentes.

#### 5.4 Conclusiones

En este capítulo se evaluó efecto de las condiciones operativas (presión, temperatura y velocidad de despresurización) sobre el rendimiento de impregnación del eugenol en las fibras de PA6. Además, se estudiaron los principales fenómenos difusivos durante proceso de impregnación del eugenol en la poliamida en condiciones de  $\text{CO}_2$  supercrítico, dentro del contexto de desarrollo de un hilo dental activo para fines odontológicos.

La incorporación del eugenol dentro de la matriz polimérica estuvo afectada por la presión y la velocidad de despresurización. A partir de la evaluación de estas condiciones, el máximo rendimiento impregnación estuvo alrededor de 15% (p/p) a 12 MPa, 60°C y una despresurización lenta ( $0.5 \text{ MPa min}^{-1}$ ).

La cinética de sorción del  $\text{CO}_2$  se estudió por medio del método de desorción gravimétrico, permitiendo observar que el proceso de difusión tuvo un comportamiento Fickiano. De igual manera, se encontró que tanto la presión como la temperatura tuvieron poco efecto sobre la máxima cantidad del  $\text{CO}_2$  absorbida en el equilibrio, la cual fue aprox. de un 3% (p/p) en todas las condiciones estudiadas. No obstante, la incorporación del eugenol sí estuvo claramente influenciada por la presión y la temperatura.

La cinética de impregnación en fibras de poliamida demostró que el comportamiento difusivo del eugenol obedece la ley de Fick. Asimismo, el coeficiente de difusión aparente del CO<sub>2</sub> y el eugenol fueron determinados satisfactoriamente, mediante el ajuste de los datos experimentales con una solución analítica de la segunda ley de Fick para estado no estacionario. El coeficiente de difusión aparente del CO<sub>2</sub> fue cuatro ordenes de magnitud más alto que el coeficiente del eugenol ( $10^{-10}$  vs  $10^{-14}$  m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), indicando que las fibras de poliamida se hinchan y se saturan rápidamente por la sorción del CO<sub>2</sub> y en consecuencia, la difusión del eugenol se produce en un medio ya plastificado, justificando el enfoque del modelo para una sola especie.

El coeficiente de reparto del eugenol reveló que, a temperaturas más altas, se favorece el desplazamiento del equilibrio hacia la fase polimérica, lo que produce una mejora en la absorción del eugenol, alcanzando valores de impregnación próximos al 16%.

La buena concordancia entre los resultados experimentales y los datos calculados por los modelos de difusión basados en soluciones analítica de la segunda ley de Fick en sus distintas geometrías, confirman que dichos modelos constituyen una herramienta válida para describir el comportamiento difusivo en los procesos cinéticos de sorción del CO<sub>2</sub>, impregnación y de desorción del eugenol en la PA6 estudiados en esta tesis.

En general se observó que las distintas variables aquí exploradas durante la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc del eugenol en PA6 (presión, la temperatura, la despresurización y el tiempo de contacto), pueden causar un efecto importante sobre el rendimiento de impregnación, los procesos difusivos y algunas propiedades finales del material impregnado. Por lo tanto, tanto estas condiciones operativas, así como otros parámetros del proceso deben ser optimizados para controlar la incorporación del compuesto activo y quizás modular otras propiedades del material tratado como el comportamiento de liberación del compuesto activo. En términos más generales, este estudio confirma que la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc tiene un gran potencial para procesar matrices poliméricas en el desarrollo de materiales activos con fines odontológicos.

## CAPÍTULO 6

---

# CARACTERIZACIÓN DEL HILO IMPREGNADO CON EUGENOL

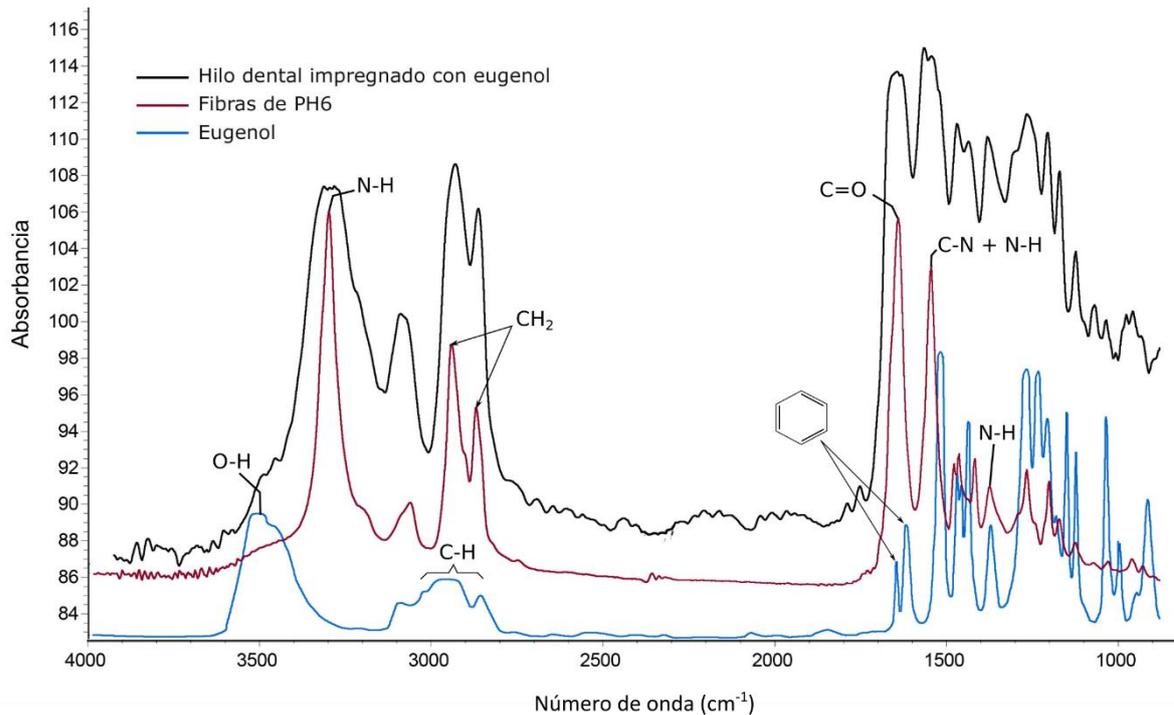
## 6. Capítulo 6: Caracterización del hilo dental impregnado con eugenol

Este capítulo se presentan las propiedades finales del hilo dental impregnado con eugenol, analizando el efecto sobre las mismas del proceso de impregnación y de las diferentes condiciones empleadas. Se analizará la morfología de las fibras, las propiedades mecánicas, térmicas y la actividad antimicrobiana.

Por otro lado, se muestran como parte de la caracterización los resultados de cinética de liberación en aire y en saliva artificial del eugenol impregnando en fibras de nylon y se discute acerca de la influencia de variables como la presión y la velocidad de despresurización sobre parámetros difusivos como el coeficiente de difusión aparente.

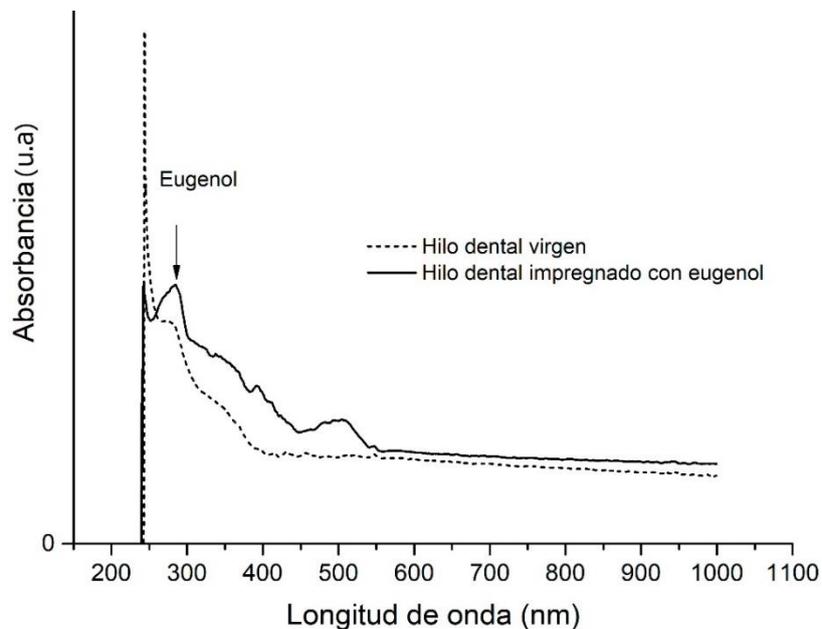
### 6.1 Evidencia de incorporación de eugenol en la PA6

La efectividad en la impregnación de eugenol en el hilo dental se evaluó en primera instancia por medio de análisis FTIR buscando identificar los picos característicos principales del eugenol a  $3522\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo -OH, a  $2841\text{--}3004\text{ cm}^{-1}$  característico de la extensión C-H y a  $1514, 1608, 1637\text{ cm}^{-1}$ , representativos de la extensión del enlace aromático C=C [216], en la matriz de la poliamida (Figura 6.1). Este polímero por su parte se caracteriza por los picos a  $3290\text{ cm}^{-1}$  del enlace N-H, a  $2932, 2860\text{ cm}^{-1}$  de los grupos  $\text{CH}_2$  y a  $1630\text{ cm}^{-1}$  de C=O entre otros tal como se puede apreciar en la Figura 6.1. Los resultados del análisis IR muestran que los picos característicos del eugenol no pueden ser fácilmente detectados en el hilo impregnado, debido a que se encuentran totalmente solapados por el espectro de la poliamida. A pesar de ello, mediante este análisis FTIR se confirmó que no hubo reacciones indeseadas y tampoco se registró signos de deterioro de la matriz polimérica durante el tratamiento a alta presión.



**Figura 6.1** Espectros FTIR: fibras de PA6, eugenol puro e hilo dental impregnado con eugenol (T = 60 °C, P = 10 MPa, velocidad de despresurización = 0.5 MPa min<sup>-1</sup>, t = 2 h)

Tras este inconveniente en la detección del eugenol mediante FTIR, de forma alternativa, se realizaron análisis UV-visible para sólidos en modo reflectancia (ver Figura 6.2), buscando la absorbancia característica del eugenol a 280 nm.

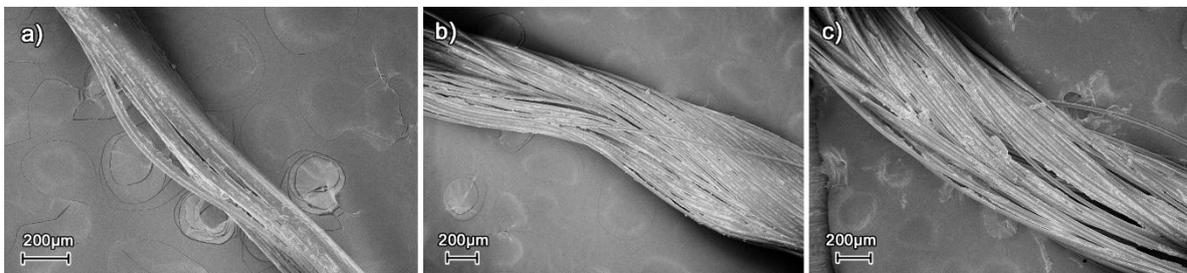


**Figura 6.2.** Espectro UV-visible sólido de hilo dental virgen e hilo dental impregnado con eugenol (a T = 60 °C, 2 h, P = 12 MPa, velocidad de despresurización= 0.5 MPa min<sup>-1</sup>)

En la Figura 6.2 se observa la diferencia de absorbancia entre el hilo impregnado y el hilo original, sobresaliendo un pico a 280 nm que coincide con el eugenol, lo que confirma la presencia de este compuesto en el material tratado.

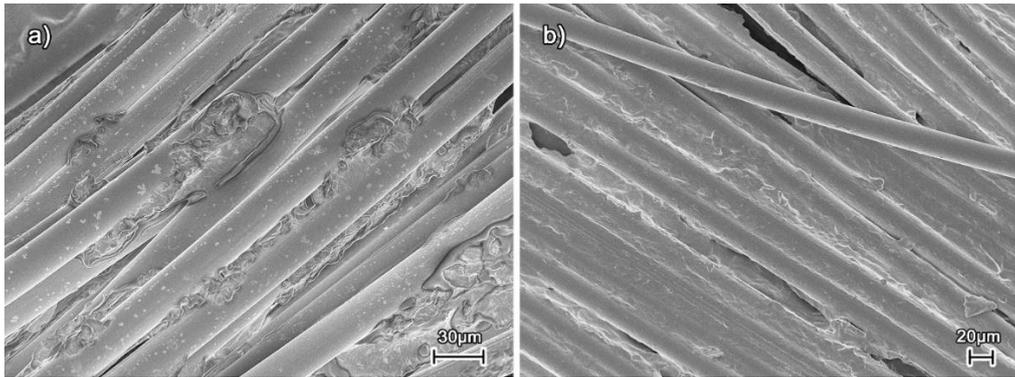
## 6.2 Morfología de las fibras del hilo dental

Para analizar de manera más profunda la influencia del proceso de impregnación supercrítica sobre el material, la morfología de las fibras del hilo dental impregnado y sin impregnar fue evaluada mediante SEM. La Figura 6.3. muestra imágenes SEM representativas del hilo original, presurizado con CO<sub>2</sub> e impregnado con eugenol. Las figuras permiten observar que el hilo dental está compuesto de un número de largos filamentos cilíndricos sólidos. A partir de estas imágenes fue posible determinar el diámetro medio de las fibras individuales mediante la medición de imágenes por Photoshop. El diámetro promedio de la fibra es de  $24,7 \pm 11 \mu\text{m}$  (con base en 20 mediciones). Además, mediante este análisis se confirmó que no hubo variaciones significativas en diámetro de las fibras de las muestras tratadas, lo que descarta algunos efectos como espumado o hinchamiento excesivo de las fibras luego del tratamiento de alta presión y posterior despresurización.



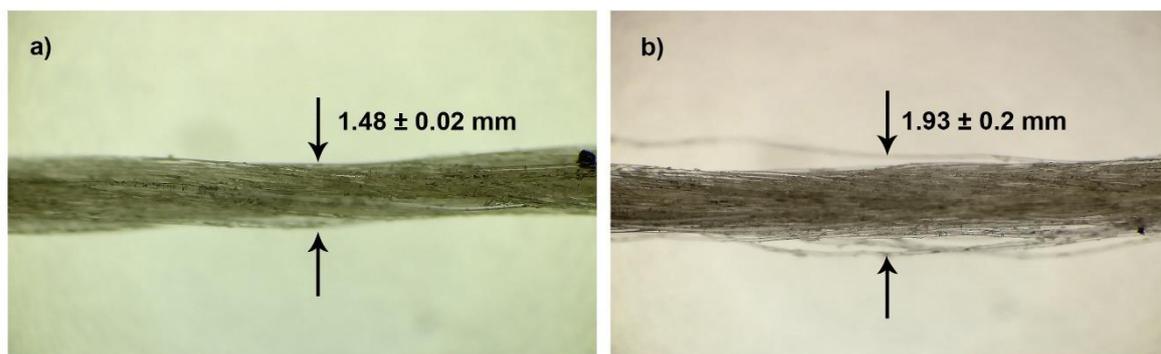
**Figura. 6.3.** Imágenes SEM: (a) hilo original, (b) hilo presurizado con CO<sub>2</sub> (12 MPa/0.5 MPa·min<sup>-1</sup>) y (c) hilo impregnado con eugenol (12 MPa/0.5 MPa·min<sup>-1</sup>).

Al comparar las imágenes (a-c) de la Figura 6.3, se puede observar que el proceso de impregnación induce a la separación entre los filamentos del hilo, haciendo que la estructura del hilo en general quede más abierta. Estas imágenes refuerzan la idea anteriormente sugerida en el capítulo 5 del posible efecto mecánico de separación de fibras a causa de la desorción del dióxido durante la despresurización, que inclusive puede llegar a tener un efecto mayor a velocidades de despresurización más altas.



**Figura 6.4.** imágenes SEM: (a) hilo impregnado con eugenol ( $12 \text{ MPa}/0.5 \text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ ) y (b) hilo presurizado con  $\text{CO}_2$  ( $12 \text{ MPa}/60^\circ\text{C}/0.5 \text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ )

En la Figura 6.4 se muestran mayores magnificaciones de las imágenes de hilo dental presurizado e impregnado con eugenol a  $12 \text{ MPa}/60^\circ\text{C}/0.5 \text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ . En la Figura 6.4a se observan pequeñas manchas a lo largo de superficie de las fibras impregnadas con eugenol, mientras que en la Figura 6.4b las fibras del hilo tratado con  $\text{CO}_2$  puro, lucen indistintas, sin ningún tipo de marca. La presencia de estas pequeñas manchas podría deberse a cierta cantidad de eugenol adherida a la superficie de las fibras luego del proceso de impregnación. De hecho, durante el escaneo de la superficie de las muestras impregnadas, estas manchas desaparecían cuando el haz de electrones del equipo SEM incidía sobre ellas, como si sufrieran algún tipo de evaporación instantánea.



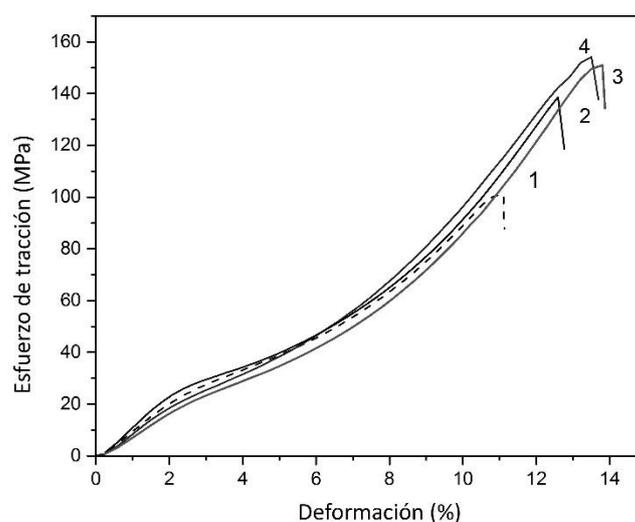
**Figura 6.5.** Imágenes de microscopio óptico de un hilo dental impregnado con eugenol a  $T = 60^\circ\text{C}$ ,  $t = 2 \text{ h}$  y velocidad de despresurización de (a)  $0.5 \text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ , y (b)  $5 \text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ , con magnificación estándar de 40x.

Con el fin de confirmar el efecto de la descompresión sobre la separación de fibras después del tratamiento mencionado anteriormente, se obtuvieron imágenes de microscopía óptica de un hilo impregnado en las siguientes condiciones del proceso:  $P =$

12 MPa,  $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $t = 2\text{ h}$  con dos velocidades de despresurización:  $0.5\text{ MPa min}^{-1}$  y  $5\text{ MPa min}^{-1}$ , las cuales se muestran en la Fig. 6.5. En esas imágenes se puede apreciar que la muestra despresurizada a la menor velocidad (Fig. 6.5 a), conserva sus filamentos más unidos después del proceso despresurización presentando un ancho de hilo en promedio de  $1.48 \pm 0.02\text{ mm}$ , similar al valor original de la muestra ( $1.52 \pm 0.11\text{ mm}$ ), mientras que el hilo obtenido a una velocidad de despresurización más rápida (Fig. 6.5 b), revela que sus filamentos se encuentran un poco más separados, por lo que el ancho del hilo es ligeramente mayor ( $1.93 \pm 0.20\text{ mm}$ ) en comparación a la muestra de hilo original. Esta descripción sugiere que a velocidades de despresurización más rápidas se induce a una mayor separación entre fibras.

### 6.3 Propiedades mecánicas

Con el fin de investigar el efecto de la despresurización sobre las propiedades mecánicas del hilo tratado con eugenol, se testearon muestras de hilo impregnadas a la presión de máximo rendimiento (12 MPa, a  $60^{\circ}\text{C}$ ), utilizando dos velocidades de despresurización diferentes ( $0.5$  y  $5\text{ MPa min}^{-1}$ ). Asimismo, se prepararon muestras tratadas solo con  $\text{CO}_2$  a alta presión (12 MPa y  $0.5\text{ MPa min}^{-1}$ ) para analizar por separado el efecto de la incorporación de eugenol en las propiedades mecánicas del hilo. En la Figura 6.6 se muestran curvas representativas de tensión – deformación de muestras de hilo virgen, tratadas con  $\text{CO}_2$  puro e impregnadas de eugenol, obtenidas a  $0.5$  y  $5\text{ MPa min}^{-1}$ .



**Figura 6.6.** Curvas de tensión deformación del hilo dental 1: virgen; 2: tratado con  $\text{CO}_2$  puro (12 MPa/ $0.5\text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ ); 3: Impregnado con eugenol (12 MPa/ $60^{\circ}\text{C}/0.5\text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ ); 4: Impregnado con eugenol (12 MPa/ $5\text{ MPa}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

De la Figura 6.6 se puede observar que todas las muestras revelan el mismo comportamiento mecánico con un perfil de curva típico de la poliamida 6, con una primera región de elasticidad reversible seguida de una región de deformación irreversible hasta el punto de corte [244]. Las propiedades mecánicas como la resistencia a la tracción, módulo de Young y elongación a la rotura se presentan en la Tabla 6.1.

**Tabla 6.1.** Propiedades mecánicas del hilo dental virgen, tratado y no tratado

Muestra	Módulo de Young (MPa)	Resistencia a la tracción (MPa)	Elongación a la rotura (%)
1. Virgen	1008.05 ± 50.60 <sup>a</sup>	101.56 ± 9.03 <sup>a</sup>	12.02 ± 1.07 <sup>a</sup>
2. Tratado con CO <sub>2</sub> (12 MPa, 0.5 MPa·min <sup>-1</sup> )	1108.04 ± 88.05 <sup>c</sup>	124.95 ± 15.43 <sup>b</sup>	13.09 ± 1.18 <sup>a</sup>
3. Impregnado (12 MPa, 0.5 MPa·min <sup>-1</sup> )	951.18 ± 59.97 <sup>b</sup>	135.91 ± 17.57 <sup>b</sup>	13.17 ± 1.41 <sup>a</sup>
4. Impregnado (12 MPa, 5 MPa·min <sup>-1</sup> )	993.41 ± 90.88 <sup>a,b</sup>	148.97 ± 28.53 <sup>b</sup>	13.80 ± 1.44 <sup>a</sup>

Los resultados se muestran como valores promedios ± desviación estándar ( $n = 6$  réplicas).

Letras diferentes en la misma columna (a,b,c) indican diferencias significativas (para  $p < 0.05$ ).

Como se puede ver, las propiedades mecánicas en general fueron moderadamente afectadas por el proceso de impregnación a alta presión. La resistencia a la tracción registró un aumento de alrededor de un 30% en muestras tratadas (con eugenol y CO<sub>2</sub> puro) en comparación con muestras de hilo virgen, mientras que el módulo de Young exhibió un incremento de aproximadamente un 10% en muestras presurizadas con CO<sub>2</sub>, y una ligera disminución del 9% en muestras impregnadas con eugenol. Por otro lado, la elongación a la rotura no registró diferencias estadísticamente significativas después del tratamiento. Este comportamiento puede atribuirse a los cambios producidos en los dominios amorfos y cristalinos como consecuencia del tratamiento supercrítico. En este sentido, cuando la poliamida se expone a condiciones supercríticas, las fibras del polímero se hinchan y se plastifican por la sorción CO<sub>2</sub>, lo que posiblemente causa una reorganización de las redes cristalinas [112,146,211]. Este cambio en el grado de cristalinidad podría ser el principal promotor del incremento en la resistencia a la tracción y el módulo de Young en las muestras del hilo tratado con CO<sub>2</sub> puro. Por otro lado, cuando el eugenol se incorpora dentro de la matriz, produce un efecto de plastificación, causando un incremento de la ductilidad del material reflejado en una disminución en la elongación a la rotura y módulo de Young. Debido a que la resistencia a la tracción en las

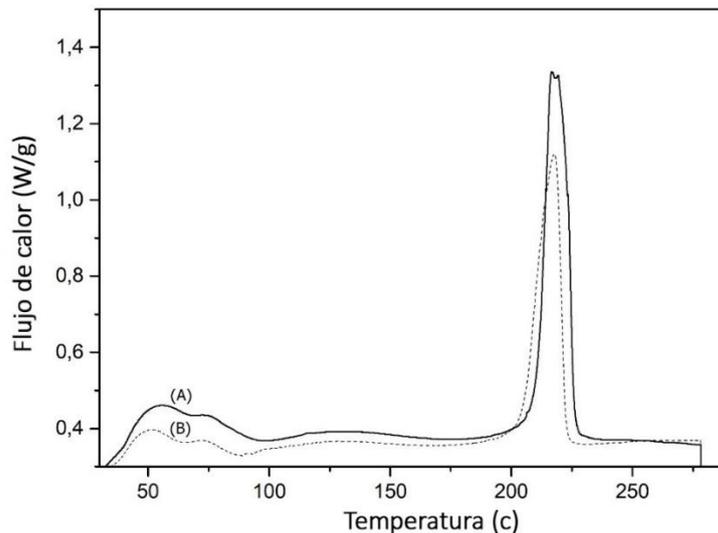
muestras analizadas ocurre en el punto de máxima elongación, este incremento en la elongación también hace que se obtenga un incremento en la resistencia debido al comportamiento observado en curvas (Fig. 6.6).

Distintos comportamientos en propiedades mecánicas también han sido reportados en la impregnación supercrítica de compuestos activos en otras clases de polímeros, por ejemplo, Goñi y col. [112] observaron una disminución del 30% en la resistencia a la tracción y un 25% en módulo de Young en muestras LLDPE impregnadas con eugenol en CO<sub>2</sub>-sc. Según los autores, este comportamiento tensión-deformación de las muestras tratadas con CO<sub>2</sub> (con o sin eugenol) puede deberse a su menor grado de cristalinidad, o una morfología cristalina diferente en las muestras como resultado del ciclo de hinchamiento, plastificación y recristalización producida por la sorción y desorción del solvente supercrítico durante el proceso, los cuales pueden estar directamente relacionados con los cambios observados en las propiedades térmicas. En un estudio similar, Medeiros y col. [245], encontraron que después de incorporar aceite esencial del clavo de olor en films de LLDPE en presencia de CO<sub>2</sub>-sc, las propiedades mecánicas del material fueron modificadas, presentando una reducción del 31%, 11% y 14 % en la resistencia a la tracción, elongación a la rotura y el módulo de Young, respectivamente. Estos cambios se atribuyen al efecto de plastificación del aceite esencial al incorporarse en cadenas poliméricas. Por otro lado, Alvarado y col. [49] reportaron una disminución drástica en la resistencia a la tracción y un incremento en la elongación a la rotura después al incorporar timol en film de PLA reforzado con nanofibras de PV/CNC mediante CO<sub>2</sub>-sc. Este tipo de modificaciones también fueron atribuidas al efecto plastificante del compuesto activo en la matriz debido a que la presencia de timol en el PLA aumenta la flexibilidad del material.

#### 6.4 Análisis térmico

El efecto de la impregnación de eugenol utilizando CO<sub>2</sub>-sc sobre las propiedades térmicas de las fibras se analizaron mediante Calorimetría Diferencial por Barrido (DSC). Este análisis se realizó para la muestra impregnada a P=12 MPa, T=60°C y despresurización lenta para observar el efecto general de la incorporación del compuesto activo, y a diferentes tiempos de impregnación, para determinar cambios en estas propiedades que pudieran afectar el comportamiento difusivo del CO<sub>2</sub> y del eugenol estudiado en el Cap.

5. La Tabla 6.2 muestra las principales propiedades térmicas del hilo virgen y de muestras impregnadas a diferentes tiempos de contacto. En la Figura 6.7 se muestra un ejemplo uno de los termogramas DSC de muestras de hilo dental virgen y tratado con eugenol.



**Figura 6.7.** Curvas DSC de muestras de fibras de PA6 no tratado (A) e impregnadas con eugenol (B) a 12 MPa, 60 °C y 2 h de impregnación.

En la Figura 6.7 se observa que, para ambos casos, en la primera etapa de la curva de calentamiento, aparece un pico en el rango de 50 a 60 °C, el cual puede estar atribuido al calor absorbido por la humedad presente en las fibras del polímero [133,246]. Más adelante se observa un segundo pico, un tanto más pequeño, alrededor de los 75 °C que puede estar relacionado con la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) del polímero. Esta temperatura parece coincidir con la  $T_g$  característica de la poliamida 6 [229], aunque no se puede asegurar con certeza debido al comportamiento de la curva. Luego, como característica principal del termograma, se observa un tercer pico endotérmico agudo a la temperatura de 217 °C, que corresponde al punto de fusión del polímero. También se puede apreciar en general que dichas temperaturas no fueron afectadas por el proceso de impregnación.

Los porcentajes de cristalinidad se calcularon a partir de estas curvas y los valores obtenidos se muestran en la Tabla 6.2. En primer lugar, de los datos se observa que la temperatura de fusión no sufrió cambios significativos entre las muestras probadas. Sin embargo, la cristalinidad parece haber sido afectada por el tratamiento con la mezcla supercrítica. Todas las muestras impregnadas muestran un ligero descenso en la

cristalinidad de aproximadamente un 16% con respecto a las fibras no tratadas. Además, se observa que independientemente del tiempo de impregnación, la variación del grado de cristalinidad entre las muestras tratadas no superó el 3%.

**Tabla 6.2.** Propiedades térmicas de fibras de PA6 impregnadas con eugenol (a  $T = 60^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 12 \text{ MPa}$ ).

Tiempo (min)	Punto de fusión $T_m$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	Calor de fusión $\Delta H_m$ (J/g)	Cristalinidad $X_c$ (%)
0	217.0	66.26	28.00
15	216.0	56.14	24.41
30	217.7	50.45	21.93
45	217.7	53.19	23.12
60	217.0	55.22	24.01
90	217.0	54.87	23.86

De este modo, este análisis confirma el efecto plastificante producido por el eugenol, el cual se ve reflejado en la disminución del porcentaje de cristalinidad de las muestras impregnadas respecto a la virgen. Además, el tratamiento de alta presión tiene un impacto muy bajo sobre las propiedades térmicas del polímero, lo cual concuerda de cierta manera con el mínimo efecto registrado por el tratamiento con  $\text{CO}_2$  supercrítico sobre las propiedades mecánicas del hilo dental, como se vio en la sección 6.3.

Por otra parte, los pequeños cambios en la cristalinidad no tendrían un impacto significativo en los coeficientes de difusión aparente de eugenol determinados en la sección 5.3, dado que estas variaciones ocurren de manera instantánea durante el proceso de impregnación. Por lo tanto, es muy probable que la característica de la matriz no haya sido afectada seriamente durante el tiempo, reforzando la idea de que, durante el proceso de impregnación, en primer lugar, el polímero se hincha y se plastifica rápidamente por la sorción del  $\text{CO}_2$  y luego se produce una difusión más lenta del eugenol a través de una matriz previamente modificada, como se discutió en el Cap. 5.

Esta disminución en el porcentaje de la cristalinidad en polímero después de haber sido expuestos en  $\text{CO}_2$  supercrítico ya ha sido observado por otros autores. Goñi y col. [112] reportaron una reducción de cristalinidad en films LLDPE del 44% al 37 % después de proceso de impregnación supercrítico con eugenol, sugiriendo que el efecto plastificante y de hinchamiento del solvente supercrítico, puede producir cambios en la matriz polimérica, afectando la cantidad de regiones amorfas y cristalinas. Un comportamiento

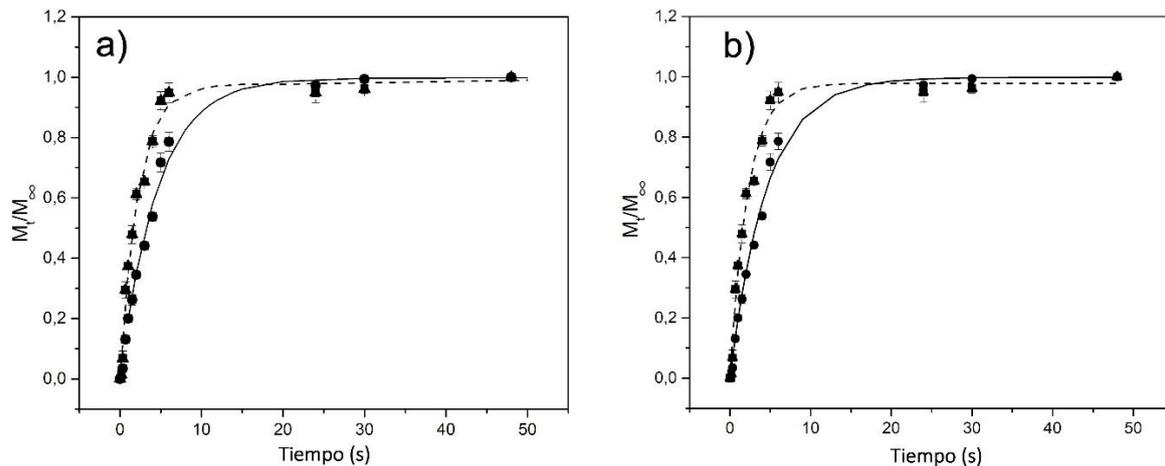
similar fue observado por Torres y col. [201] quienes encontraron una disminución la cristalinidad hasta de un 17 % material impregnado con respecto al LLDPE original después incorporar timol en LLDPE con CO<sub>2</sub>-sc, señalando que este comportamiento podría explicarse por un efecto plastificante provocado por la incorporación del timol a la matriz polimérica. Por su parte, Alvarado y col. [49] notaron un decrecimiento en la cristalinidad del PLA-(PV/CNC) de un 56% en muestras impregnadas con timol en CO<sub>2</sub>-sc. Asimismo, estos autores observaron una disminución significativa de la T<sub>g</sub> los cuales también atribuyeron este comportamiento al efecto plastificante del timol incorporado en el PLA. Franco y col. [215] también reportaron un descenso del 28% en la cristalinidad en muestras de films de PET/PP impregnados con  $\alpha$ -tocoferol en CO<sub>2</sub>-sc. Según los autores, este comportamiento se debe a los cambios estructurales inducidos por el efecto plastificante de la mezcla supercrítica.

### 6.5 Cinética de liberación en aire

El conocimiento sobre la desorción del compuesto activo en el aire puede proporcionar información muy importante acerca del desarrollo de envases, estimación de la vida útil y el uso del producto por parte del consumidor. Por este motivo, como parte de esta investigación se estudió el comportamiento de desorción del eugenol impregnado en las fibras de PA6 y su relación con las condiciones operativas

Como ya se detalló en la Sección 4.7, los ensayos de desorción del hilo impregnado con eugenol fueron realizados en condiciones ambientales y los datos experimentales obtenidos fueron modelados utilizando los modelos de desorción de uno y dos sitios y el modelo el modelo de difusión para un cilindro sólido. La Tabla 6.3 indica los valores de los parámetros ajustados para los tres modelos estudiados, así como el error de desviación de los modelos, expresados en errores relativos (SSE) y absoluto (AARD%).

Por otro lado, las Figuras 6.8 y 6.9 muestran los perfiles de liberación del eugenol de muestras de hilo dental impregnadas a 12 MPa, 60 ° C, 2 h con diferentes velocidades de despresurización (0.5 and 5 MPa min<sup>-1</sup>) junto con las correlaciones de los modelos aplicados. Adicionalmente, la Figura 6.9 muestra una ampliación en el arco de la curva de desorción para una mejor apreciación del ajuste del modelo de difusión en esa sección de la curva.

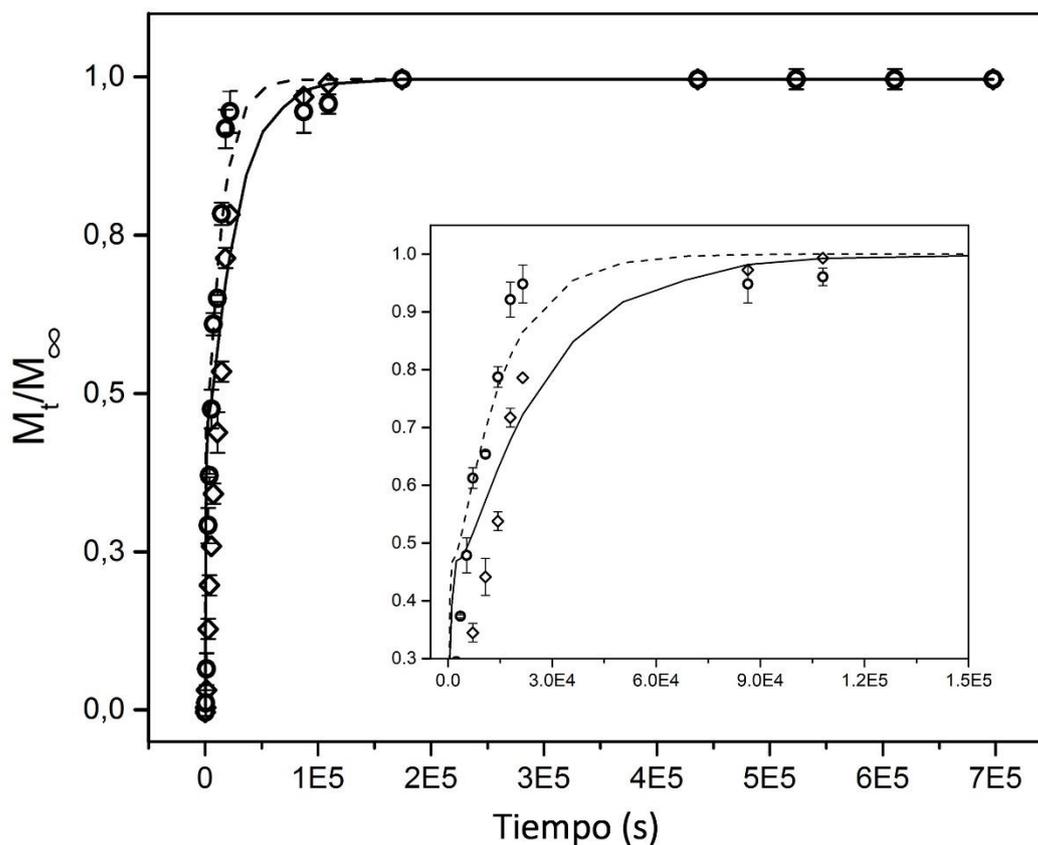


**Figura 6.8.** Perfiles de liberación del eugenol en aire de muestras impregnadas a  $P=12$  MPa,  $T=60$  °C velocidad de despresurización de (●)  $0.5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  and (▲)  $5$  MPa  $\text{min}^{-1}$ . Las líneas corresponden al ajuste de (a) modelo cinético de un sitio y (b) modelo cinético de dos sitios. Líneas sólidas para  $0.5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  y líneas punteadas para  $5$  MPa  $\text{min}^{-1}$ . Las barras verticales indican la desviación estándar ( $n=2$ )

A partir de los datos expresados en la Tabla 6.3 y las Figuras 6.8 y 6.9, se observa que los tres modelos representan correctamente la cinética de liberación, por lo que existe una buena concordancia entre los datos experimentales y los valores calculados por los tres modelos. Cabe señalar que el error de desviación de los modelos de uno y dos sitios es prácticamente el mismo, debido a que el término que corresponde a la fracción de menor velocidad de desorción ( $1-F$ ) es mucho más pequeño que el otro término, en otras palabras, la fracción  $F$  es cercana a la unidad.

El análisis de los resultados indica que el eugenol impregnado (>80%) se liberó después de 24 h de exposición en el aire. Además, es posible notar que la velocidad de despresurización tuvo una gran influencia sobre la velocidad de desorción del eugenol. De hecho, la desorción del eugenol fue más acelerada en las muestras despresurizadas a una velocidad más alta. Este aspecto claramente se refleja tanto en el coeficiente de difusión aparente ( $D_a$ ) como en los coeficientes cinéticos relacionados con la desorción del eugenol en los modelos empíricos utilizados (Tabla 6.3). Por ejemplo, el coeficiente de difusión de las muestras despresurizadas a una velocidad de  $0.5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  es aproximadamente un 50% mayor que el  $D_a$  de muestras obtenidas a  $5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  ( $2.55 \times 10^{-15}$   $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  vs  $1.7 \times 10^{-15}$   $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Asimismo, de los datos se observa que el  $D_a$  obtenido de los ensayos de desorción en aire a presión atmosférica ( $10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) es un orden de magnitud menor que el coeficiente de difusión del eugenol en condiciones supercríticas como ya se mostró anteriormente en la Sección 5.3. Por lo tanto, esta diferencia indica que la transferencia de masa del soluto es mayor cuando el polímero está expuesto a una atmosfera de  $\text{CO}_2$  supercrítico, por los fenómenos explicados anteriormente.



**Figura 6.9.** Perfiles de liberación del eugenol en aire de muestras impregnadas a  $P=12 \text{ MPa}$ ,  $T=60 \text{ }^\circ\text{C}$  con una velocidad de despresurización de ( $\diamond$ )  $0.5 \text{ MPa min}^{-1}$  y ( $\circ$ )  $5 \text{ MPa min}^{-1}$ . Las líneas representan la correlación del modelo de difusión  $0.5 \text{ MPa min}^{-1}$  (línea sólida) y  $5 \text{ MPa min}^{-1}$  (línea punteada). Las barras verticales indican la desviación estándar ( $n=2$ )

Por otra parte, luego de 48 h del ensayo de liberación, las muestras se analizaron por espectrofotometría UV para identificar si tenían alguna cantidad residual de eugenol impregnada. Este análisis reveló que las muestras despresurizadas a  $0.5 \text{ MPa min}^{-1}$ , seguían teniendo alrededor de un 3% de la masa total de eugenol originalmente impregnada, mientras que las muestras obtenidas a  $5 \text{ MPa min}^{-1}$ , contenían aproximadamente un 1.6%.

Esta diferencia en la velocidad de desorción se puede atribuir al efecto que se produce por la rápida caída de presión durante el proceso de despresurización, que puede provocar cambios morfológicos en las muestras. Como se vio anteriormente en la sección 6.3 la descompresión rápida del sistema promueve a que los filamentos del hilo se separen entre sí e incluso lleguen a romperse (ver Figura 6.5b), generando una mayor exposición de superficie y, por tanto, facilitando la liberación del eugenol.

Este tipo de cambios morfológicos en la matriz polimérica por efecto de la rápida descompresión suele observarse en otro tipo de procedimientos de manera intencional. Algunos estudios se pueden mencionar como el de Tienne y col. [247] en el tratamiento de celulosa microcristalina por el explosión de vapor y Pielhop y col. [248] en el pretratamiento de madera a partir del mismo proceso. En ese procedimiento, la biomasa es tratada con vapor saturado a alta presión durante un período de tiempo con el objetivo de mejorar la accesibilidad de las fibras del material. Después de este tiempo, la presión se libera instantáneamente. Acto seguido el agua condensada se evapora repentinamente produciendo un efecto explosivo que conduce a la desfibrilación del material.

**Tabla 6.3** Parámetros ajustados de los modelos de cinéticos de desorción

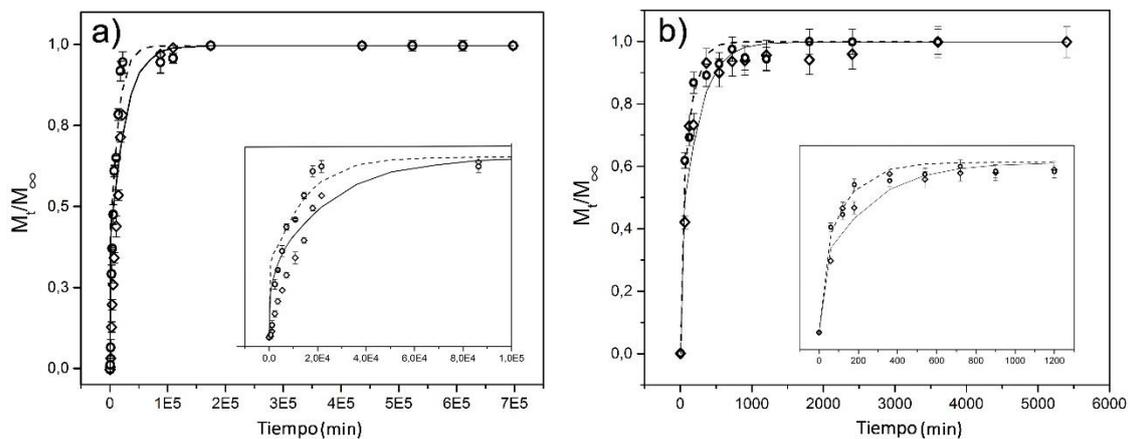
Medio	Despresurización (MPa Min <sup>-1</sup> )	Modelo cinético de un sitio				Modelo cinético de dos sitios					Modelo de difusión		
		<i>k</i> (s <sup>-1</sup> )	A (-)	SSE	AARD%	<i>k</i> <sub>1</sub> (s <sup>-1</sup> )	<i>k</i> <sub>2</sub> (s <sup>-1</sup> )	F (-)	SSE	AARD%	D (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	SSE	AARD%
Aire	0.5	6.1×10 <sup>-5</sup>	0.997	0.012	12.7	6.1×10 <sup>-5</sup>	8.1×10 <sup>-6</sup>	0.99	0.012	12.7	2.55×10 <sup>-15</sup>	0.11	11.20
	5	1.2×10 <sup>-4</sup>	0.978	0.021	13.0	1.2×10 <sup>-4</sup>	8.4×10 <sup>-6</sup>	0.97	0.022	13.0	1.70×10 <sup>-15</sup>	0.11	21.70
Saliva artificial	0.5	0.0103	0.958	0.018	3.0	1.9×10 <sup>-4</sup>	8.3×10 <sup>-6</sup>	0.90	0.009	3	1.0×10 <sup>-13</sup>	0.05	5.50
	5	0.0146	0.954	0.028	5.0	3.7×10 <sup>-4</sup>	3.6×10 <sup>-6</sup>	0.75	0.020	4	2.0×10 <sup>-13</sup>	0.03	5.30

**Tabla 6.4** Parámetros ajustados de los modelos de cinéticos de desorción de muestras de hilo impregnadas con cera y sin cera

Muestra	Modelo de dos sitios					Modelo de difusión		
	<i>k</i> <sub>1</sub> (s <sup>-1</sup> )	<i>k</i> <sub>2</sub> (s <sup>-1</sup> )	F (-)	SSE	AARD%	<i>D</i> <sub>a</sub> (m <sup>2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	SSE	AARD%
Sin cera	0.015	2.53×10 <sup>-3</sup>	0.702	0.00030	0.32	1.3810 <sup>-13</sup>	0.013	2
Con cera	0.302	2.71×10 <sup>-4</sup>	0.015	0.06190	4.30	9.5010 <sup>-15</sup>	0.0098	9.4

## 6.6 Cinética de liberación en saliva artificial

Con el propósito de conocer el comportamiento del hilo impregnado en un medio húmedo similar al de su aplicación y obtener información acerca de la vida útil del producto, se realizaron experimentos de desorción en saliva artificial siguiendo la metodología descrita en la sección 4.6. Estas pruebas se efectuaron con muestras de hilo impregnadas a 12 MPa, 60°C, 2h y dos velocidades de despresurización (0.5 and 5 MPa  $\text{min}^{-1}$ ) y muestras de hilo impregnadas recubiertas con cera dental para ortodoncia. Con base a los resultados experimentales, se construyeron curvas de desorción acumulativas del eugenol las cuales ilustran en las Figuras 6.10, 6.11 y 6.12. El coeficiente de difusión aparente y los parámetros de los modelos empíricos se muestran en las Tablas 6.3 y 6.4.



**Figura 6.10.** Perfiles de liberación del eugenol en saliva artificial de muestras impregnadas a  $P=12$  MPa,  $T=60$  °C velocidad de despresurización de ( $\blacktriangle$ ) 0.5 MPa  $\text{min}^{-1}$  y ( $\circ$ ) 5 MPa  $\text{min}^{-1}$ . Las líneas corresponden a el ajuste del (a) modelo cinético de un sitio y (b) modelo cinético de dos sitios. Líneas sólidas para 0.5 MPa  $\text{min}^{-1}$  y líneas punteadas para 5 MPa  $\text{min}^{-1}$ . Las barras verticales indican la desviación estándar ( $n=2$ )

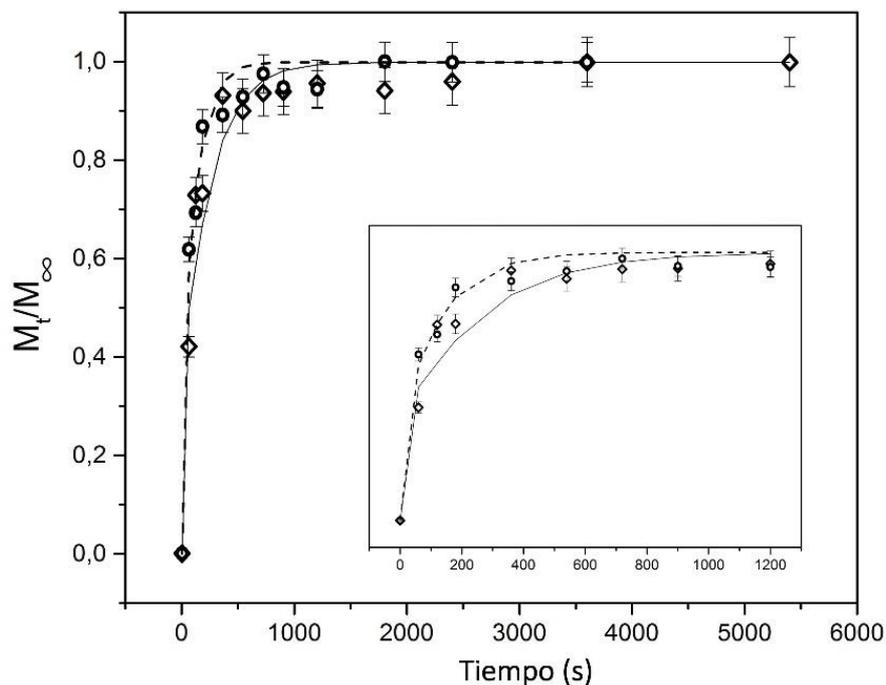
Por una parte, a partir de las Figuras 6.10, y 6.11 y la Tabla 6.3 se puede ver, que los tres modelos representan correctamente el comportamiento de desorción del eugenol, siendo mucho más aproximado el cinético de dos sitios, con el cual se logró los mínimos errores (AARD%) de ajuste.

Por otro lado, se puede observar que, tan pronto como el hilo tratado fue sumergido en saliva artificial, cerca del 90% del eugenol total impregnado se desorbió en los primeros 10 minutos. Sin embargo, luego de esos primeros minutos de rápida resorción, el proceso

de desorción se tornó un poco más lento tardando alrededor de 80 minutos en liberar el resto de eugenol contenido en el hilo.

De acuerdo con el análisis, este comportamiento sugiere que existe una fracción de eugenol impregnada en la superficie de las fibras que se libera con mayor velocidad una vez el hilo entra en contacto con la solución salival, mientras que, la otra fracción de eugenol impregnada en lo más profundo de la matriz, se libera de forma más controlada. Estas dos velocidades de desorción están representadas por las constantes  $K_1$  y  $K_2$  del modelo cinético de desorción de dos sitios.

En términos generales, estos resultados son comparables con los reportados por Salerno y col. [232] quienes también observaron un alto grado de desorción (aproximadamente 80%) del eugenol impregnado en pequeñas prótesis de policaprolactona en una solución salina, aunque con una velocidad de liberación más lenta. Los autores sugieren que dicho comportamiento puede deberse a la morfología del polímero ya que los scaffolds son estructuras muy porosas por lo que la desorción está regulada en gran medida por la difusión en los poros.

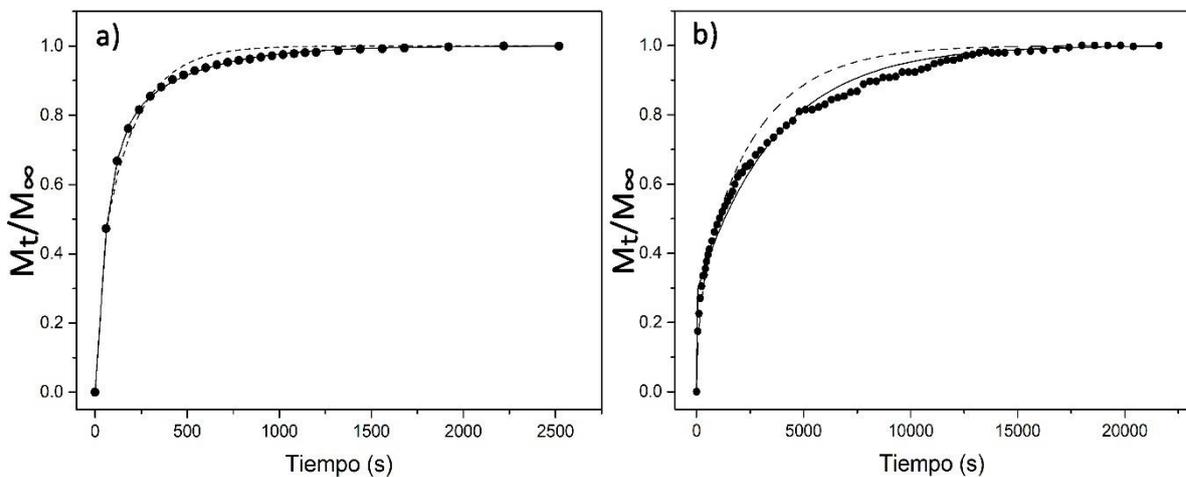


**Figura 6.11.** Perfiles de liberación del eugenol en saliva artificial de muestras impregnadas a  $P=12$  MPa,  $T=60$  °C con una velocidad de despresurización de ( $\diamond$ )  $0,5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  y ( $\circ$ )  $5$  MPa  $\text{min}^{-1}$ . Las líneas representan la correlación del modelo de difusión  $0,5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  (línea sólida) y  $5$  MPa  $\text{min}^{-1}$  (línea punteada). Las barras verticales indican la desviación estándar ( $n=2$ )

Con relación al modelo de difusión, se encontró que para muestras despresurizadas a 0.5 MPa min<sup>-1</sup> el  $D_a$  fue de  $1.08 \times 10^{-13}$  m<sup>2</sup>·s<sup>-1</sup>, en tanto que para muestras despresurizadas a 5 MPa min<sup>-1</sup>, el coeficiente de difusión fue de  $2.08 \times 10^{-13}$  m<sup>2</sup>·s<sup>-1</sup>, indicando que la velocidad de despresurización no tuvo una gran influencia sobre la velocidad de desorción.

Con respecto al proceso difusivo, se puede ver que el coeficiente de difusión en el medio salival se encuentra dos órdenes de magnitud por encima del  $D_a$  calculado para los ensayos de liberación en aire ( $10^{-13}$  vs  $10^{-15}$ ). Esta diferencia quizás se deba a la combinación de los dos siguientes factores: (i) los experimentos de desorción en el medio húmedo se efectuaron a una temperatura mayor y (ii) las muestras del hilo al estar expuestas en un medio líquido se hincharon fácilmente, lo que causó un aumento el volumen libre de polímero y mejoras en sus propiedades de difusión.

De acuerdo con estos resultados, los perfiles de liberación observados parecen adecuados para la aplicación prevista, ya que es de esperar que el hilo dental entre en contacto con la cavidad oral por un corto periodo, por lo que una liberación rápida de eugenol es una característica deseable.



**Figura 6.12.** Perfiles de liberación del eugenol en saliva artificial de muestras impregnadas a  $P=12$  MPa,  $T=60$  °C con una velocidad de despresurización de  $0.5$  MPa min<sup>-1</sup> (●) sin cera (a) y con cera (b). Las líneas representan la correlación del modelo de desorción de dos sitios (línea sólida) y modelo de difusión (línea punteada).

Con el fin de retardar la liberación del eugenol, se realizó la prueba de recubrir el hilo dental después de impregnado con cera (ver sección 4.8), un procedimiento que se realiza tradicionalmente como acabado de este tipo de productos. De esta manera, la

Figura 6.12 muestra la diferencia entre los perfiles de liberación de eugenol de muestras de hilo dental impregnadas sin cera y recubiertas con cera. A partir de estos resultados se puede observar que existe una diferencia notable en el proceso de liberación del eugenol entre estas dos muestras. En las imágenes se puede apreciar que la muestra de hilo tratada sin cera tardó alrededor de 1.30 horas para liberar por completo todo el contenido de eugenol, mientras que la muestra impregnada recubierta con cera triplicó el tiempo total de liberación del eugenol impregnado en el hilo. Adicionalmente el 80% del eugenol impregnado se desorbió de una forma más rápida en la muestra sin cera en comparación con la muestra encerada (10 min vs 80 min) cuya desorción es más sostenida a lo largo de la prueba.

Por otro lado, tal como se comentó anteriormente, existe una buena correlación entre los modelos de desorción de dos sitios y de difusión con respecto a los perfiles de liberación de las muestras impregnadas de hilo sin recubrimiento de cera (Figura 6.12 a). Sin embargo, para las muestras recubiertas con cera, se puede notar que el ajuste por parte del modelo de dos sitios es satisfactorio ( $< 5\%$  AARD), mientras que para el modelo de difusión si bien cuenta con un error de ajuste es aceptable ( $< 10\%$  AARD), no se reproduce de forma óptima sobre todo en la forma de la curva del perfil de liberación (Figura 6.12 b). Este comportamiento sugiere que el proceso de desorción del eugenol no es del todo Fickiano, por lo que es de suponer que existen dos procesos difusivos a partir de la muestra, uno proveniente del eugenol impregnado en la cera, el cual se libera en una primera fase de la desorción y un segundo proceso de difusión que ocurre partir de la desorción del eugenol impregnado las fibras. En consecuencia, este tipo de desorción indicaría que, para mayor precisión en la determinación del coeficiente de difusión, es necesario adaptar un modelo difusivo que describa mejor las dos fases continuas de desorción.

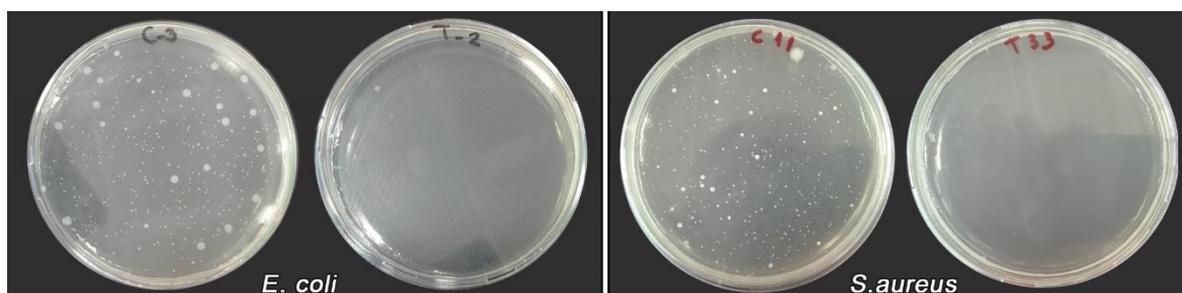
No obstante, en función de estos resultados, es posible comparar los parámetros cinéticos y difusivos de los distintos modelos empleados. Por ejemplo, de la Tabla 6.4 se puede observar que el coeficiente de difusión para la muestra sin cera es 2 órdenes de magnitud mayor que el del hilo con cera ( $10^{-13}$  vs  $1.3 \times 10^{-15}$ ) lo cual se ve reflejado justamente en los tiempos de liberación del eugenol para ambas muestras. En cuanto al modelo de desorción de dos sitios, existen diferencias entre ordenes de magnitud entre

los parámetros  $k$ , sin embargo, se hace más compleja la comparación entre estos parámetros ya que las fracciones  $f$  de las muestras son distintas.

En conclusión, el tratamiento del hilo impregnado con recubrimiento de cera prolonga tres veces más el proceso de liberación del eugenol, lo que favorece a la retención del compuesto activo en las fibras del polímero y alarga la vida útil del producto.

### 6.7 Actividad antimicrobiana

Con base a los antecedentes de actividad antimicrobiana del eugenol [32,37,43,249], y con el fin de comprobar la hipótesis planteada en esta tesis, la actividad antimicrobiana del hilo dental tratado se evaluó por medio del método de prueba de contacto dinámico ASTM E2149 descrito la sección 4.15. La Tabla 6.5 muestra resultados de la reducción microbiana del hilo dental impregnado con eugenol sobre las bacterias *E. coli* (Gram -) y *S. aureus* (Gram +). La Figura 6.13 muestra imágenes de colonias sobrevivientes de *E. coli* y *S. aureus* en placas de agar nutritivo después de haber entrado en contacto con el hilo impregnado con eugenol.



**Figura 6.13** Imágenes de las colonias de *E. coli* y *S. aureus* sobrevivientes en placas de agar nutritivo después del tratamiento (T) con control (C), durante 24 h.

Como se puede ver, las suspensiones bacterianas que entraron en contacto con el hilo tratado prácticamente no tuvieron crecimiento durante el periodo de incubación. Este efecto de inhibición se notó en la gran mayoría de las placas con tratamiento, donde el crecimiento de colonias de ambas especies bacterianas fue casi nulo.

**Tabla 6.5.** Resultados de la reducción microbiana de muestras de hilo dental impregnado con eugenol a 12 MPa, 60 °C, 2 h y despresurización de 0.5 MPa min<sup>-1</sup>.

Microorganismo	Muestra	FUC·ml <sup>-1</sup> *	R %	Log <sub>10</sub> Reducción bacteriana
<i>E. coli</i>	Inóculo	3.30×10 <sup>5</sup> ± 1.40×10 <sup>4</sup>	-	-
	Muestra control	3.59×10 <sup>5</sup> ± 1.25×10 <sup>3</sup>	-	-
	Hilo tratado	<30	>99.99 %	4.04
<i>S. aureus</i>	Inóculo	3.86×10 <sup>5</sup> ± 1.73×10 <sup>3</sup>	-	-
	Muestra control	4.14×10 <sup>5</sup> ± 2.08×10 <sup>3</sup>	-	-
	Hilo tratado	<30	>99.99 %	4.14

\*Valor promedio ± desviación estándar (n=3)

En términos generales, los resultados indican que las muestras impregnadas con eugenol exhibieron un máximo de reducción microbiana de un 99.99 % para ambos tipos de especies bacterianas, con valores de reducción logarítmica de aproximadamente 4 (Tabla 6.5). Estos resultados concuerdan con los reportados por Sauperl y col. [42] quienes al usar la misma prueba microbiológica estándar (ASTM E2149) lograron una reducción por encima del 99% para las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, usando muestras de copolímeros de quitosano/eugenol.

## 6.8 Conclusiones

El tratamiento de alta presión no afectó significativamente el comportamiento mecánico de las muestras hilo dental. Solo se registró un ligero incremento en la resistencia a la tracción.

Las imágenes SEM revelaron que las muestras de hilo dental tratado poseen pequeñas manchas en la superficie de las fibras, las cuales se atribuyen a la presencia del eugenol producto del proceso de impregnación supercrítico.

El análisis térmico por DSC reveló que hubo una pequeña disminución en la cristalinidad del polímero a causa del tratamiento de alta presión, independientemente de los tiempos de impregnación.

La cinética de liberación en aire y en saliva artificial del hilo impregnado se determinó experimentalmente, mientras que los datos de desorción se ajustaron satisfactoriamente mediante el modelo de difusión y los modelos cinéticos de desorción de uno y dos sitios.

Los experimentos de desorción de aire permitieron estimar el coeficiente de difusión aparente de eugenol impregnado en fibras del hilo, lo cual generó información útil para el futuro diseño de materiales activos y la estimación de la vida útil.

Los experimentos de liberación en saliva artificial mostraron que la desorción de eugenol fue muy rápida durante los 10 primeros minutos, seguida de una liberación más controlada, dejando entrever que el comportamiento parece adecuado para la aplicación prevista, ya que se espera que el hilo dental esté solo unos minutos en contacto con la cavidad oral. Adicionalmente, el recubrimiento de cera del hilo post impregnación demostró que retarda hasta tres veces más el proceso de liberación del eugenol en el medio salival, favoreciendo la retención del compuesto activo en el polímero y mejorando la vida útil del producto.

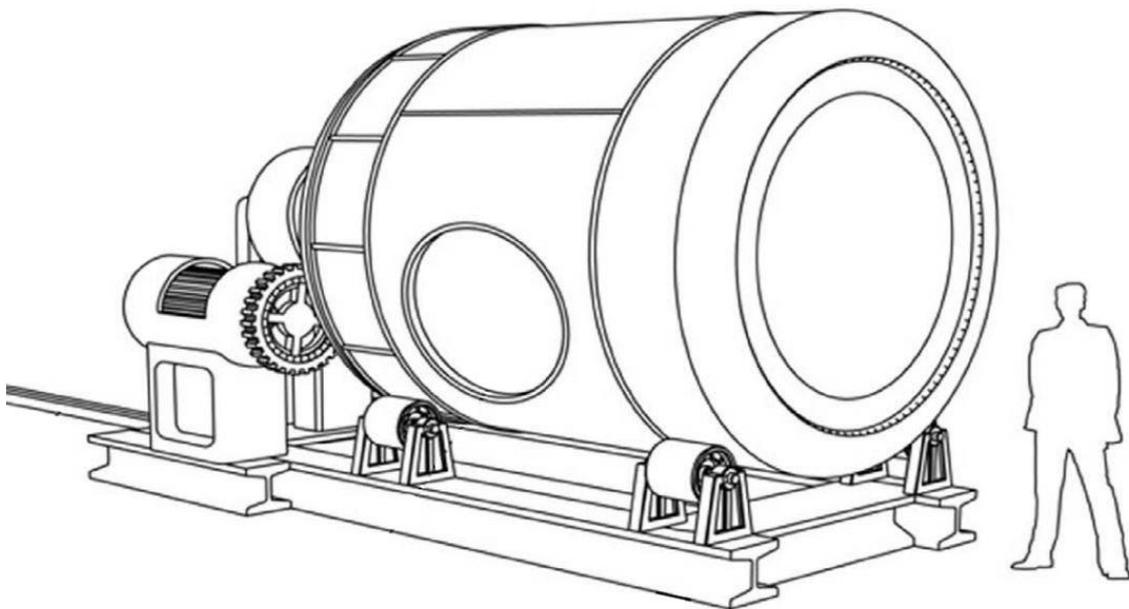
El material impregnado exhibió una alta actividad antibacteriana contra los dos microorganismos seleccionados (*E. coli* y *S. Aureus*) en pruebas estándar preliminares, con una reducción microbiana superior al 99,99% y valores de reducción logarítmica de 4,04 y 4,14, respectivamente.

Con base a estos resultados, la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc aparece como una alternativa adecuada y atractiva para la incorporación de sustancias activas en fibras poliméricas destinadas al uso en hilos dentales y productos afines.

## CAPÍTULO 7

---

### Diseño y dimensionamiento de un proceso de impregnación a escala industrial



## 7. Capítulo 7: Diseño y dimensionamiento de un proceso de impregnación a escala industrial

Como ya se explicó en capítulos anteriores, la técnica de impregnación asistida por CO<sub>2</sub> supercrítico es una tecnología relativamente novedosa que ha surgido como una alternativa para incorporar diferentes compuestos activos en una gran variedad de matrices poliméricas con múltiples aplicaciones. No obstante, aunque es posible encontrar en la literatura numerosos trabajos relacionados con esta tecnología, hasta el momento son escasos los registros de trabajos asociados con el diseño y dimensionamiento de equipos de impregnación a nivel industrial. En este sentido, se pueden mencionar algunos antecedentes de plantas y equipos industriales desarrollados especialmente en el área textil.

Según Bach y col. [250], los primeros equipos de impregnación a nivel industrial aparecieron en el desarrollo industrial textil de Alemania. En 1991, Jasper GmbH & Co. construyeron la primera planta industrial constituida principalmente por un autoclave con capacidad de 67 L para teñido de cuatro bobinas de tela en CO<sub>2</sub> supercrítico. Más adelante, en 1995 Hochdrucktechnik GmbH en colaboración con la Asociación del Noroeste del Centro Alemán de Investigación Textil desarrollaron una planta piloto con un recipiente de alta presión de 30 L para teñido a dos bobinas o rollos de tela [250]. Luego en Japón Howa Co., Ltd. instalaron una planta de teñido con CO<sub>2</sub>-sc con capacidad de 450 L [251]. En Italia (2008), Banchemo y col. [252], lograron instalar una planta piloto (100 L) para teñir bobinas de hilo de poliéster en CO<sub>2</sub>-sc con una capacidad de 5 kg/h y un tiempo de impregnación total aproximado de 1.5 h. De manera similar en china, Masson Group Co., Ltd [253] construyeron un equipo de impregnación de 100 L para el teñido en CO<sub>2</sub> supercrítico con condiciones de operación máxima de 42 MPa y 150 °C. En años más recientes Long y col. [254] diseñaron y construyeron una novedosa planta piloto para el teñido de cuerdas en CO<sub>2</sub>-sc con una unidad principal de impregnación de 180 L y condiciones operativas de trabajo de 30 MPa y 150 °C. Por su parte Zheng y col. [255] construyeron una planta industrial alrededor de dos impregnadores de 500 L para el

teñido con CO<sub>2</sub>-sc de bobinas de hilo. Esta plata fue diseñada para operar en distintas configuraciones de procesamiento y de manera óptima a 120 °C, 24 MPa y 60 min de impregnación.

En la actualidad es posible encontrar a nivel global diferentes empresas dedicadas a la impregnación supercrítica de materiales que aportan soluciones innovadoras en el desarrollo de materiales activos y cuidado del medio ambiente. La Figura 7.1 muestra un ejemplo de un equipo industrial de teñido de telas con CO<sub>2</sub> supercrítico. Los equipos que se observan en dicha imagen son fabricados por Dyecoo.



**Figura 7.1.** Equipo industrial supercrítico para el teñido de telas

Por otro lado, existen empresas como Natex © en Austria, que se dedican al curado y protección de maderas mediante la incorporación de agentes fungicidas y antimoho con CO<sub>2</sub> supercrítico. Este proceso se lleva a cabo a través de equipos de alta presión a escala industrial tal como se refleja en la Figura 7.2.

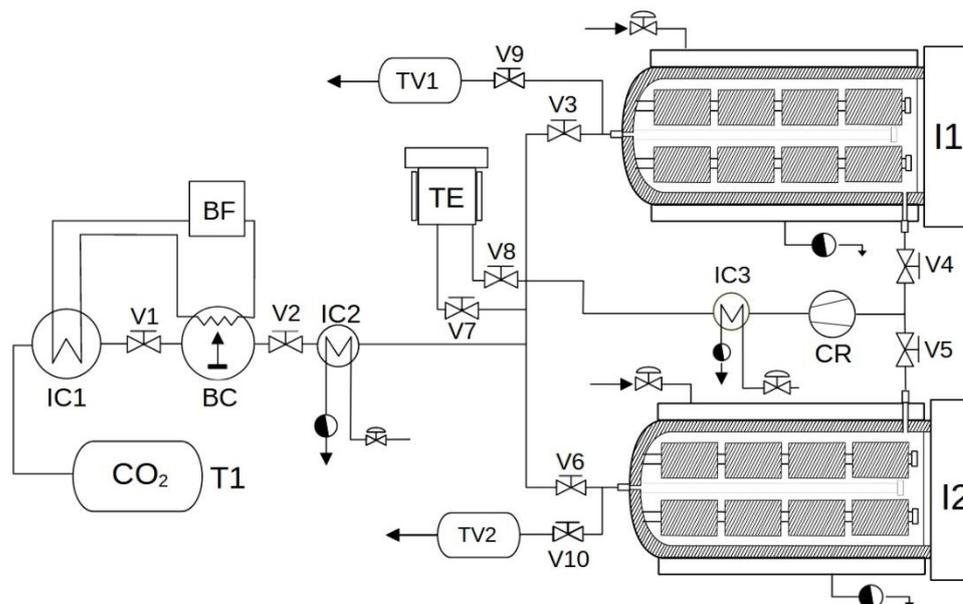


**Figura 7.2.** Impregnación supercrítica de madera a escala industrial.

En base a los antecedentes mencionados, se plantea en este capítulo el diseño y dimensionamiento de una planta industrial para la impregnación con eugenol de bobinas de hilo de PA6 utilizando  $\text{CO}_2$  supercrítico a partir de los datos de eficiencia impregnación y parámetros difusivos del hilo impregnado con eugenol presentados en el capítulo 5. En este capítulo se pretende conceptualizar de manera detallada un proceso general de impregnación junto con sus configuraciones y procedimientos operativos. Adicionalmente se desarrollará el diseño de la bobina y del equipo impregnador y también sus principales requerimientos de masa y energía.

### **7.1 Sistema de la planta de impregnación con $\text{CO}_2$ supercrítico para bobinas de hilo dental**

El esquema simplificado del sistema de impregnación de eugenol en bobinas de hilo de PA6 con  $\text{CO}_2$  supercrítico a escala industrial se ilustra en la Figura 7.3. El sistema propuesto está compuesto principalmente por dos tanques de impregnación (I1 y I2) tipo autoclave con una capacidad de  $1.44 \text{ m}^3$  cada uno para contener 12 bobinas de hilo de 18 kg. Estos tanques de impregnación pueden operar hasta 180 MPa y disponen de una camisa calefactora tipo intercambiador de calor que trabaja con agua hasta una temperatura máxima de  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ .



**Figura 7.3.** Diagrama esquemático de la planta a escala industrial para la impregnación de bobinas de hilo de PA6 con eugenol en CO<sub>2</sub> supercrítico. (V) electroválvulas; (T1) tanque de almacenamiento de CO<sub>2</sub>; (IC) Intercambiador de calor; (BF) baño criogénico; (BC) bomba de compresión; (TE) tanque de eugenol; (CR) bomba de recirculación; (TI) tanque de impregnación; (TV) Tanque de venteo.

Los impregnadores están alimentados por un tanque principal de CO<sub>2</sub> (T1) de 1500 kg el cual se encuentra almacenado a temperatura ambiente y una presión entre 5 – 6 MPa. Para mantener el CO<sub>2</sub> en estado líquido, facilitar el bombeo y evitar problemas de cavitación, la línea de alimentación es enfriada aproximadamente a unos 10 °C por un intercambiador de calor (IC1) que está conectado a un baño criogénico (BF). La bomba de compresión (BC) también se enfría con el mismo fluido que circula desde BC hasta IC1. El CO<sub>2</sub> comprimido fluye hacia el intercambiador de calor (IC2) donde alcanza la temperatura de trabajo, luego pasa por el tanque de eugenol (TE) para solubilizar el compuesto activo y llegar a cualquiera de los dos tanques impregnadores. La circulación entre los tanques de impregnación y TE es llevada a cabo por un compresor de recirculación (CR) que dispone de un intercambiador de calor (IC3) a la salida, el cual solo se activa cuando la mezcla supercrítica se trasfiere de un impregnador a otro. La cantidad de mezcla supercrítica que no se alcanza a transferir entre un tanque de impregnación y otro, es descargado a través de los tanques de venteo (TV1 y TV2) para cada caso.

Para mayor claridad, el procedimiento se puede explicar de manera resumida en los siguientes pasos.

Dado que el sistema cuenta con dos tanques de impregnación que funcionan de manera alterna, el siguiente procedimiento se explicará para la carga inicial del primer impregnador I1.

**1. Alimentación.** Durante el primer paso, V4, V5, V6, V7, V8, V9 y V10 se encuentran cerradas. El CO<sub>2</sub> proveniente del T1 es propiamente comprimido y calentado; luego es bombeado hacia el impregnador I1 hasta que alcanza la presión de trabajo deseada.

**2. Calentamiento.** Durante este paso, las válvulas V1, V2, V5, V6, V7, V8, V9 y V10 se encuentran cerradas. El sistema de calentamiento de I1 es encendido, mientras la bomba de recirculación proporciona la circulación del fluido hasta alcanzar la temperatura de operación deseada. En esta etapa, el tanque de eugenol se encuentra excluido de la circulación del CO<sub>2</sub>.

**3. Impregnación.** En este paso, las válvulas V1, V2, V5, V6, V9 y V10 permanecen cerradas. A continuación, las V7 y V8 se abren para incluir el TE dentro de la línea de recirculación; de esta manera, el compuesto activo entra en contacto con las bobinas de hilo y empieza el proceso de impregnación supercrítico. Durante esta fase, el proceso de recirculación del fluido supercrítico permitirá una mayor distribución y transferencia de masa del eugenol hacia las fibras del hilo.

**4. Descarga.** Transcurrido el tiempo de impregnación (2 h aprox.), la bomba de recirculación es apagada y las válvulas V1, V2, V3, V6, V7, V8, V9 y V10 se mantienen cerradas. Después, se abre la válvula V5 y a continuación, la válvula V4 se abre cuidadosamente hasta alcanzar la velocidad de despresurización preestablecida (0.5 MPa/min). De este modo, el fluido es transportado del primer tanque al segundo por simple diferencia de presión. Cuando los dos impregnadores alcanzan la presión de equilibrio, V5 se cierra y CR se activa junto con IC3, seguidamente V6 se abre para permitir el bombeo a 0.5 MPa/min de la mezcla CO<sub>2</sub>/eugenol remanente proveniente de I1 hacia el I2. Cuando se está próximo a llegar a la presión atmosférica (0.5 MPa), CR se detiene y tanto V4 como V6 son cerradas. Finalmente, el I1 es descomprimido lentamente a través de la apertura V9 y TV1 hasta alcanzar la presión atmosférica. Por último, la tapa principal

de I1 es abierta y se procede a la descarga del material impregnado para su posterior embalaje.

5. *Presurización de TI2*: Luego de la descarga de TI2 todas las válvulas se encuentran cerradas. A continuación, se las válvulas V1, V2 y V6 son abiertas para permitir el flujo de CO<sub>2</sub> de reposición hacia I2. Este procedimiento se realiza de la misma forma que en el paso 1. Luego, se repiten los pasos 2, 3 y 4 con los respectivos manejos de válvula en cada paso.

## 7.2 Diseño y dimensionamiento del equipo impregnador

### 7.2.1 Diseño y dimensionamiento de las bobinas de PA6

El dimensionamiento de las bobinas se realizó con base a las bobinas comerciales que actualmente se ofrecen en el mercado. La Figura 7.4 muestra un ejemplo de bobinas de hilo de PA6 comercial.



**Figura 7.4.** Bobinas de hilo de PA6 comercial

Para los requerimientos del equipo impregnador, la bobina que se propone básicamente es un carrete de hilo de PA6 comercial enrollado sobre una base metálica con perforaciones para la circulación de la mezcla supercrítica. El diámetro interno del carrete es ligeramente superior al tubo sujetador de bobinas del impregnador, esto facilita el deslizamiento de las bobinas hacia el interior de los tubos. Por otro lado, se estableció una longitud del carrete suficiente tal que permita el enrollado del hilo, así como una separación predeterminada entre las bobinas. La Tabla 7.1 resume las dimensiones y características principales de la bobina, la Figura 7.5 muestra las dimensiones y características de la bobina de hilo de PA6, mientras que la Figura 7.6 ilustra la configuración de las bobinas en el interior del impregnador.

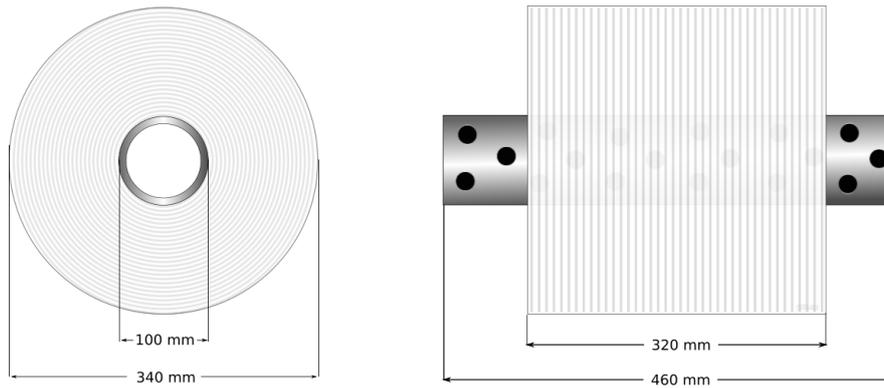


Figura 7.5. Dimensión de la bobina de hilo de PA6



Figura 7.6. Configuración de bobinas insertadas al interior del impregnador

### 7.2.1.1 Cálculo de las dimensiones de la bobina

Para el cálculo de las dimensiones de la bobina, se tendrán en cuenta las siguientes consideraciones:

- ✓ Factor  $f$ : Tiene en cuenta el espacio entre los hilos enrollados de la bobina y tiene un valor  $f=0.7$ .
- ✓ Masa del hilo: Como referencia se tomará el dato de este estudio que corresponde a  $m_h = 87 \text{ mg/m}$  o  $8.7 \times 10^{-5} \text{ kg/m}$
- ✓ Densidad del hilo:  $\rho=1.4 \text{ kg/l}$ .
- ✓ Espesor de los soportes de la bobina: se propone un tubo de acero inoxidable hueco 30% agujereado de 5 mm de espesor con un diámetro externo  $D_e=90\text{mm}$  y  $D_i=80\text{mm}$ .

$$\text{Volumen de la bobina: } V = \pi L f (r_e^2 - r_i^2) = \pi \cdot 320 \cdot 0.7 (170^2 - 50^2) \approx 18.6 \text{ l}$$

$$\text{Masa de la bobina: } M_b = V \rho = 1.4 \frac{\text{kg}}{\text{l}} \times 18.6 \text{ l} = 26 \text{ kg}$$

$$\text{Longitud del hilo: } L = \frac{m_h}{M} = \frac{26 \text{ kg}}{8.7 \times 10^{-5} \frac{\text{kg}}{\text{m}}} = 299413 \text{ m}$$

$$\text{Masa del tubo de soporte: } P_1 = \frac{0.5\rho\pi L}{4}(D_e^2 - D_i^2) = \frac{0.5 \cdot 0.008 \cdot \pi \cdot 168}{4}(9^2 - 8^2) = 44.33 \text{ kg}$$

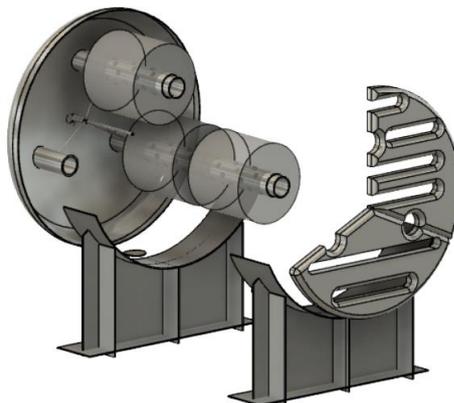
$$\text{Volumen del tubo de soporte: } V_{ts} = \frac{\pi \cdot 168}{4}(9^2 - 8^2) = 0.82 \text{ l}$$

**Tabla 7.1.** Dimensiones de la bobina de hilo de PA6

Propiedad	Especificación
Longitud bobina	320 mm
Diámetro externo	340 mm
Diámetro interno	100
Volumen	18.6 l
Masa	26 kg
Longitud de hilo (m)	299413 m
Peso del tubo soporte	44.33 kg

### 7.2.2 Diseño del recipiente de alta presión

Este equipo consiste en un tanque cilíndrico horizontal de acero inoxidable con un fondo ovalado en forma toriesférica y una tapa plana para el cierre. El ingreso del fluido supercrítico se llevará a cabo a través de un tubo de acero inoxidable de 1" (25.4mm) de diámetro nominal que se encuentra conectado a un orificio en el centro de la parte posterior del tanque (cabezal toriesférico), mientras que el flujo de salida se producirá por un tubo de igual característica conectado en la parte lateral del cuerpo del tanque. En la parte interior del tanque (Figura 7.7), se encuentran insertados en el fondo 3 tubos huecos en un arreglo triangular (120°C entre sí) y equidistantes con respecto al centro del equipo, los cuales funcionan como barras de soporte para las bobinas de PA6. Adicionalmente, la entrada de fluido interior dispone de un cabezal difusor que distribuye de manera uniforme la mezcla supercrítica circulante.



**Figura 7.7.** Esquema interior del equipo impregnador

Este equipo está diseñado para contener 3 ejes con 4 bobinas de hilo en su interior soportados por una rejilla en el extremo opuesto, cerca de la tapa principal.

Con este diseño se procura que el proceso impregnación del compuesto activo se realice en todas las direcciones durante el tiempo de operación, de ahí que el equipo en general cuenta con un sistema de recirculación de la mezcla supercrítica, lo cual garantiza un movimiento constante del fluido en el interior del recipiente. Esto a su vez facilita la penetración de la mezcla supercrítica a través las bobinas y favorece la transferencia de masa del eugenol hacia las fibras de PA6. De la misma forma, los tubos huecos que soportan a las bobinas poseen perforaciones que permiten también la circulación de la mezcla  $\text{CO}_2$ /eugenol a través de las bobinas desde el centro hacia afuera.

### **7.2.3 Condiciones para el diseño del recipiente**

El diseño en general del equipo impregnador se lleva a cabo bajo el código *ASME Boiler and Pressure Vessel Code* [256] sección VIII. Este código proporciona las pautas para la construcción de recipientes a presión que funcionan dentro del rango de 0,1 MPa a 20 MPa.

#### **7.2.3.1 Presión de diseño**

La presión de operación queda definida por la presión máxima requerida en el recipiente para el proceso de impregnación, la cual es de 12 MPa.

De acuerdo con el Código ASME, este tipo de recipientes debe estar diseñado para operar en condiciones extremas de presión y temperatura. Además, estas condiciones tampoco

pueden exceder los límites y especificaciones de los materiales de construcción. A continuación, se establecen algunas consideraciones y criterios de diseño.

Según el código ASME, para este tipo de recipientes, se debe considerar una presión de diseño ( $P_d$ ) para cálculo dimensional de las distintas partes del recipiente, la cual debe ser superior a la presión máxima de operación ( $P_0$ ) (12 MPa), por lo tanto, en la siguiente expresión se tienen que:

$$P_d > 1.1P_0 \quad (7.1)$$

Donde 1.1 es el factor de sobredimensionamiento. En particular, para este diseño se busca que el rango de seguridad y operación del equipo sea superior, por ello, y para otorgarle mayor flexibilidad, se propone que el factor de seguridad para este proyecto sea de 1.5, equivalente a una  $P_d$  igual a **18 MPa**.

#### 7.2.3.2 Temperatura de operación

El rango de temperatura de operación se determina mediante los siguientes factores:

- *Lugar de instalación*: Para fines prácticos se tomará como referencia la instalación de una planta industrial ubicada en la provincia de Córdoba, Argentina. De acuerdo con los datos estadísticos proporcionados por el Servicio Meteorológico Nacional, las temperaturas van desde los  $-8^\circ\text{C}$  a los  $43^\circ\text{C}$  en valores pico.
- *Condiciones ambientales*: el recipiente a presión estará funcionando dentro de un espacio cerrado con lo cual se evitarán grandes fluctuaciones de la temperatura durante el proceso de impregnación supercrítico.
- *Proceso de impregnación supercrítico*: De acuerdo con los datos experimentales (capítulos 5), la temperatura de operación para este proceso es de  $60^\circ\text{C}$ .

Con base a lo anterior se especifica un rango de temperatura de operación del recipiente de  $-10$  a  $70^\circ\text{C}$ .

#### 7.2.3.3 Selección del material

La selección del material se hizo con base a factores como el proceso de fabricación, temperatura operativa, presión operativa, cargas actuantes, propiedades químicas y físicas, costos y disponibilidad en el mercado. En este sentido, el material que mejor se adapta a los requerimientos del presente diseño es el **acero inoxidable 304** que se caracteriza por ser un material fácil de limpiar, duro, elástico, resistente al desgaste, a

temperaturas extremas y a la oxidación. Adicionalmente, la selección de este material permite simplificar algunos factores de diseño, como el tratamiento térmico y espesor por corrosión, los cuales serán desestimados en este ejercicio. La Tabla 7.2 detalla las propiedades mecánicas del acero 304 enunciadas en la Sección II parte D del Código [256]

**Tabla 7.2.** Propiedades mecánicas del acero inoxidable 304

Acero	Tensión de rotura $R_T$ mín. (MPa)	Tensión de fluencia $R_{0,2}$ mín. (MPa)	Alargamiento ( $L_0=50\text{mm}$ )	Tensión admisible (MPa)
304	350 - 620	310	57	460

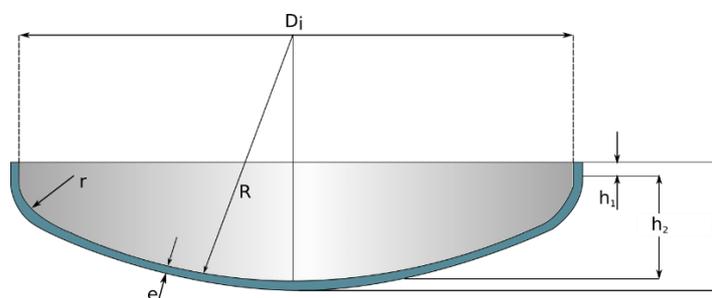
Las características especificadas en la Tabla 7.2 corresponden a las propiedades del material disponible en el mercado.

#### 7.2.3.4 Capacidad del recipiente

El volumen del recipiente se determinó en función de la cantidad, dimensión y distribución de las bobinas de hilo a impregnar durante cada lote de procesamiento. En consecuencia, para estos requerimientos se propone un cilindro de **1680 mm** de longitud y **1000 mm de diámetro** interior para contener 3 soportes con 4 bobinas cada uno tal como se explicó en la sección anterior. Con estos datos, se procede a calcular la geometría del recipiente.

$$\text{Volumen del cuerpo: } V_{cil} = \pi r^2 l = \pi(500\text{mm})^2 \cdot 1522.3 \text{ mm} = 1295.61 \text{ L}$$

*Volumen del cabezal de cierre:* Para este recipiente se selección un cabezal de cierre tipo toriesférico cuya geometría se muestra en la Figura 7.8.



**Figura 7.8.** Cabezal toriesférico.

El volumen de un cabezal toriesférico se puede calcular mediante la siguiente ecuación con  $\pm 0,1\%$  de error:

$$V_{c1} = 0,0809D^3 = 0,0809(1000 \text{ mm})^3 = 80.90l$$

$$h_1 = \frac{D_i}{12} = 83 \text{ mm}$$

$$h_2 = 0.1935D_i = 193.5 \text{ mm}$$

$$V_2 = \frac{\pi D_i^2 h_1}{4} = \frac{\pi \cdot 1000^2 \cdot 83}{4} = 65 \text{ l}$$

$$V_{ct} = 80.9 + 65 = 145.9 \text{ l}$$

$$L = 0.9D = 0,9(1000) = 900 \text{ mm}; r = 0.085L = 0.085(1000) = 76 \text{ mm}$$

$$\frac{L}{r} = \frac{900 \text{ mm}}{76 \text{ mm}} = 11.84$$

Volumen total del recipiente:

$$V_{rec} = V_{ct} + V_{cil} = 145.9 \text{ l} + 1295.61 \text{ l} \approx 1442 \text{ l}$$

La Tabla 7.3 resume las especificaciones más importantes para el diseño.

**Tabla 7.3.** Resumen de las especificaciones de diseño.

Propiedad	Especificación
Código del diseño	Código ASME, Sección VIII, División 1
Presión de trabajo	12 MPa
Presión de diseño	18 MPa
Temperatura de trabajo	60 °C
Tipo de cabezal de cubierta	Toriesférico
Eficiencia de juntas del cuerpo cilíndrico	
Eficiencia de juntas del cabezal	0.85
Eficiencia de juntas de la tapa	
Material del cuerpo cilíndrico	
Material del cuerpo cilíndrico	inoxidable 304
Material de la tapa	
tensión máxima admisible	460 MPa
Diámetro interior del cilindro	1000 mm
Longitud interna del recipiente	1873.5 mm
Radio esférico interno	900 mm
Capacidad del recipiente	1441.51 l

## 7.2.4 Cálculo de espesores por presión interna

### 7.2.4.1 Cálculo del espesor del cuerpo

Para el estudio de esfuerzos, a este tipo de cuerpos se los considera como cilindros de pared delgada, en donde los esfuerzos tangenciales o circunferenciales ( $\sigma_c$ ) son el doble de los esfuerzos longitudinales ( $\sigma_L$ ). Estos esfuerzos actúan sobre un elemento diferencial del cuerpo del tanque en las direcciones específicas, así y como se ilustra en la Figura 7.9.

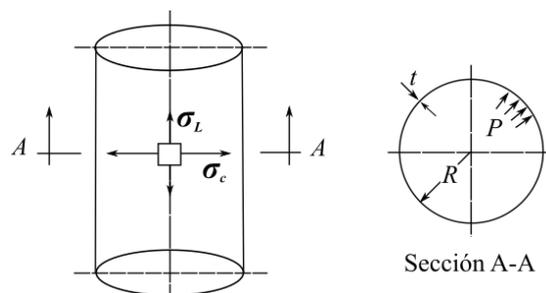


Figura 7.9. Tensiones en un cuerpo cilíndrico sometido a presión

El espesor mínimo de la pared sometida a esfuerzos tangenciales se puede calcular a partir del valor del radio interno  $R$  de acuerdo con la siguiente expresión:

$$t = \frac{P_d \cdot R}{S \cdot E_s - 0,6 \cdot P_d} \quad (7.2)$$

Donde:  $t$  espesor mínimo requerido;  $P_d$ : Presión de diseño;  $S$ (Mpa): Tensión máxima admisible del material;  $E_s$ : Eficiencia de soldadura.

**Consideraciones:** Según el código ASME existen 3 eficiencias de soldadura para recipientes a presión (0.7, 0.85 y 1). Para este proyecto, se optó por la soldadura tipo 0.85 que es muy resistente y se adapta a las necesidades del impregnador. Reemplazando los valores en la ecuación 7.2 se tiene que:

$$t = \frac{18 \text{ MPa} \cdot 500 \text{ mm}}{460 \text{ MPa} \cdot 0.85 - 0.6 \cdot 18 \text{ MPa}} \approx 24 \text{ mm}$$

### 7.2.4.2 Cálculo del espesor del cabezal de cierre

La mayoría de los cabezales de cierre usados son curvados para resistir la presión, reducir el grosor y a su vez los costos de producción. Hay muchos tipos de cabezales de cierre y el más utilizado es el cabezal toriesférico.

El cálculo de tensión para un cabezal toriesférico se determina mediante la siguiente ecuación:

$$t = \frac{0.885 \cdot P_d \cdot R}{SE_s - 0.1 \cdot P_d} \quad (7.3)$$

Los parámetros de esta expresión son similares a la ecuación 7.2. Sin embargo, para este caso  $R$  representa el radio de abombado.

$$t = \frac{0.885 \cdot 18MPa \cdot 1000 \text{ mm}}{460 MPa \cdot 0.85 - 0.1 \cdot 18MPa} \approx 41 \text{ mm}$$

### 7.2.4.3 Cálculo del espesor de la tapa

En secciones anteriores se mencionó que el tipo de cierre principal para el recipiente corresponde a una tapa plana, por lo tanto, en esta sección se determinará el espesor mínimo requerido por la tapa para soportar los esfuerzos de tensión a la cual estará sometida. La Figura 7.10 ilustra las características del modelo de tapa y su tipo de cierre.

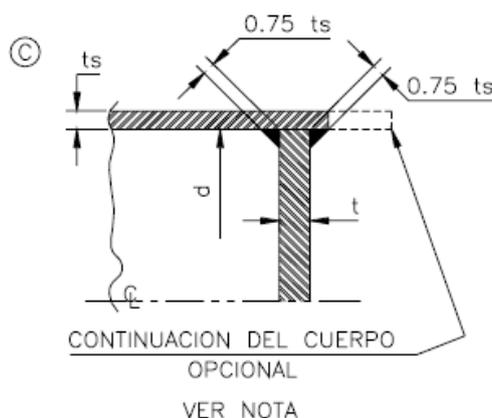


Figura 7.10. Tipo de unión de la tapa plana

El código ASME establece la siguiente expresión para el cálculo del espesor requerido por la tapa:

$$t = d \sqrt{\frac{C' \cdot P_d}{S \cdot E_s}} \quad (7.4)$$

Donde:  $d$  es el diámetro interno del cilindro y  $C'$  es una constante adimensional que depende de la forma de unión entre la tapa y el cilindro. Por tanto, el espesor de la tapa es el siguiente:

$$t = 500mm \sqrt{\frac{0.33 \cdot 18 MPa}{460MPa \cdot 0.85}} \approx 62 \text{ mm}$$

### 7.2.4.4 Tapa de cierre del impregnador

El impregnador contará con una tapa plana de 62 mm de espesor con un cierre “tipo centinela” como se describe en el mercado. Este tipo de cierre consiste en un anillo de bloque simple que se desliza dentro de una ranura mecanizada en la brida exterior o cubo. Cuando el anillo se expande a la posición cerrada, se genera un bloqueo de la tapa de forma segura. Según R&M Energy System [257], este tipo de cierres se recomienda para equipos donde el diámetro de tapa se encuentra entre las 10” y 72” (254 mm a 1829 mm) y para presiones de trabajo hasta 25 MPa; en la Figura 7.11 se ilustra un esquema de la tapa para el tanque impregnador.

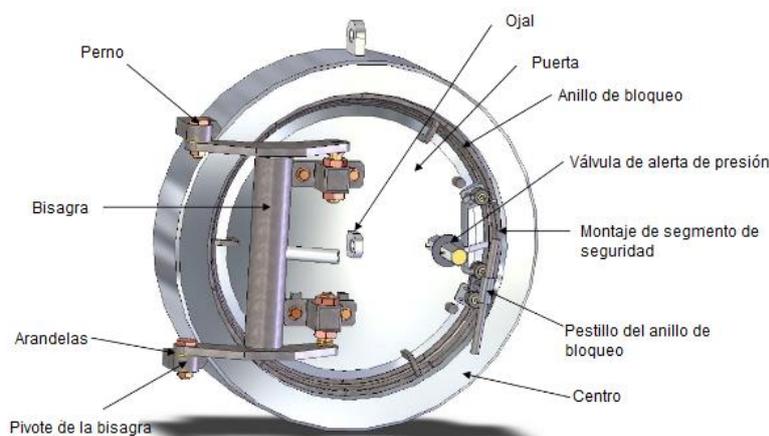
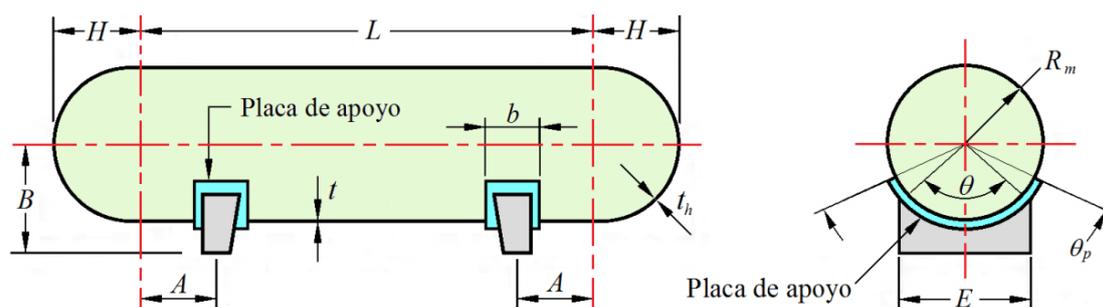


Figura 7.11. Tapa centinela para el tanque impregnador

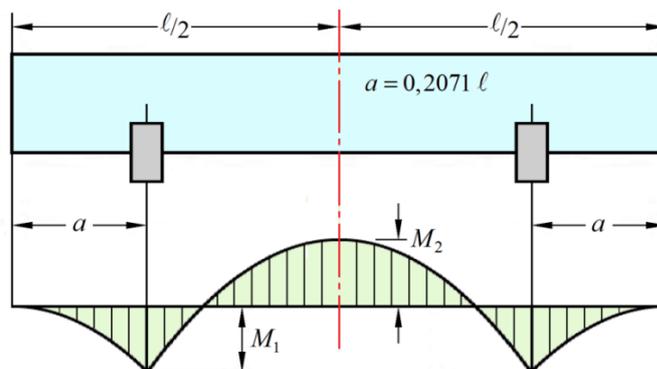
### 7.2.5 Ubicación óptima del soporte del recipiente

Según el código ASME, para el caso de recipientes horizontales, se debe estudiar detalladamente la forma de apoyarlos, siendo prácticamente habitual utilizar dos soportes tipo montura, según lo indicado en la Figura 7.12



**Figura 7.12.** Esquema de un recipiente a presión horizontal con apoyos tipo montura.

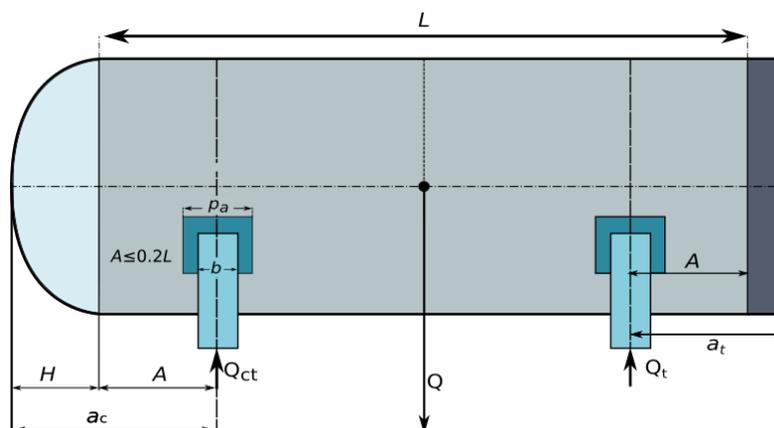
Para recipientes largos y de espesores relativamente grandes, la ubicación óptima es aquella donde la tensión longitudinal debida a los pesos en los soportes es similar a la existente en el centro del recipiente, es decir cuando los momentos  $M_1$  y  $M_2$  indicados en la Figura 7.12 son iguales (eso ocurre cuando  $a = 0,2071 \ell$ ).



**Figura 7.13.** Ubicación óptima de los soportes en un recipiente a presión horizontal largo.

En la Figura 7.13, se muestra un esquema que considera cabezales planos. En el caso para el cabezal el término “a” se está definido por dos distancias  $A$  y  $H$  (ver Figura 7.12 y 7.14). Por lo tanto,  $A$  es la distancia entre la unión y el cabezal y el centro del soporte y  $H$  es la altura del cabezal medida a partir de la soldadura de la unión.

En el código ASME especifica que, para el caso de un recipiente apoyado en silletas, su comportamiento es similar al de una viga apoyada. Asimismo, se recomienda que, para recipientes grandes, el ángulo de contacto ( $\theta$ ) sea mínimo de  $120^\circ$ , y como valor máximo  $180^\circ$ . Adicionalmente, la parte del voladizo no debe ser mayor al 20 % de la longitud total de la parte cilíndrica. De acuerdo con lo anterior, se opta por un ángulo contacto para los apoyos de  $120^\circ$ . En términos generales, la distribución de los soportes para el recipiente de presión estaría organizado en forma similar a la Figura 7.14:



**Figura 7.14.** Recipiente de presión horizontal con cabezal torisférico, tapa plana y distribución de soportes tipo montura.

Teniendo en cuenta que el recipiente está compuesto por tres partes principales (cabezal de cierre, cuerpo y tapa), se procede a determinar el centro de gravedad del recipiente, mediante el cálculo de cada una de las tensiones ( $Q$ ) que ejercen dichas partes principales del recipiente.

Para el cálculo de las tensiones y parámetros del recipiente, se hace necesario las siguientes consideraciones:

- ✓ Según Stikvoort [258], cada soporte debe extenderse al menos  $120^\circ$  alrededor del tanque y aproximadamente  $b = \sqrt{30 \times D_e}$  a lo largo del recipiente para transmitir la reacción gradualmente a la pared de la carcasa.
- ✓ Según Zick [259], el ancho de la placa de apoyo para el soporte debe ser  $p_a = b + 1.56 \sqrt{rt}$  donde  $r$  es el radio del cilindro y  $t$  el espesor. Además, el espesor debe ser máximo el doble que el del cilindro.
- ✓ Densidad del acero inoxidable:  $8000 \text{ kg/m}^3$
- ✓ Densidad del agua:  $1000 \text{ kg/m}^3$
- ✓ Gravedad:  $9.8 \text{ m/s}^2$
- ✓ Camisa calefactora: El cuerpo principal estará rodeado por una camisa hueca que funciona como intercambiador de calor cuyo fluido de intercambio será agua. El espacio interno será de  $E_i=94 \text{ mm}$  y la carcasa de acero inoxidable de  $3 \text{ mm}$ .

**Estimación de las reacciones de apoyo Q**

Datos del cilindro:

- Diámetro externo:  $D_i = 1000 \text{ mm}$ ;  $D_e = D_i + 2t = 1000 + 2(24) = 1048 \text{ mm}$
- Masa del cilindro:  $M_c = \frac{\rho\pi L}{4}(D_e^2 - D_i^2) = \frac{0.008 \cdot \pi \cdot 168}{4}(104.8^2 - 100^2) \approx 1037 \text{ kg}$

Datos del cabezal

- Diámetro externo:  $D_i = 1000 \text{ mm}$ ;  $D_e = D_i + t = 1000 + 41 = 1041 \text{ mm}$
- Altura cabezal:  $H = 0.194D_i + h_1 + e = (0.194 \cdot 1000) + 83 + 41 = 318 \text{ mm}$
- Masa del cabezal sin altura:  $M_{ct1} = \frac{\rho\pi}{12}(D_e^3 - D_i^3) = \frac{0.008 \cdot \pi}{12}(104.1^3 - 100^3) \approx 268. \text{ kg}$
- Masa cilíndrica del cabezal:  $M_{ct2} = \frac{\rho\pi h_1}{4}(D_e^2 - D_i^2) = \frac{0.008 \cdot \pi \cdot 8.3}{4}(104.1^2 - 100^2) \approx 44 \text{ kg}$
- Masa total del cabezal:  $M_{ct} = 268 + 44 = 312 \text{ kg}$

Datos de la camisa calefacción:

- Diámetro externo:  $D_i = 1044 \text{ mm}$ ;  $D_e = D_i + 2E_i = 1000 + 97 = 1194 \text{ mm}$
- Masa de la carcasa:  $M_c = \frac{\rho\pi L}{4}(D_e^2 - D_i^2) = \frac{0.008 \cdot \pi \cdot 168}{4}(1200^2 - 1194^2) \approx 152 \text{ kg}$
- Masa de agua:  $M_c = \frac{\rho_{H_2O}\pi L}{4}(D_e^2 - D_i^2) = \frac{1 \cdot \pi \cdot 168}{4}(1194^2 - 1044^2) \approx 430 \text{ kg}$
- Masa de la tapa:  $M_t = \pi r^2 t \rho = \pi \cdot 52.4^2 \cdot 6.2 \cdot 0.008 \approx 428 \text{ kg}$
- Masa de la rejilla soporte:  $M_r = 0.5 \cdot \pi r^2 t = 0.5 \cdot \pi \cdot 50 \cdot 2 \cdot 0.008 = 12.5 \text{ kg}$
- Longitud total del equipo:  $L_t = 318 + 1680 + 62 = 2060 \text{ mm}$
- Volumen libre del equipo:  $V_{libre} = V_{rec} - V_{bob} - V_{st} = 1442 - 223 = 1218 \text{ l}$

**Característica y distribución de los soportes:**

- Término A:  $A \leq 0.2L = 0.2 \cdot 1680 = 333 \text{ mm}$
- Distancia soporte cabezal:  $a_c = A + h = 333 + 318 = 651 \text{ mm}$
- Distancia soporte cabezal:  $a_t = A + h = 333 + 61 = 394 \text{ mm}$
- Anchura del soporte:  $b = \sqrt{30 \times 1048} \approx 180 \text{ mm}$
- Anchura de la placa de apoyo:  $p_a = 180 + 1.56 \sqrt{524 \cdot 24} \approx 355 \text{ mm}$

En la tabla 7.4 se muestra las distribuciones de los pesos ejercidos por las distintas partes del recipiente de presión junto con los accesorios.

**Tabla 7.4.** distribución de los pesos de las partes del recipiente.

Tención	Sección	Tramo (m)	Masa (kg)	Peso (N)
$Q_{ct}$	Cabezal	0.631	312	3058
	Cilindro		1037	
	Bobinas		312	
$Q_c$	Carcasa Intercambiador de Q	1.68	152	20222
	Agua del Intercambiador de. Q		430	
	Soportes		132.4	
$Q_{ta}$	Tapa	0.394	428	43167
	Rejilla		12.5	
Total			2816	$Q_T = 27596$

*Cálculo del centro de gravedad*

$$X_{CG} = \frac{a_c Q_{ct} + L Q_c + a_t Q_{ta}}{Q_T} = \frac{3058 \cdot 0.631 + 20222 \cdot 1.68 + 4317 \cdot 0.394}{27596} = 1.34 \text{ m}$$

Dado que la longitud total del recipiente es 2.060m, se puede apreciar que el centro de gravedad se encuentra ligeramente desplazado hacia la parte de la tapa.

Por último, siguiendo las recomendaciones de Zick y el código ASME, se hizo una verificación de las tensiones internas del equipo mediante el análisis de los esfuerzos que el equipo podría estar sometido durante su funcionamiento. Por consiguiente, las tensiones longitudinales por flexión, corte y circunferencial las cuales se resumen en Tabla 7.5.

**Tabla 7.5.** Tensiones del recipiente de presión

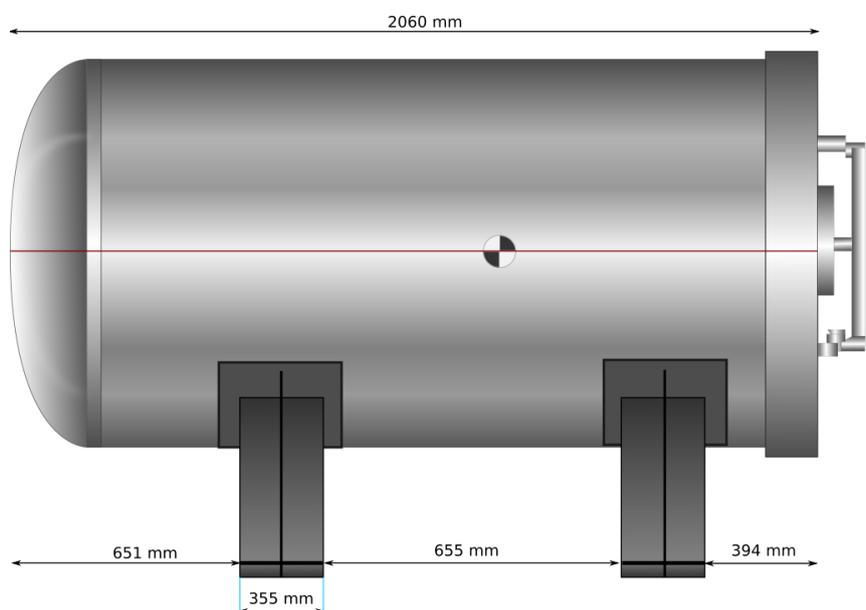
Tensión		Valor (MPa)
Longitudinal por flexión	$\sigma_s$	0.037
	$\sigma_p$	0.088
Longitudinal	$\sigma_L$	186.3
De corte	$\sigma_{Co}$	14.86
	$\sigma_{c1}$	-0.19
Circunferencial	$\sigma_{c2}$	-0.45
	$\sigma_{c3}$	379

Los valores de las tensiones calculadas se encuentran dentro de los valores que recomienda el código, por tanto, las dimensiones y características del equipo diseñado cumplen con las condiciones de seguridad para su funcionamiento.

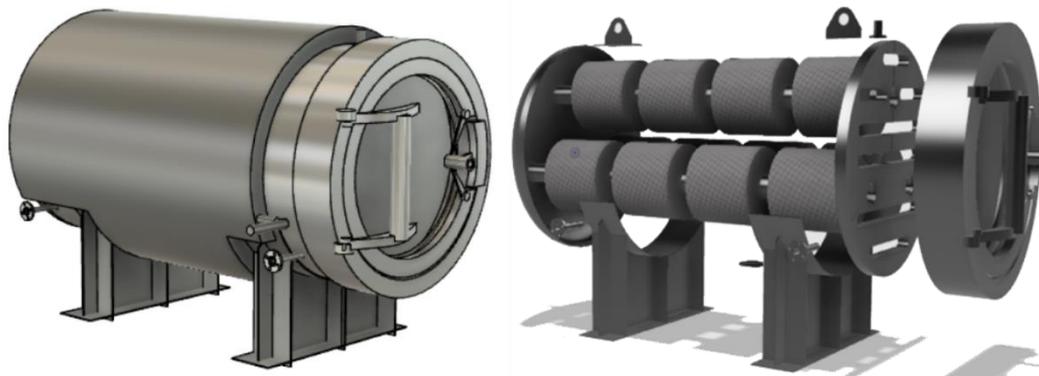
De acuerdo con los datos obtenidos en este apartado, en la Tabla 7.6 se resumen los principales parámetros del recipiente, mientras que en la Figura 7.14 muestra las dimensiones del equipo y en la Figura 7.15 las características generales del equipo consolidado.

**Tabla 7.6.** Resumen de datos del recipiente

Propiedad	Especificación
Presión de trabajo	12 MPa
Presión de diseño	18 MPa
Temperatura de trabajo	60 °C
Material del equipo	Acero inoxidable 304
Tipo de cabezal	Toriesférico
Tipo de tapa	Plana con cierre tipo centinela
Diámetro interior	1000 mm
Longitud del impregnador	2060 mm
Capacidad del impregnador	1442 l
Volumen libre	1218 l
Peso del equipo	2816 kg
Longitud entre soportes	655 mm



**Figura 7.15.** Dimensiones del equipo impregnador.



**Figura 7.16.** Características generales del equipo impregnador.

### 7.3 Requerimientos de masa y energía

En secciones anteriores se planteó el sistema general de la planta de impregnación supercrítica, así como el dimensionamiento del equipo impregnador a escala industrial. Sin embargo, con el fin de cerrar el círculo del proceso y definir las condiciones mínimas de su funcionamiento. A continuación, se determina la cantidad de materia prima necesaria de los principales componentes del proceso de impregnación, así como los requerimientos energéticos de los principales equipos.

#### 7.3.1 Masa de $\text{CO}_2$ y eugenol para el proceso de impregnación supercrítico

##### 7.3.1.1 Masa de $\text{CO}_2$ inicial

Para el cálculo de la masa inicial se dispone de la siguiente información resumida en la tabla 7.6.

**Tabla 7.6.** Condiciones operativas y datos de interés para el cálculo.

Dato	Valor
Presión de operación	12 MPa
Temperatura de operación	60 °C
Volumen libre interno del equipo	1218 l
Densidad del $\text{CO}_2$ (a 12 MPa y 60 °C)	434.43 kg/m <sup>3</sup> (según NIST)
Fracción molar de eugenol en la fase fluida ( $X_E$ )	0.0015
Fracción molar de $\text{CO}_2$ en la fase fluida ( $X_{\text{CO}_2}$ )	0.9985
Fracción másica de eugenol en la fase fluida ( $Y_E$ )	0.0056
Fracción másica de $\text{CO}_2$ en la fase fluida ( $Y_{\text{CO}_2}$ )	0.9944

Teniendo en cuenta los datos anteriores, se tiene que la masa inicial de CO<sub>2</sub> es:

$$\text{Masa inicial de CO}_2: MI_{CO_2} = 434.43 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \times 1,218 \text{ m}^3 = 529.13 \text{ kg}$$

Para fines prácticos en este ejercicio, se estima que la masa extra de la mezcla supercrítica que ocupa las tuberías es aproximadamente un 10% respecto de la masa contenida en el impregnador. Por lo tanto es:

$$\text{Masa de fluido en tuberías: } M_{Tub} = 529.13 \text{ kg} \times 0.1 \approx 53 \text{ kg}$$

### 7.3.1.2 Masa de CO<sub>2</sub> por reposición

Para estimar la masa de reposición es necesario tener en cuenta dos aspectos operativos. En primer lugar, como ya se comentó en la Sección 7.1, el proceso de despresurización se realiza mediante la transferencia de la mezcla supercrítica de un impregnador a otro hasta que se llega a una presión de seguridad de 0.5 MPa. El proceso de despresurización continúa hasta que el resto de la mezcla es liberada al ambiente a través del tanque de venteo del equipo. Esto significa existe una cantidad de CO<sub>2</sub>/eugenol que se desecha por cada ciclo de impregnación y que debe reponerse en cada ciclo. Esta masa puede calcularse de la siguiente manera:

#### **Masa de CO<sub>2</sub> perdida durante la purga:**

De acuerdo con el NIST, la densidad del del CO<sub>2</sub> contenido en el impregnador a una P = 0.5 MPa y T = 60 °C es 8.084 kg/m<sup>3</sup>, por lo tanto,

- Masa CO<sub>2</sub> en la purga:  $MP_{CO_2} = 8.084 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} * 1.218 \text{ m}^3 = 9.85 \text{ kg}$

En segundo lugar, como se vio anteriormente en los estudios de sorción del CO<sub>2</sub> en el material (Sección 5.2), existe una porción de CO<sub>2</sub> que se absorbe en la PA6 y se libera al ambiente lentamente una vez es despresurizado el sistema. Esta cantidad equivale alrededor de un 2.5 % con relación a masa del hilo. Teniendo en cuenta lo anterior, es posible estimar la cantidad total de CO<sub>2</sub> que se pierde durante cada ciclo de impregnación que a su vez equivale aproximadamente a la masa de CO<sub>2</sub> de reposición para cada nuevo ciclo de impregnación. Por consiguiente, como la masa de las 12 bobinas de PA6 corresponde a 312 kg (ver Tabla 7.4), la masa CO<sub>2</sub> absorbida en ellas es:

- Masa CO<sub>2</sub> por sorción:  $MS_{CO_2} = 0.025 * 312 \text{ kg} = 7.8 \text{ kg}$

Así, la masa total de CO<sub>2</sub> por reposición después de cada ciclo de impregnación es:

Masa CO<sub>2</sub> por reposición:  $MR_{CO_2} = 9.85 + 7.8 = 17.65 \text{ kg}$

Como se puede observar, la cantidad de CO<sub>2</sub> de reposición representa aproximadamente un 3.33 % de la masa total requerida para un primer ciclo de impregnación. Esto indica que el proceso una vez puesto en marcha, requiere alimentar una cantidad de CO<sub>2</sub> mucho menor con respecto a la inicial.

En términos generales, estos datos sugieren que la capacidad del tanque principal de CO<sub>2</sub> (T1) necesaria para proporcionar CO<sub>2</sub> en al menos 50 ciclos de impregnación debería ser aproximadamente:

Masa CO<sub>2</sub> del tanque:  $MT_{CO_2} = (529.13 + 53 + 17.65) \times 50 \approx 1465 \text{ kg}$

### 7.3.2 Masa de eugenol

Es importante recordar que la cantidad de eugenol que se determina en esta sección, no es igual a la que ingresa al impregnador en el instante inicial del proceso, ya que, así como se mencionó anteriormente, se busca generar una mezcla de eugenol/CO<sub>2</sub>-sc recirculante que permita la transferencia de eugenol hacia las bobinas durante el tiempo establecido. Esto quiere decir que, cuando el CO<sub>2</sub>-sc ingrese al depósito de eugenol, no se solubilizará todo en una primera instancia, sino que, a lo largo de las 2 horas de impregnación, y de las sucesivas recirculaciones de la mezcla supercrítica empobrecida por la absorción del compuesto activo, irá disminuyendo la cantidad en el tanque hasta consumirse por completo.

Debido al funcionamiento de dos tanques de impregnación alternos, al igual que en el caso del CO<sub>2</sub>, el consumo total de eugenol para cada impregnador se compone de dos partes: (i) la masa de eugenol inicial requerida para comenzar el proceso en el primer tanque de impregnación y (ii) la masa de eugenol por reposición, que corresponde a una cantidad de eugenol impregnada en las bobinas durante el primer proceso impregnación, más la pérdida de eugenol en la purga. De acuerdo con la información anterior, se procede al cálculo de la masa de eugenol para cada proceso.

### 7.3.2.1 Masa inicial del eugenol

El cálculo de la masa inicial de eugenol se basa en las siguientes consideraciones:

- La cantidad de masa determinada equivale a la masa necesaria para obtener una mezcla saturada del compuesto activo en el sistema, la masa ocupada por las tuberías y la que se impregna en las fibras.
- Respecto a la cantidad de eugenol que se impregna en las fibras, el proceso busca replicar las condiciones en las que se produce una mayor absorción del principio activo a escala laboratorio, las mismas se determinaron experimentalmente dando una absorción máxima de 15,27% a una presión de 12 MPa, temperatura de 60°C y una velocidad de despresurización de 0,5 MPa/min (véase Tabla 5.1)
- Operativamente se define un objetivo de impregnación del 10%; este valor fue pensado en base a dos premisas, una de ellas es que el hilo dental a esas concentraciones de eugenol, continúa presentando actividad bactericida, y otra es que los resultados obtenidos a escala laboratorio se deben, en gran medida, a las condiciones operativas controladas, cosa que a escala industrial no ocurre tan minuciosamente, resultando más difícil alcanzar esos rendimientos.
- En el Capítulo 4 se establece como condición operativa una fracción másica de eugenol en CO<sub>2</sub> igual a 0.0056. Por lo tanto, para lograr el rendimiento de impregnación objetivo, se debe sostener esta concentración y agregar una cantidad de eugenol adicional equivalente al 10% de la masa de hilo total, la cual corresponde a la masa de eugenol impregnada en las fibras.

Teniendo en cuenta lo anterior se tiene que la masa de eugenol inicial es:

$$M_{Eu} = 0.0056M_{CO_2} + 0.1M_{bob} = 0.056 \cdot 529.13 + 0.1 \cdot 312 = 34 \text{ kg}$$

### 7.3.2.2 Masa de eugenol por reposición

Para estimar la cantidad de eugenol por reposición se tienen en cuenta lo siguiente:

- La mayor parte de la mezcla supercrítica del primer tanque de impregnación es recuperada al transferirla al tanque de impregnación alterno.
- Existe una cantidad de eugenol que se desecha en la purga. Se asume una concentración de eugenol en dicha corriente igual a 0.0056 (fracción másica). Si bien dicha concentración es probablemente menor, debido a que la purga se encuentra a menor presión, se toma este valor como el peor caso.

Con base en lo anterior se tiene que:

$$\text{Masa eugenol en la purga: } MP_{Eu} = 0.0056MP_{CO_2} = 0.0056 \cdot 9.85 \text{ kg} = 0.055 \text{ kg}$$

$$\text{Masa de eugenol por reposición: } MR_{Eu} = 0.055 + 0.1M_{bob} \approx 31 \text{ kg}$$

De acuerdo con los datos obtenidos, se puede afirmar que la cantidad de eugenol de reposición es levemente menor a la de ingreso, representa cerca de un 90% de la masa inicial. Esto es lógico, ya que la mayor parte del eugenol alimentado es impregnado en las bobinas de PA6.

Con los valores ya calculados, se procede a hacer una aproximación de las cantidades requeridas de eugenol para un proceso de 50 ciclos operativos.

$$ME_{50 \text{ ciclos}} = 34.16 + 31.255 \times 50 = 1598 \text{ kg} \approx 1600 \text{ kg}$$

A continuación, en la Tabla 7.7 se resume las cantidades calculadas en este apartado

**Tabla 7.7** Resumen de requerimientos de materia prima

Componente	Cantidad (kg)
Masa ingreso de CO <sub>2</sub> (carga inicial)	530
Masa de reposición de CO <sub>2</sub>	18
Masa de ingreso de eugenol	34
Masa de reposición de eugenol	31
Masa de CO <sub>2</sub> para 50 ciclos operativos	1500
Masa de eugenol para 50 ciclos operativos	1600

### 7.3.3 Flujo másico

En la sección anterior se demostró que para iniciar el proceso de impregnación se requiere cargar una cantidad importante de CO<sub>2</sub> a una presión y temperatura adecuada en el tanque impregnador. En consecuencia, ajustar las condiciones iniciales del proceso, se requiere de pasos previos como el bombeo del dióxido de carbono y el intercambio de calor del fluido. En este sentido, con base en los estudios previos, se propone un tiempo de carga CO<sub>2</sub> de aproximadamente 12 minutos. Con este tiempo se considera que el ciclo de carga es relativamente corto y se evita prolongar el proceso en general. Según lo anterior, el flujo másico del CO<sub>2</sub> será:

$$F_{CO_2} = \frac{MI_{CO_2}}{t} = \frac{529.13kg}{12 \text{ min}} = 0.735 \text{ kg/s}$$

### 7.3.4 Requerimientos de energía

En la sección 7.1 se comentó que el proceso general dispone de dos equipos fundamentales para impulsar el CO<sub>2</sub> y la mezcla supercrítica hacia cualquiera de los dos impregnadores en el momento que se requiera. Estos equipos los conforman una bomba de compresión (BC) que comprime el CO<sub>2</sub> en estado líquido y lo envía hacia cualquiera de los impregnadores y un compresor de recirculación (CR) que hace fluir la mezcla (CO<sub>2</sub>/eugenol) en estado supercrítico a través de un mismo impregnador y ayuda a transferirla de un impregnador a otro. Estos equipos sin duda constituyen una pieza fundamental en el proceso general de impregnación supercrítico. Por lo tanto, a continuación, se procede estimar la potencia que requieren estos equipos para el correcto funcionamiento del proceso.

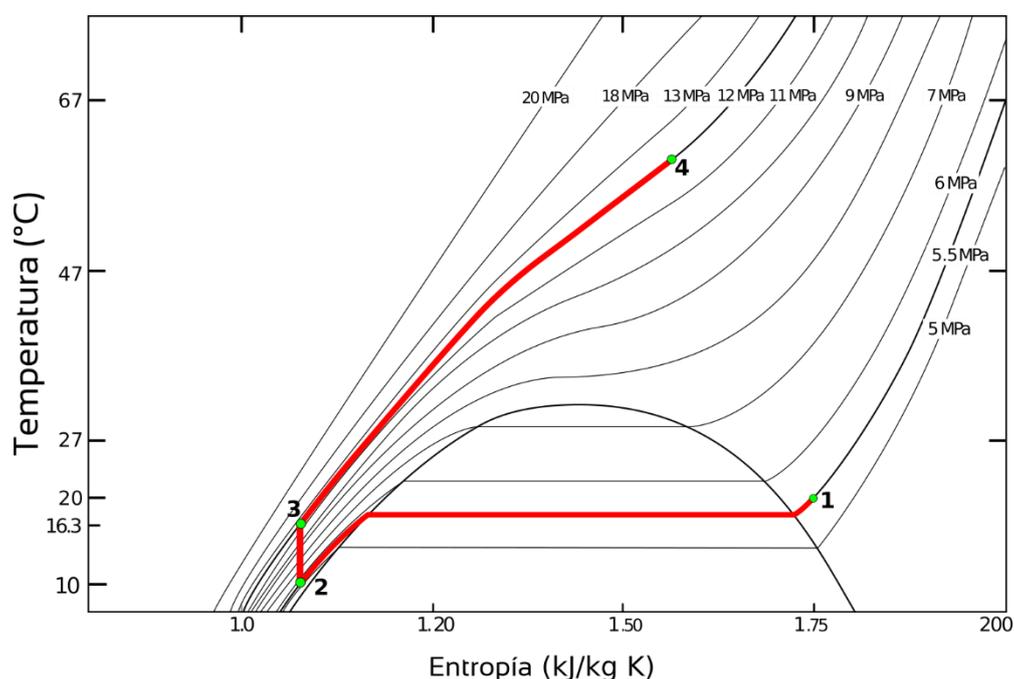
#### 7.3.4.1 Requerimientos de potencia de la bomba de presión BC

Para estimar la potencia que requiere el equipo BC, se considera que existe una variación de la energía asociada a los distintos cambios de presión y temperatura que experimenta la masa CO<sub>2</sub> al ser transportada de un punto a otro. Por consiguiente, a partir de esta variación, se puede determinar la energía mecánica y a su vez la energía eléctrica necesaria para bombear el fluido del tanque principal de CO<sub>2</sub> al impregnador.

Los cálculos de potencia se realizan en base a las siguientes suposiciones:

- ❖ El CO<sub>2</sub> del tanque principal T1 se encuentra almacenado a 5.5 MPa y 20 °C
- ❖ La eficiencia de la bomba es del 75%

La variación de la energía del CO<sub>2</sub> se puede obtener a partir de sus diagramas temperatura–entropía (T–S) y presión–entalpía (P–H). Estos diagramas permiten calcular el consumo de energía mecánica asociada a las distintas transformaciones y cambios de etapa del CO<sub>2</sub> durante la operación. La Figura 7.17 muestra el diagrama T–S para el CO<sub>2</sub> junto con sus respectivos cambios de etapa durante el proceso de compresión.



**Figura 7.17.** Diagrama temperatura–entropía (T–S) del CO<sub>2</sub> puro para un proceso de compresión a través de una bomba.

De la Figura 7.17 se puede observar el trayecto fluido desde la salida del tanque de almacenamiento de CO<sub>2</sub> hasta el ingreso al equipo impregnador. De acuerdo con el diagrama de flujo de la Figura 7.3 a la salida del tanque T1, el CO<sub>2</sub> es enfriado isobáricamente a través de un intercambiador de calor (IC1) en donde cambia de vapor a líquido (1→2). Luego este líquido es presurizado adiabática e irreversiblemente por la bomba BC hasta alcanzar la presión de 12 MPa. Durante el proceso de compresión el CO<sub>2</sub> aumenta levemente su temperatura (2→3) y finalmente ese fluido es calentado isobáricamente hasta llegar a las condiciones operativas de 12 MPa y 60 °C (3→4). La Tabla 7.8 muestra los valores termodinámicos de cada estado.

**Tabla 7.8.** Propiedades termodinámicas del proceso de compresión

Etapa	Temperatura (°C)	Presión (MPa)	Entalpía (kJ/Kg) <sup>a</sup>	Entropía (kJ/kg K) <sup>b</sup>	Fase
1	20	5.5	417.48	1.743	Vapor
2	10	5.5	223.66	1.077	Líquido
3 <sup>rev</sup>	16.3	12	231.00	1.077	Líquido
3		12	233.45		
4	60	12	384.62	1.566	Supercrítico

<sup>a,b</sup> del NIST.

Para calcular los requerimientos de energía del equipo, se asume que la bomba trabaja de manera reversible y, por lo tanto, el proceso se considera isoentrópico, lo que permite calcular una condición de salida hipotética para ese estado (estado 3<sup>rev</sup> Tabla 7.8). Por lo tanto, teniendo en cuenta estas consideraciones y partiendo de la primera Ley de la Termodinámica, el trabajo isoentrópico de la bomba mediante la variación de las entalpías entre el estado 2 y 3<sup>rev</sup> es el siguiente:

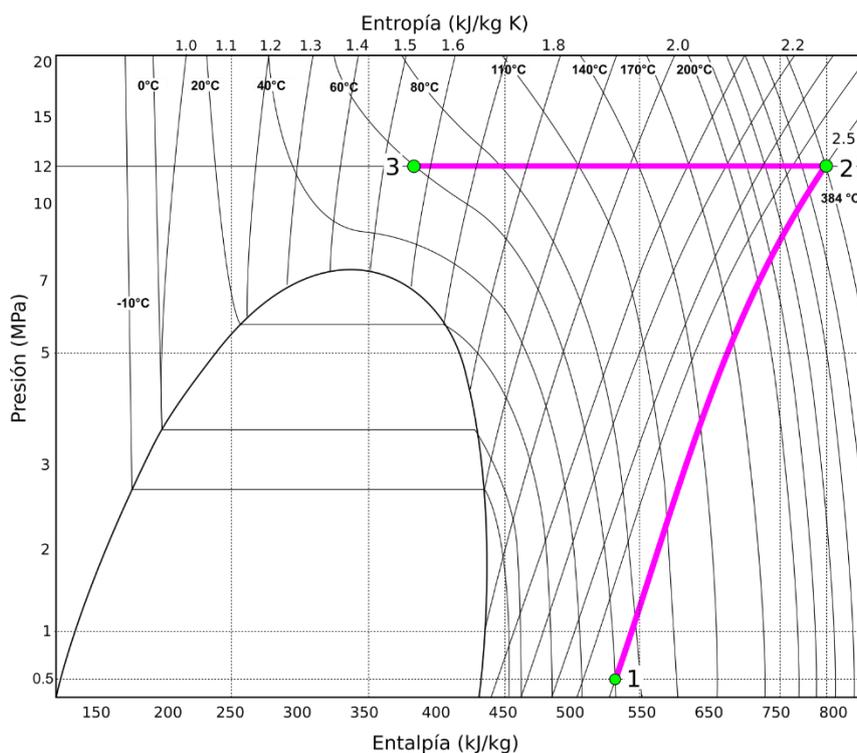
$$W_b^{isoentrópico} = H_3^{rev} - H_2 = 231 - 223.66 = 7.34 \text{ kJ/kg}$$

Por lo tanto, el trabajo eléctrico de la bomba será:

$$W_{Elec} = \frac{W_b}{\eta} Q_{CO_2} = \frac{7.34 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}} \times 0.735 \frac{\text{kg}}{\text{s}}}{0.75} = 7.19 \text{ kW}$$

#### 7.3.4.2 Requerimientos de la potencia del compresor de recirculación CR

Para este caso, es necesario tener en cuenta que el compresor tiene un trabajo creciente, ya que la diferencia de presión entre ambos tanques va incrementándose con el tiempo, a medida que el primero se va vaciando y el segundo se va presurizando. El cálculo de la potencia requerida se realiza para la máxima brecha de presión entre los tanques impregnadores; en este caso será cuando el impregnador en descarga tenga una presión de 0.5 MPa y el otro la presión operativa (12 MPa). En la Figura 7.18 se ilustra el diagrama presión–entalpía con los distintos recorridos y estados durante este proceso de descompresión y compresión.



**Figura 7.18.** Diagrama presión–entalpía del CO<sub>2</sub> puro para un proceso de compresión a través de un compresor.

A partir del diagrama de proceso expresado en la en la Figura 7.18 se puede observar que del tanque impregnador sale un fluido a la temperatura de 60°C. Durante el proceso de evacuación de la mezcla supercrítica, el flujo másico varía de tal forma en que se pueda cumplir con la velocidad de despresurización requerida. En este sentido, para estimar el valor máximo de potencia del compresor, se considera que el equipo impregnador vaciado se encuentra a la presión remanente de 0.5 MPa. En estas condiciones (0.5 MPa y 60°C), el fluido de salida es un gas que se comprime de manera adiabática e irreversible hasta alcanzar la presión de 12 MPa (1→2). En este procedimiento, el gas pasa a ser un fluido supercrítico. Como es de esperar, el trabajo de compresión trae consigo un incremento considerable de la temperatura, razón por la cual el fluido deberá ser enfriado isobáricamente a 60 °C en el intercambiador de calor (IC3) antes de ingresar al segundo impregnador (2→3). La Tabla 7.9 muestra los diferentes valores termodinámicos de cada uno de los estados durante esta operación.

**Tabla 7.9.** Propiedades termodinámicas del proceso de compresión a la salida del impregnador

Etapa	Temperatura (°C)	Presión (MPa)	Entalpía (kJ/Kg) <sup>a</sup>	Entropía (kJ/kg K) <sup>b</sup>	Fase
1	60	0.5	533.25	2.5252	Vapor sobrecalentado
2 <sup>rev</sup>	355	12	808.66	2.5252	Supercrítico
2			877.45		
3	60	12	384.62	1.5663	Supercrítico

<sup>a,b</sup> del NIST.

Antes de realizar la estimación de la potencia del compresor, se tiene que, durante el proceso de despresurización del impregnador, se considera que el compresor CR bombea la mezcla CO<sub>2</sub>/eugenol de un impregnador al otro a la velocidad de despresurización de 0.5 MPa/min hasta llegar a una presión de 0.5 MPa. Para igualar dicha velocidad de despresurización, mediante cálculos previos se encontró que el compresor debe bombear la mezcla supercrítica a un caudal promedio de 0.222 kg/s. Adicionalmente, para fines prácticos en los cálculos de potencia, se considerará la mezcla supercrítica como CO<sub>2</sub> puro.

En consecuencia, de la misma forma como se hicieron previamente los cálculos para la bomba, la potencia del compresor se puede determinar mediante el cambio de entalpía entre los estados 1 y 2 que se muestran en la Tabla 7.9. Por lo tanto, asumiendo en primera instancia un funcionamiento en estado reversible (estado 2<sup>rev</sup>),

$$W_c = H_2^{rev} - H_1 = 808.66 - 533.25 = 275.41 \text{ kJ/kg}$$

Asumiendo una eficiencia del 80%, la potencia del compresor es:

$$W_{Elec} = \frac{W_b}{\eta} Q_{CO_2/eug} = \frac{275.41 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}} \times 0.222 \frac{\text{kg}}{\text{s}}}{0.8} = 76.42 \text{ kW}$$

Como se observa, la potencia requerida por el compresor de recirculación es muy alta, representa más de 100 HP lo cual siembra algunas dudas respecto a su utilización en el proceso. Para los procesos industriales un equipo como este implica un alto costo energético, operativo y de inversión. En este caso en particular, el compresor cumple la función de recuperar el CO<sub>2</sub> de impregnación; entonces se debería evaluar si realmente es conveniente (desde un punto de vista económico) reutilizar este fluido una vez que la

diferencia de presiones no permita el paso de fluido de un tanque impregnador a otro. La decisión está sujeta a un análisis de costo-beneficio del producto, el cual no hace parte de este ejercicio. Para un correcto análisis se deberá además mejorar los cálculos de potencia, teniendo en cuenta el carácter no estacionario del proceso de trasvase, los cambios de presión y temperatura que van ocurriendo durante el proceso. En la Tabla 7.10 se resume los requerimientos de potencia del proceso.

**Tabla 7.10.** Requerimientos de masa y potencia

Propiedad	Especificación
Potencia de la bomba de compresión (BC)	7.19 kW
Potencia del compresor de recirculación (CR)	76.2 kW

### 7.3.5 Requerimientos de masa y energía de los intercambiadores de calor

Para este proceso de impregnación supercrítico, los intercambiadores de calor propuestos (Figura 7.3) cumplen un papel muy importante en el momento de establecer las condiciones operativas. A continuación, estiman los requerimientos energéticos de cada uno de los intercambiadores de calor del proceso.

#### 7.3.5.1 Intercambiador de calor IC1

Su función principal es la de licuar el CO<sub>2</sub> y enfriarlo por debajo de su temperatura de saturación. Es decir, enfriar el CO<sub>2</sub> proveniente del tanque principal T1 a 10 °C. Con este procedimiento se garantiza que el fluido se encuentre en estado líquido y la bomba trabaje de manera adecuada. Además, también posee una función secundaria, que es la de enfriar la bomba durante el proceso de compresión. En la Tabla 7.8 se encuentran los estados energéticos del fluido en esas condiciones. A partir de las diferencias de entalpías del estado 1 y 2 se puede calcular la cantidad de calor intercambiada durante este proceso. Asumiendo que no hay pérdidas de calor en el sistema se tiene que,

$$Q_{IC1} = (H_{2B} - H_{1B})F_{CO_2} = \left(223.66 \frac{kJ}{kg} - 417.48 \frac{kJ}{kg}\right) \times 0.735 \frac{kg}{s} \approx -145 kW$$

Tal como se observa, la cantidad de calor a retirar es significativa, producto del cambio de estado del fluido. Para ello, una solución podría ser un tipo de intercambiador que

proporcione una amplia superficie de contacto. Adicionalmente, también podría usarse como líquido refrigerante una mezcla al 30% de agua/etilenglicol. Considerando lo anterior, el flujo másico del líquido refrigerante necesario para el intercambiador sería,

$$Q_{IC1} = F_{E/H2O} \cdot C_{p_{E/H2O}} \times (T_s - T_{\frac{E}{H2O}}) \Rightarrow 145 \frac{kJ}{kg} = F_{E/H2O} \times 3.73 \frac{kJ}{kg \text{ } ^\circ C} \times (10 - (-5))^\circ C$$

$$F_{E/H2O} = 2,61 \text{ kg/s}$$

### 7.3.5.2 Intercambiador de calor IC2

Para el caso de este intercambiador, su función es proporcionar calor al sistema para que el fluido entre al impregnador a las condiciones de trabajo. Para este caso en particular, se propone utilizar agua a 80°C como fluido intercambiador. Similar al procedimiento anterior, utilizando los datos energéticos de la Tabla 7.8 se calcula los requerimientos de energía del intercambiador de calor seguido de la estimación del caudal másico de agua para este equipo auxiliar.

$$Q_{IC2} = (H_{4B} - H_{3B})F_{CO_2} = (384.62 - 231) \frac{kJ}{kg} \times 0.735 \frac{kg}{s} \approx 113 \text{ kW}$$

$$Q_{IC2} = F \cdot C_{p_{H2O}} \cdot (T_c - T_{op}) \Rightarrow 153.62 \frac{kJ}{kg} = F_{H2O} \times 4.18 \frac{kJ}{kg \text{ } ^\circ C} \times (80 - 60)^\circ C$$

$$F_{H2O} = 1.84 \text{ kg/s}$$

### 7.3.5.3 Intercambiador de calor IC3

Como ya se vio anteriormente, en este punto, intercambiador debe refrigerar hasta 60 °C una corriente de proceso que puede alcanzar una temperatura aproximada de 355 °C durante el proceso de compresión. A raíz de esta condición, en un sentido más estricto con respecto a la eficiencia energética global el este proceso, se puede plantear el uso de esta fuente de energía para proporcionar calor a otros equipos del proceso como el intercambiador IC2 o las camisas de calefacción de los impregnadores.

De igual manera que en los procedimientos anteriores, se calcula la cantidad de calor necesaria a retirar del sistema durante el trabajo de compresión. En este sentido, se considera que el líquido refrigerante, en este caso agua, se encuentra a 20 °C y luego del proceso de intercambio, alcanza una temperatura de 80°C que luego puede ser utilizada para calefaccionar otras corrientes del proceso como ya se mencionó anteriormente. Partiendo de los datos de la Tabla 7.9, el flujo de calor y el flujo másico requeridos por el intercambiador IC3 son:

$$Q_{IC3} = (H_{3C} - H_{2C}) F_{CO_2} = (384.62 - 808.66) \frac{kJ}{kg} \times 0.2223 \frac{kg}{s} = 94 \text{ kW}$$

$$Q_{IC3} = F_{H_2O} \cdot C_{p_{H_2O}} \cdot (T_c - T_{op}) \Rightarrow 94.14 \frac{kJ}{kg} = F_{H_2O} \times 4.18 \frac{kJ}{kg \cdot ^\circ C} \times (80 - 20) C^\circ$$

$$F_{H_2O} = 0.37 \text{ kg/s}$$

Finalmente, en la Tabla 7.11 se resumen los requerimientos de masa y energía para los intercambiadores de calor.

**Tabla 7.11.** Requerimientos de masa y energía de los intercambiadores de calor

Intercambiador	Calor (Q) (KW)	Líquido intercambiador	Flujo másico (F) (kg/s)
IC1	-145	Agua/etilenglicol al 30%	2.61
IC2	113	Agua	1.84
IC3	-109	Agua	0.37

#### 7.4 Conclusiones

De acuerdo con los datos experimentales de esta investigación, se realizó el diseño y el dimensionamiento de una planta industrial para impregnar bobinas de PA6 con eugenol en CO<sub>2</sub> supercrítico, haciendo énfasis en la características y especificaciones de las bobinas de hilo, del equipo impregnador, así como también de los principales requerimientos de masa y de energía del proceso.

El diseño general esta planta se caracteriza por contar con dos equipos impregnadores de acero inoxidable que trabajan de forma alterna, cada uno con capacidad de 1442 l que permite contener 12 bobinas de 26 kg cada una. Adicionalmente este sistema dispone de diferentes dispositivos y accesorios que mejoran la eficiencia global del proceso como lo es, la distribución y recirculación de la mezcla CO<sub>2</sub>/eugenol al interior del equipo, así como también la recuperación parcial de CO<sub>2</sub> y eugenol después del proceso de impregnación.

Aunque esta planta está diseñada solo para impregnar bobinas de hilo con eugenol, la capacidad y el sobredimensionamiento de ambos equipos impregnadores, permite realizar otros procesos de impregnación (en un rango de temperatura de 0 a 90 °C y hasta

18 MPa) con otro tipo de sustancias y materiales poliméricos, como por ejemplo el teñido de rollos de tela.

El diseño y dimensionamiento del proceso de impregnación supercrítico del eugenol en PA6 a escala industrial ha resultado ser un tema muy importante como punto de cierre de esta investigación, debido a que consolida toda la información obtenida durante desarrollo de este estudio y además constituye un ejercicio ingenieril que proyecta un proceso de producción masivo a futuro.

## CONCLUSIONES GENERALES

En esta tesis, se ha presentado un estudio sobre el proceso de impregnación con CO<sub>2</sub>-sc de un hilo dental de poliamida 6 con eugenol en diferentes condiciones operativas (presión, temperatura, tiempo de contacto y despresurización) así como sus principales fenómenos difusivos, con el fin de evaluar tecnología de impregnación supercrítica en el desarrollo de un hilo dental bioactivo para una potencial aplicación odontológica.

En una primera parte, se obtuvo información experimental sobre el comportamiento de impregnación del compuesto activo en las fibras del polímero. Para ello, después de la construcción y puesta a punto del equipo del equipo, se pudo adquirir conocimientos útiles del trabajo a alta presión y ganar destreza en la operación de este tipo de equipamiento.

Luego, se realizaron ensayos de alta presión cubriendo un rango de presión y temperatura dentro de una ventana operativa definida previamente con base en un relevamiento de literatura y ensayos preliminares: 8 a 10 MPa y 40 a 60 °C. En esta instancia, se determinaron las mejores condiciones de impregnación del eugenol en las fibras de PA6 y se analizó el efecto de las variables de operación sobre la eficiencia de impregnación. Así mismo se estudiaron los fenómenos difusivos propios de este proceso mediante la sorción del CO<sub>2</sub> y el eugenol en la poliamida, obteniéndose los coeficientes de difusión aparente para ambas especies ( $D_a$ ), así como los respectivos coeficientes de reparto ( $K$ ). Como conclusiones generales de estos experimentos se pueden mencionar las siguientes:

La incorporación del eugenol dentro de la matriz polimérica estuvo afectada por la presión y la velocidad de despresurización. A partir de la evaluación de estas condiciones, el máximo rendimiento impregnación estuvo alrededor de 15% (p/p) a 12 MPa, 60°C y una despresurización lenta (0.5 MPa min<sup>-1</sup>).

- La cinética de sorción del CO<sub>2</sub> se estudió por medio del método de desorción gravimétrico, permitiendo observar que el proceso de difusión tuvo un

comportamiento Fickiano. De igual manera, se encontró que tanto la presión como la temperatura tuvieron poco efecto sobre la máxima cantidad del CO<sub>2</sub> absorbida en el equilibrio, la cual fue aprox. de un 3% (p/p) en todas las condiciones estudiadas. No obstante, la incorporación del eugenol sí estuvo claramente influenciada por la presión y la temperatura.

- La cinética de impregnación del eugenol en fibras de PA6 demostró un comportamiento Fickiano. Asimismo, el D<sub>a</sub> del CO<sub>2</sub> y el eugenol fueron determinados satisfactoriamente, mediante el ajuste de los datos experimentales con una solución analítica de la segunda ley de Fick para estado no estacionario.
- El coeficiente de difusión aparente del CO<sub>2</sub> fue cuatro ordenes de magnitud más alto que el coeficiente del eugenol (10<sup>-10</sup> vs 10<sup>-14</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), indicando que las fibras de poliamida se hinchan y se saturan rápidamente por la sorción del CO<sub>2</sub> y en consecuencia, la difusión del eugenol se produce en un medio ya plastificado, justificando el enfoque del modelo para una sola especie.
- El coeficiente de reparto del eugenol reveló que, a temperaturas más altas, se favorece el desplazamiento del equilibrio hacia la fase polimérica, lo que produce una mejora en la absorción del eugenol, alcanzando valores de impregnación próximos al 16%.
- La buena concordancia entre los resultados experimentales y los datos calculados por los modelos de difusión basados en soluciones analítica de la segunda ley de Fick en sus distintas geometrías, confirman que dichos modelos constituyen una herramienta válida para describir el comportamiento difusivo en los procesos cinéticos de sorción del CO<sub>2</sub>, impregnación y de desorción del eugenol en la PA6 estudiados en esta tesis.

Se analizaron también las propiedades finales del material impregnado, entre ellas, las propiedades mecánicas, térmicas y morfológicas. Además, se evaluó la actividad antimicrobiana del material impregnado frente a dos bacterias comunes (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) y, por último, se estudió la migración del compuesto activo impregnado en aire y en saliva artificial. Las principales conclusiones de estos ensayos son las siguientes:

- El tratamiento de alta presión no afectó significativamente el comportamiento mecánico de las muestras hilo dental. Solo se registró un ligero incremento en la resistencia a la tracción.
- Las imágenes SEM revelaron que las muestras de hilo dental tratado poseen pequeñas manchas en la superficie de las fibras, las cuales se atribuyen a la presencia del eugenol producto del proceso de impregnación supercrítico.
- El análisis térmico por DSC reveló que hubo una pequeña disminución en la cristalinidad del polímero a causa del tratamiento de alta presión, independientemente de los tiempos de impregnación.
- La cinética de liberación el aire y en saliva artificial del hilo impregnado se determinó experimentalmente, mientras que los datos de desorción se ajustaron satisfactoriamente mediante el modelo de difusión y los modelos cinéticos de desorción de uno y dos sitios.
- El material impregnado exhibió una alta actividad antibacteriana contra los dos microorganismos seleccionados (*E. coli* y *S. Aureus*) en pruebas estándar preliminares, con una reducción microbiana superior al 99,99% y valores de reducción logarítmica de 4,04 y 4,14, respectivamente.
- Los experimentos de desorción de aire permitieron estimar el coeficiente de difusión aparente de eugenol impregnado en fibras del hilo, lo cual generó información útil para el futuro diseño de materiales activos y la estimación de la vida útil.
- Los experimentos de liberación en saliva artificial mostraron que la desorción de eugenol fue muy rápida durante los 10 primeros minutos, seguida de una liberación más controlada, dejando entrever que el comportamiento parece adecuado para la aplicación prevista, ya que se espera que el hilo dental esté solo unos minutos en contacto con la cavidad oral. Adicionalmente, el recubrimiento de cera del hilo post impregnación demostró que retarda hasta tres veces más el proceso de liberación del eugenol en el medio salival, favoreciendo la retención del compuesto activo en el polímero y mejorando la vida útil del producto.

Se realizó también en el marco de esta tesis el diseño y el dimensionamiento de un proceso industrial para impregnar bobinas de PA6 con eugenol en CO<sub>2</sub> supercrítico,

haciendo énfasis en la características y especificaciones de las bobinas de hilo, del equipo impregnador, así como también de los principales requerimientos de masa y de energía del proceso.

- El diseño general del proceso cuenta con dos equipos impregnadores de acero inoxidable que trabajan de forma alterna, cada uno con capacidad de 1442 l que permite contener 12 bobinas de 26 kg cada una. Adicionalmente este sistema dispone de diferentes dispositivos y accesorios que mejoran la eficiencia global del proceso como lo es, la distribución y recirculación de la mezcla CO<sub>2</sub>/eugenol al interior del equipo, así como también la recuperación parcial de CO<sub>2</sub> y eugenol después del proceso de impregnación.
- De manera alterativa, la capacidad y el sobredimensionamiento de ambos equipos impregnadores permiten también realizar otros procesos de impregnación (en un rango de temperatura de 0 a 90 °C y hasta 18 MPa) con otro tipo de sustancias y materiales poliméricos, como por ejemplo el teñido de rollos de tela.

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos, la impregnación asistida por CO<sub>2</sub>-sc aparece como una alternativa adecuada y atractiva para la incorporación de sustancias activas en fibras poliméricas destinadas al uso en hilos dentales y productos afines. En consecuencia, este estudio confirma que dicha técnica tiene un gran potencial para procesar matrices poliméricas en el desarrollo de materiales activos con fines odontológicos.

## DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Durante el desarrollo de esta se realizaron algunas publicaciones en revistas científicas y también, participaciones en eventos y congresos de ciencia y tecnología mediante la presentación de algunos trabajos y exposición oral.

### Publicaciones en revistas científicas

- ❖ Mosquera J. E., Goñi M. L., Martini R. E., Gañán N. A., Supercritical carbon dioxide assisted impregnation of eugenol into polyamide fibers for application as a dental floss. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization* 32 (2019) 259–268.
- ❖ Mosquera J. E., Goñi M. L., Martini R. E., Gañán N. A., Mass transfer kinetics of CO<sub>2</sub> and eugenol in the supercritical impregnation of polyamide fibers: Experimental data and modeling. *Journal of Supercritical Fluid* 166 (2020) 1–8.

### Presentaciones en congresos

- ❖ Impregnación de un hilo dental con eugenol en CO<sub>2</sub> supercrítico. J. E. Mosquera; R. E. Martini; N.A. Gañán.  
Exposición oral, poster y trabajo extendido presentado en IV Reunión Interdisciplinaria de Tecnología y Procesos Químicos (RITEQ). Villa Carlos Paz – Córdoba – Argentina. 29 de mayo al 1 de junio de 2018.
- ❖ Supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation kinetics of polyamide fibers with eugenol: experimental data and modeling. José E. Mosqueraa, M. Laura Goñia, Raquel E. Martinia, Nicolás A. Gañána.  
Poster presentado en V Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (Prosciba) del 2 – 6 de septiembre de 2019, Universidad de Campinas (Unicamp), Brazil.

## TRABAJOS FUTUROS

El trabajo presentado en esta tesis ha generado un aporte significativo en conocimiento sobre desarrollo y diseño de materiales activos a partir de la impregnación con CO<sub>2</sub> supercrítico de sustancias activas en polímeros. Las siguientes sugerencias pueden contribuir a futuros estudios:

- Determinar y controlar la velocidad de presurización en los ensayos de impregnación. Esto permitiría optimizar la impregnación del compuesto activo y mejorar la precisión de los datos obtenidos en los ensayos de impregnación y de sorción de las sustancias involucradas.
- Utilizar un codisolvente como etanol durante el proceso de impregnación. La presencia de un codisolvente en medio de alta presión podría potenciar las interacciones de la mezcla CO<sub>2</sub>/eugenol con la poliamida, esto quizás contribuiría a un aumento de la eficiencia de impregnación. No obstante, la incorporación de cosolvente podría también afectar negativamente al material, lo cual constituye otro aspecto a tener en cuenta y que debería estudiarse.
- Con el objetivo de estimar la vida útil del producto, también se podría evaluar la retención del eugenol impregnado en las fibras de poliamida 6 en diferentes condiciones de almacenamiento (temperatura y presencia / ausencia de luz visible).
- Construir una planta piloto en la que se pueda llevar a cabo el proceso planteado y analizar las características del producto obtenido como paso previo a una futura industrialización del proceso. Esto permitiría estudiar otros aspectos difíciles de reproducir en el laboratorio, y relacionados con: patrones de flujo y aspectos fluidodinámicos en general; características de la transferencia de masa; eficiencia de la transferencia de calor, etc., que pueden influir en el rendimiento o la cinética de impregnación.
- Realizar un estudio de la actividad del hilo frente a otros microorganismos más específicos de la cavidad bucal o asociados a afecciones periodontales.
- Realizar un estudio complementario de la factibilidad técnico-económica del equipo industrial diseñado previamente en este estudio. Esto podría generar una

base económica cuantitativa para el desarrollo de futuros procesos industriales relacionados con el procesamiento de polímeros a alta presión.

- Por último, la investigación en tesis doctoral se limitó solo a la impregnación del eugenol fibras de poliamida 6 con CO<sub>2</sub> supercrítico. Sin embargo, la metodología aplicada puede extenderse a la impregnación de otros compuestos activos origen natural, en una gama más amplia de matrices poliméricas para otras potenciales aplicaciones. El estudio de la impregnación supercrítica de otras sustancias activas en polímeros puede proporcionar conocimientos no solo en desarrollo de materiales poliméricos con actividad específica, sino también aportar observaciones generales que permitan diseñar estrategias más sistemáticas para la optimización de parámetros y condiciones operativas del proceso.

## REFERENCIAS

- [1] Global Health Metrics, Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 Diseases and Injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017, in: *The Lancet*, 2018: pp. 1789–1858.
- [2] M.A. Peres, L.M.D. Macpherson, R.J. Weyant, B. Daly, R. Venturelli, M.R. Mathur, S. Listl, R.K. Celeste, C.C. Guarnizo-Herreño, C. Kearns, H. Benzian, P. Allison, R.G. Watt, Oral diseases: a global public health challenge, *Lancet*. 394 (2019) 249–260.
- [3] Canadian Dental Association, *The State of Oral Health in Canada*, (2017) 30.
- [4] R.C. Williams, Periodontal disease, *N. Engl. J. Med.* 322 (1990) 373–382.
- [5] B.K. Jadhav, K.R. Kishanchandra, A.R. Ketkar, S.S. Pisal, Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Tablets Containing Eugenol for the Treatment of Periodontal Diseases, *DRUG Dev. Ind. Pharm.* 30 (2004) 195–203.
- [6] M.M.A. Ong, H.L. Wang, Periodontic and orthodontic treatment in adults, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 122 (2002) 420–428.
- [7] P.E. Petersen, H. Ogawa, The global burden of periodontal disease : towards integration with chronic disease prevention and control, *Periodontol.* 2000. 60 (2012) 15–39.
- [8] B.L. Pihlstrom, B.S. Michalowicz, N.W. Johnson, Periodontal diseases, *Lancet*. 366 (2005).
- [9] M.E. Ryan, Nonsurgical Approaches for the Treatment of Periodontal Diseases, *Dent. Clin. North Am.* 49 (2005) 611–636.
- [10] A. Mombelli, L.P. Samaranayake, Topical and systemic antibiotics in the management of periodontal diseases \*, *Int. Dent. J.* 54 (2004) 3–14.
- [11] P. Meisel, T. Kocher, Photodynamic therapy for periodontal diseases : State of the art, *J. Photochem. Photobiol.* 79 (2005) 159–170.
- [12] S. Cortelli, J. Cortelli, M. Holzhausen, G. Franco, R. Rebelo, A. Sonagere, R. Cortelli, Essential oils in one-stage full-mouth disinfection : double-blind , randomized clinical trial of long-term clinical , microbial and salivary effects, *Clin. Periodontol.* 36 (2009) 333–342.

- [13] R. Nicoletti, A. Fiorentino, *Plant Bioactive Metabolites and Drugs Produced by Endophytic Fungi of Spermatophyta*, 2015.
- [14] M. sayeed Akhtar, M.K. Swamy, U.R. Sinniah, *Natural Bioactive Compounds Volume 1: Production and Applications*, Springer Nature Singapore Pte Ltd., Singapore, 2019.
- [15] C.I. Keeling, J. Bohlmann, Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens, *New Phytol.* 170 (2006) 657–675.
- [16] L.F. De Filippis, *Plant secondary metabolites: From molecular biology to health products*, *Plant-Environment Interact. Responses Approaches to Mitigate Stress*. 1 (2015) 263–300.
- [17] A. Crozier, M.N. Clifford, H. Ashihara, *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, Blackwell, Tokyo, 2006.
- [18] C. Tringali, *Bioactive Compounds from Natural Sources*, 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, 2012.
- [19] F. Rohdich, A. Bacher, W. Eisenreich, Isoprenoid biosynthetic pathways as anti-infective drug targets, *Biochem. Soc. Trans.* 33 (2005) 785–791.
- [20] K. Ramawat, J. Merillon, *Natural Products: Phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, Phenolics and Terpenes*, Springer, London, 2013.
- [21] S. Prabuseenivasan, M. Jayakumar, S. Ignacimuthu, In vitro antibacterial activity of some plant essential oils, *BMC Complement. Altern. Med.* 6 (2006) 1–8.
- [22] J. Petrović, D. Stojković, M. Soković, *Terpene core in selected aromatic and edible plants: Natural health improving agents*, 1st ed., Elsevier Inc., 2019.
- [23] T.P. Kondratyuk, J.M. Pezzuto, *Natural Product Polyphenols of Relevance to Human Health*, *Pharm. Biol.* 42 (2004) 46–63.
- [24] A.N. Li, S. Li, Y.J. Zhang, X.R. Xu, Y.M. Chen, H. Bin Li, Resources and biological activities of natural polyphenols, *Nutrients*. 6 (2014) 6020–6047.
- [25] C. Galanakis, *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*, Woodhead Publishing, United Kingdom, 2018.
- [26] M. Roberts, M. Wink, *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medical Application*, Springer Science + Business Media, New York, 1998.
- [27] W. Palletier, *The nature and definition of an alkaloid*, Institut of natural product

research, Georgia, 1983.

- [28] D. Wansi, K. Devkota, Prasad, E. Tshikalange, V. Kuete, 14 Alkaloids from the Medicinal Plants of Africa, *Med. Plant Res. Africa.* (2013) 557–606.
- [29] M. Eagleson, *Concise encyclopedia chemistry*, Walter de Gruyter, Belin, 1994.
- [30] D. de Sousa, *Bioactive Essential Oils and Cancer*, Springer, New York, 2015.
- [31] D. Kalembe, A. Kunicka, *Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils*, (2003) 813–829.
- [32] N. Solmaz MOHAMMADI, Ö. Hilal, B. Nurşen, *Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol*, *Turkish J. Pharm. Sci.* 14 (2017) 201–206.
- [33] G. regina Medeiros, *IMPREGNAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA (Eugenia caryophyllus) EM FILMES DE POLIETILENO LINEAR DE BAIXA DENSIDADE UTILIZANDO DIÓXIDO DE CARBONO EM ALTAS PRESSÕES*, Universidad Federal de Santa Catarina, 2017.
- [34] S. Hemaiswarya, M. Doble, *Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria*, *Phytomedicine.* 16 (2009) 997–1005.
- [35] J. Qiu, H. Feng, J. Lu, H. Xiang, D. Wang, J. Dong, J. Wang, X. Wang, J. Liu, X. Deng, *Eugenol reduces the expression of virulence-related exoproteins in Staphylococcus aureus*, *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (2010) 5846–5851.
- [36] A. Das, K. Harshadha, D.K.S. K, H.R. K, *Evaluation of Therapeutic Potential of Eugenol-A Natural Derivative of Syzygium aromaticum on Cervical Cancer*, 19 (2018) 1977–1985.
- [37] K. Pramod, M.R. Aji Alex, M. Singh, S. Dang, S.H. Ansari, J. Ali, *Eugenol nanocapsule for enhanced therapeutic activity against periodontal infections*, *J. Drug Target.* 24 (2016) 24–33.
- [38] S.M. Ali, A.A. Khan, I. Ahmed, M. Musaddiq, K.S. Ahmed, H. Polasa, L.V. Rao, C.M. Habibullah, L.A. Sechi, N. Ahmed, *Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen Helicobacter pylori*, *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 4 (2005) 1–7.
- [39] N. Sanla-Ead, A. Jangchud, V. Chonhenchob, P. Suppakul, *Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde and Eugenol and Their Activity after Incorporation into Cellulose-based Packaging Films*, *Packag. Technol. Sci.* 25 (2011) 7–17.
- [40] A.M. Leite, E. de O. Lima, E.L. de Souza, M. de F.F.M. Diniz, V.N. Trajano, I.A. de

- Medeiros, Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria, *Rev. Bras. Ciências Farm.* 43 (2007) 121–126.
- [41] T. Koh, Y. Murakami, S. Tanaka, M. Machino, H. Sakagami, Re-evaluation of anti-inflammatory potential of eugenol in il-1 $\beta$ -stimulated gingival fibroblast and pulp cells, *In Vivo (Brooklyn)*. 27 (2013) 269–273.
- [42] O. Sauperl, J. Tompa, J. Volmajer-valh, Influence of the Temperature on the Efficiency of Cellulose Treatment Using Copolymer Chitosan-Eugenol, *J. Eng. Fiber. Fabr.* 9 (2014) 107–114.
- [43] A. Martínez-Herrera, A. Pozos-Guillén, S. Ruiz-Rodríguez, A. Garrocho-Rangel, A. Vértiz-Hernández, D.M. Escobar-García, Effect of 4-Allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene (Eugenol) on Inflammatory and Apoptosis Processes in Dental Pulp Fibroblasts, *Mediators Inflamm.* 2016 (2016).
- [44] J. Vatanparast, S. Khalili, M. Naseh, Dual effects of eugenol on the neuronal excitability: An in vitro study, *Neurotoxicology*. 58 (2017) 84–91.
- [45] L.I.S. De Carvalho, D.J. Alvarenga, L.C.F. Do Carmo, L.G. De Oliveira, N.C. Silva, A.L.T. Dias, L.F.L. Coelho, T.B. De Souza, D.F. Dias, D.T. Carvalho, Antifungal Activity of New Eugenol-Benzoxazole Hybrids against *Candida* spp., *J. Chem.* 2017 (2017).
- [46] F.F.M. da Silva, F.J.Q. Monte, T.L.G. de Lemos, P.G.G. do Nascimento, A.K. de Medeiros Costa, L.M.M. de Paiva, Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities, *Chem. Cent. J.* 12 (2018) 1–9.
- [47] P. Rathinam, P. Viswanathan, Anti-virulence potential of eugenol-rich fraction of *Syzygium aromaticum* against multidrug resistant uropathogens isolated from catheterized patients, 8 (2018) 416–431.
- [48] K.A. Garrido-Miranda, B.L. Rivas, M.A. Pérez -Rivera, E.A. Sanfuentes, C. Peña-Farfal, Antioxidant and antifungal effects of eugenol incorporated in bionanocomposites of poly(3-hydroxybutyrate)-thermoplastic starch, *Lwt.* 98 (2018) 260–267.
- [49] N. Alvarado, J. Romero, A. Torres, C. López de Dicastillo, A. Rojas, M.J. Galotto, A. Guarda, Supercritical impregnation of thymol in poly(lactic acid) filled with electrospun poly(vinyl alcohol)-cellulose nanocrystals nanofibers: Development an

- active food packaging material, *J. Food Eng.* 217 (2017) 1–10.
- [50] A.M.A. Dias, A. Rey-Rico, R.A. Oliveira, S. Marceneiro, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, R.N.C. Júnior, M.E.M. Braga, H.C. De Sousa, Wound dressings loaded with an anti-inflammatory jucá (*Libidibia ferrea*) extract using supercritical carbon dioxide technology, *J. Supercrit. Fluids.* 74 (2013) 34–45.
- [51] A. Bouledjoudja, Y. Masmoudi, M. Sergent, V. Trivedi, A. Meniai, E. Badens, Drug loading of foldable commercial intraocular lenses using supercritical impregnation, *Int. J. Pharm.* 500 (2016) 85–99.
- [52] C.A. García-González, M. Jin, J. Gerth, C. Alvarez-Lorenzo, I. Smirnova, Polysaccharide-based aerogel microspheres for oral drug delivery, *Carbohydr. Polym.* 117 (2015) 797–806.
- [53] V. Prosapio, I. De Marco, M. Scognamiglio, E. Reverchon, Folic acid-PVP nanostructured composite microparticles by supercritical antisolvent precipitation, *Chem. Eng. J.* 277 (2015) 286–294.
- [54] F. Belhadj-Ahmed, E. Badens, P. Llewellyn, R. Denoyel, G. Charbit, Impregnation of vitamin E acetate on silica mesoporous phases using supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 51 (2009) 278–286.
- [55] A.N. Mustapa, A. Martin, L.M. Sanz-Moral, M. Rueda, M.J. Cocero, Impregnation of medicinal plant phytochemical compounds into silica and alginate aerogels, *J. Supercrit. Fluids.* 116 (2016) 251–263.
- [56] E. Tavassoli-Kafrani, H. Shekarchizadeh, M. Masoudpour-Behabadi, Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans, *Carbohydr. Polym.* 137 (2016) 360–374.
- [57] C.V. Dhumal, P. Sarkar, Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers, *J. Food Sci. Technol.* 55 (2018) 4369–4383.
- [58] C. Tan, B. Feng, X. Zhang, W. Xia, S. Xia, Biopolymer-coated liposomes by electrostatic adsorption of chitosan (chitosomes) as novel delivery systems for carotenoids, *Food Hydrocoll.* 52 (2016) 774–784.
- [59] D. Zujur, J. Álvarez Barreto, Prótesis en artroplastia total de cadera y recubrimientos bioactivos de quitosano para mejorar su desempeño, *Rev. Ing. Biomédica.* 10 (2016) 33–43.
- [60] P.N. Ezhilarasi, P. Karthik, N. Chhanwal, Nanoencapsulation Techniques for Food

- Bioactive Components : A Review, *Food Bioprocess Technol.* 6 (2013) 628–647.
- [61] L. Estrada, NANOENCAPSULACIÓN DE ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti*, Universidad Autónoma de Nuevo Leon, n.d.
- [62] M.J. Teng, Y.S. Wei, T.G. Hu, Y. Zhang, K. Feng, M.H. Zong, H. Wu, Citric acid cross-linked zein microcapsule as an efficient intestine-specific oral delivery system for lipophilic bioactive compound, *J. Food Eng.* 281 (2020) 109993.
- [63] B. Zêzere, A.L. Magalhães, I. Portugal, C.M. Silva, Diffusion coefficients of eucalyptol at infinite dilution in compressed liquid ethanol and in supercritical CO<sub>2</sub>/ethanol mixtures, *J. Supercrit. Fluids.* 133 (2018) 297–308.
- [64] M.A. Colín-Cruz, D.J. Pimentel-González, H. Carrillo-Navas, J. Alvarez-Ramírez, A.Y. Guadarrama-Lezama, Co-encapsulation of bioactive compounds from blackberry juice and probiotic bacteria in biopolymeric matrices, *Lwt.* 110 (2019) 94–101.
- [65] A. Tampau, C. González-martínez, A. Chiralt, Polyvinyl alcohol-based materials encapsulating carvacrol obtained by solvent casting and electrospinning, *React. Funct. Polym.* 153 (2020) 104603.
- [66] C. Burger, B.S. Hsiao, B. Chu, Nanofibrous materials and their applications, *Annu. Rev. Mater. Res.* 36 (2006) 333–368.
- [67] A. Prasad, M.R. Sankar, V. Katiyar, ScienceDirect State of Art on Solvent Casting Particulate Leaching Method for Orthopedic ScaffoldsFabrication, *Mater. Today Proc.* 4 (2017) 898–907.
- [68] M. Ranjbar-Mohammadi, S.H. Bahrami, Electrospun curcumin loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone)/gum tragacanth nanofibers for biomedical application, *Int. J. Biol. Macromol.* 84 (2016) 448–456.
- [69] W. Zhang, C. Huang, O. Kusmartseva, N.L. Thomas, E. Mele, Electrospinning of polylactic acid fibres containing tea tree and manuka oil, *React. Funct. Polym.* 117 (2017) 106–111.
- [70] N.T. Ardekani, M. Khorram, K. Zomorodian, S. Yazdanpanah, H. Veisi, H. Veisi, Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with *Zataria multiflora* essential oil as potential wound dressing, *Int. J. Biol. Macromol.* 125 (2019) 743–750.
- [71] U. Siemann, Solvent cast technology – a versatile tool for thin film production, (2005) 1–14.

- [72] J. Ahmed, M.Z. Mulla, Y.A. Arfat, Thermo-mechanical, structural characterization and antibacterial performance of solvent casted polylactide/cinnamon oil composite films, *Food Control*. 69 (2016) 196–204.
- [73] I. Liakos, L. Rizzello, D.J. Scurr, P.P. Pompa, I.S. Bayer, A. Athanassiou, All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties, *Int. J. Pharm.* 463 (2014) 137–145.
- [74] F. Talebi, A. MIsaghi, A. Khanjari, A. Kamkar, H. Gandomi, M. Saeedi, Evaluation of antimicrobial activity of Poly Lactic Acid (PLA) films containing cellulose nanoparticle and Bunium persicum and Mentha pepperita essential oils (EOs), *Iran. J. Vet. Med.* 11 (2017) 289–298.
- [75] Q. Yang, L. Chen, X. Shen, Z. Tan, Preparation of polycaprolactone tissue engineering scaffolds by improved solvent casting/particulate leaching method, *J. Macromol. Sci. Part B Phys.* 45 B (2006) 1171–1181.
- [76] M.M. Crowley, F. Zhang, M.A. Repka, S. Thumma, S.B. Upadhye, S.K. Battu, J.W. Mcginity, M.M. Crowley, F. Zhang, M.A. Repka, S. Thumma, S.B. Upadhye, S.K. Battu, J.W. Mcginity, C. Martin, M.M. Crowley, F. Zhang, M.A. Repka, S. Thumma, S.B. Upadhye, S. Kumar, J.W. Mcginity, *Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion : Part I Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion : Part I, Drug Dev. Ind. Pharm.* 33 (2007) 909–926.
- [77] R. Chokshi, H. Zia, Hot-Melt Extrusion Technique: A Review, *Iran. J. Pharm. Res.* 3 (2004) 3–16.
- [78] M.A. Repka, S. Shah, J. Lu, S. Maddineni, J. Morott, K. Patwardhan, N.N. Mohammed, Melt extrusion: Process to product, *Expert Opin. Drug Deliv.* 9 (2012) 105–125.
- [79] J. Breitenbach, Melt extrusion : from process to drug delivery technology, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 54 (2002) 107–117.
- [80] N. Gao, M. Guo, Q. Fu, Z. He, Application of hot melt extrusion to enhance the dissolution and oral bioavailability of oleanolic acid, *Asian J. Pharm. Sci.* 12 (2017) 66–72.
- [81] J. Piao, J.Y. Lee, J.W. Bae, C.J. Ma, H.J. Ko, D.D. Kim, W.S. Kang, H.J. Cho, Angelica gigas Nakai and soluplus-based solid formulations prepared by hot-melting extrusion: Oral absorption enhancing and memory ameliorating effects, *PLoS One*.

- 10 (2015) 1–19.
- [82] L.A.G. Pinho, S.G. Souza, R.N. Marreto, L.L. Sa-Barreto, T. Gratieri, G.M. Gelfuso, M. Cunha-Filho, Dissolution enhancement in cocoa extract, combining hydrophilic polymers through hot-melt extrusion, *Pharmaceutics*. 10 (2018).
- [83] M. Adnan, M.O.K. Azad, H.S. Ju, J.M. Son, C.H. Park, M.H. Shin, M. Alle, D.H. Cho, Development of biopolymer-mediated nanocomposites using hot-melt extrusion to enhance the bio-accessibility and antioxidant capacity of kenaf seed flour, *Appl. Nanosci.* 10 (2019) 1305–1317.
- [84] W. Wang, Q. Kang, N. Liu, Q. Zhang, Y. Zhang, H. Li, B. Zhao, Y. Chen, Y. Lan, Q. Ma, Q. Wu, Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of Ginkgo biloba extract by preparing solid dispersion via hot-melt extrusion, *Fitoterapia*. 102 (2015) 189–197.
- [85] R.B. Yoganathan, R. Mammucari, N.R. Foster, Dense gas processing of polymers, *Polym. Rev.* 50 (2010) 144–177.
- [86] E. Kiran, P. Debenedetti, C. Peters, *Supercritical fluids: Fundamental and applications*, Springer Nature Singapore Pte Ltd., Kermer, Turkey, 1998.
- [87] Y. Arai, T. Sako, Y. Takebayashi, *Supercritical Fluids: Molecular interaction, Physical Properties, and New applications*, Springer, Berlin, 2002.
- [88] J. Williams, A. Clifford, *Supercritical Fluid: Methods and Prothocols*, Humana Press, New Jersey, 2000.
- [89] E.D. Ramsey, *Analytical Supercritical Fluid Extraction Techniques*, Springer Science + Business Media, 1998.
- [90] S. Espinosa, P. Hegel, N. Gañán, *Extracción y Fraccionamiento Supercrítico de Aceites Naturales*, Ediuns, Bahía Blanca, 2021.
- [91] M.A. Mchugh, V.J. Krukoni, *Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice*, 2nd ed., BUTTERWORTH-HEINEMANN, london, 1994.
- [92] M. Luque de Castro, M. Calcárcel, M. Tena, *Analytical Supercritical Fluid Extraction*, Springer, Córdoba, 1994.
- [93] P. Gopaliya, P.R. Kamble, R. Kamble, C.S. Chauhan, A Review Article on Supercritical Fluid Chromatography, *Int. J. Pharma Res. Rev.* 3 (2014) 59–66.
- [94] N.A. Gañán, *Extracción y fraccionamiento de biocidas de origen natural mediante el uso de fluidos duperocríticos*, Universidad Nacional del Sur - Argentina, 2014.

- [95] M. Sihvonen, E. Järvenpää, V. Hietaniemi, R. Huopalahti, Advances in supercritical carbon dioxide technologies, *Trends Food Sci. Technol.* 10 (1999) 217–222.
- [96] G. Brunner, Applications of Supercritical Fluids, *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 1 (2010) 321–342.
- [97] Y. Yang, Y. Liang, J. Yang, F. Ye, T. Zhou, L. Gongke, Advances of supercritical fluid chromatography in lipid profiling, *J. Pharm. Anal.* 9 (2019) 1–8.
- [98] K. Zosel, Separation with Supercritical Gases: Practical Applications, *Angew. Chemie Int. Ed. English.* 17 (1978) 702–709.
- [99] G. Brunner, Applications of Supercritical Fluids, *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 1 (2010) 321–342.
- [100] M. Herrero, M. Castro-Puyana, J.A. Mendiola, E. Ibañez, Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 43 (2013) 67–83.
- [101] M. Yousefi, M. Rahimi-Nasrabadi, S.M. Pourmortazavi, M. Wysokowski, T. Jesionowski, H. Ehrlich, S. Mirsadeghi, Supercritical fluid extraction of essential oils, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 118 (2019) 182–193.
- [102] M.S. Liza, R. Abdul Rahman, B. Mandana, S. Jinap, A. Rahmat, I.S.M. Zaidul, A. Hamid, Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid from *Strobilanthes crispus* (Pecah Kaca), *Food Bioprod. Process.* 88 (2010) 319–326.
- [103] R.P.F.F. da Silva, T.A.P. Rocha-Santos, A.C. Duarte, Supercritical fluid extraction of bioactive compounds, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 76 (2016) 40–51.
- [104] Ž. Knez, M. Pantić, D. Cör, Z. Novak, M. Knez Hrnčič, Are supercritical fluids solvents for the future?, *Chem. Eng. Process. - Process Intensif.* 141 (2019).
- [105] B. Subramaniam, M.A. McHugh, Reactions in Supercritical Fluids—a Review, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 25 (1986) 1–12.
- [106] A.I. Cooper, Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide, *J. Mater. Chem.* 10 (2000) 207–234.
- [107] P. Yadav, M. Agrawal, A. Alexander, R. Patel, S. Siddique, S. Saraf, Ajazuddin, Polymer production and processing using supercritical carbon dioxide, Elsevier Inc., 2020.
- [108] C.L. Higginbotham, J.G.L. Yons, J.E. Kennedy, Polymer processing using supercritical fluids, *Adv. Polym. Process.* (2009) 384–401.
- [109] I. Kikic, F. Vecchione, Supercritical impregnation of polymers, *Curr. Opin. Solid*

- State Mater. Sci. 7 (2003) 399–405.
- [110] M. Champeau, T. Tassaing, In situ investigation of scCO<sub>2</sub> assisted impregnation of drug into polymer by, R. Soc. Chem. (2014).
- [111] M. Champeau, J.-M. Thomassin, T. Tassaing, C. Jérôme, Drug loading of sutures by supercritical CO<sub>2</sub> impregnation: effect of polymer/drug interactions and thermal transitions, *Macromol. Mater. Eng.* (2015) 596–610.
- [112] M.L. Goñi, N.A. Gañán, M.C. Strumia, R.E. Martini, Eugenol-loaded LLDPE films with antioxidant activity by supercritical carbon dioxide impregnation, *J. Supercrit. Fluids.* 111 (2016) 28–35.
- [113] I. Kikic, F. Vecchione, Supercritical impregnation of polymers, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 7 (2003) 399–405.
- [114] A. Ubeyitogullari, O.N. Ciftci, Generating phytosterol nanoparticles in nanoporous bioaerogels via supercritical carbon dioxide impregnation: Effect of impregnation conditions, *J. Food Eng.* 207 (2017) 99–107.
- [115] A. Ubeyitogullari, O.N. Ciftci, Phytosterol nanoparticles with reduced crystallinity generated using nanoporous starch aerogels, *RSC Adv.* 6 (2016) 108319–108327.
- [116] L. Manna, M. Banchemo, D. Sola, A. Ferri, S. Ronchetti, S. Sicardi, Impregnation of PVP microparticles with ketoprofen in the presence of supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Food Eng.* 42 (2007) 378–384.
- [117] I. García-Casas, C. Crampon, A. Montes, C. Pereyra, E.J. Martínez de la Ossa, E. Badens, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of silica microparticles with quercetin, *J. Supercrit. Fluids.* 143 (2019) 157–161.
- [118] S. Milovanovic, G. Hollermann, C. Errenst, J. Pajnik, S. Frerich, S. Kroll, K. Rezwan, J. Ivanovic, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of PLA/PCL films with natural substances for bacterial growth control in food packaging, *Food Res. Int.* 107 (2018) 486–495.
- [119] M. Díez-Municio, A. Montilla, M. Herrero, A. Olano, E. Ibáñez, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of lactulose on chitosan: A comparison between scaffolds and microspheres form, *J. Supercrit. Fluids.* 57 (2011) 73–79.
- [120] L.M. Comin, F. Temelli, M.D.A. Saldaña, Barley  $\beta$ -glucan aerogels as a carrier for flax oil via supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Food Eng.* 111 (2012) 625–631.
- [121] A. Berens, G. Huvard, R. Korsmeter, F.W. Kunig, Application of Compressed Carbon

- Dioxide in the Incorporation of Additives into Polymers, *J. Appl. Polym. Sci.* 46 (1992) 231–242.
- [122] S. Lin, J. Yang, J. Yan, Y. Zhao, B. Yang, Sorption and diffusion of supercritical carbon dioxide in a biodegradable polymer, *J. Macromol. Sci. Part B Phys.* 49 (2010) 286–300.
- [123] O. Muth, T. Hirth, H. Vogel, Investigation of sorption and diffusion of supercritical carbon dioxide into poly(vinyl chloride), *J. Supercrit. Fluids.* 19 (2001) 299–306.
- [124] S.G. Kazarian, M.F. Vincent, F. V. Bright, C.L. Liotta, C.A. Eckert, Specific intermolecular interaction of carbon dioxide with polymers, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 1729–1736.
- [125] J. von Schnitzler, R. Eggers, Mass transfer in polymers in a supercritical CO<sub>2</sub>-atmosphere, *J. Supercrit. Fluids.* 16 (1999) 81–92.
- [126] Y. Sato, T. Takikawa, S. Takishima, H. Masuoka, Solubilities and diffusion coefficients of carbon dioxide in poly(vinyl acetate) and polystyrene, *J. Supercrit. Fluids.* 19 (2001) 187–198.
- [127] M. Tang, Y.C. Huang, Y.P. Chen, Sorption and diffusion of supercritical carbon dioxide into polysulfone, *J. Appl. Polym. Sci.* 94 (2004) 474–482.
- [128] C. Cravo, A.R.C. Duarte, C.M.M. Duarte, Solubility of carbon dioxide in a natural biodegradable polymer: Determination of diffusion coefficients, *J. Supercrit. Fluids.* 40 (2007) 194–199.
- [129] J. Yu, C. Tang, Y. Guan, S. Yao, Z. Zhu, Sorption and diffusion behavior of carbon dioxide into poly(L-lactic acid) films at elevated pressures, *Chinese J. Chem. Eng.* 21 (2013) 1296–1302.
- [130] E. Aionicesei, M. Škerget, Ž. Knez, Measurement of CO<sub>2</sub> solubility and diffusivity in poly(L-lactide) and poly(D,L-lactide-co-glycolide) by magnetic suspension balance, *J. Supercrit. Fluids.* 47 (2008) 296–301.
- [131] M. Pantoula, C. Panayiotou, Sorption and swelling in glassy polymer/carbon dioxide systems: Part I. Sorption, *J. Supercrit. Fluids.* 37 (2006) 254–262.
- [132] H.R. Azimi, M. Rezaei, Solubility and diffusivity of carbon dioxide in St-MMA copolymers, *J. Chem. Thermodyn.* 58 (2013) 279–287.
- [133] J. Ivanovic, S. Knauer, A. Fanovich, S. Milovanovic, M. Stamenic, P. Jaeger, I. Zizovic, R. Eggers, Supercritical CO<sub>2</sub> sorption kinetics and thymol impregnation of PCL and

- PCL-HA, *J. Supercrit. Fluids*. 107 (2016) 486–498.
- [134] J.R. Fried, W. Li, C. Engineering, High-pressure FTIR Studies of Gas-Polymer Interactions, *J. Appl. Polym. Sci.* 41 (1990) 1123–1131.
- [135] J.H. Aubert, Solubility of carbon dioxide in polymers by the quartz crystal microbalance technique, 11 (1998) 163–172.
- [136] A.R. Berens, G.S. Huvar, R.W. Kormeyer, F.W. Kunig, Application of compressed carbon dioxide in the incorporation of additives into polymers, *J. Appl. Polym. Sci.* 46 (1992) 231–242.
- [137] M. Tang, T.B. Du, Y.P. Chen, Sorption and diffusion of supercritical carbon dioxide in polycarbonate, *J. Supercrit. Fluids*. 28 (2004) 207–218.
- [138] A.R.C. Duarte, C. Martins, P. Coimbra, M.H.M. Gil, H.C. de Sousa, C.M.M. Duarte, Sorption and diffusion of dense carbon dioxide in a biocompatible polymer, *J. Supercrit. Fluids*. 38 (2006) 392–398.
- [139] S.G. Kazarian, N.H. Brantley, B.L. West, M.F. Vincent, C.A. Eckert, In situ spectroscopy of polymers subjected to supercritical CO<sub>2</sub>: Plasticization and dye impregnation, *Appl. Spectrosc.* 51 (1997) 491–494.
- [140] T. Miyoshi, K. Takegoshi, T. Terao, <sup>13</sup>C high-pressure CPMAS NMR characterization of the molecular motion of polystyrene plasticized by CO<sub>2</sub> gas, *Macromolecules*. 30 (1997) 6582–6585.
- [141] P. Alessi, A. Cortesi, I. Kikic, F. Vecchione, Plasticization of polymers with supercritical carbon dioxide: Experimental determination of glass-transition temperatures, *J. Appl. Polym. Sci.* 88 (2003) 2189–2193.
- [142] Z. Zhong, S. Zheng, Y. Mi, High-pressure DSC study of thermal transitions of a poly(ethylene terephthalate)/carbon dioxide system, *Polymer (Guildf)*. 40 (1999) 3829–3834.
- [143] Y.P. Handa, J. Roovers, F. Wang, Effect of Thermal Annealing and Supercritical Fluids on the Crystallization Behavior of Methyl-Substituted Poly(aryl ether ether ketone), *Macromolecules*. 27 (1994) 5511–5516.
- [144] M. Takada, S. Hasegawa, M. Ohshima, Crystallization kinetics of poly(L-lactide) in contact with pressurized CO<sub>2</sub>, *Polym. Eng. Sci.* 44 (2004) 186–196.
- [145] R. Yoganathan, R. Mammucari, N.R. Foster, Impregnation of Ibuprofen into Polycaprolactone using supercritical carbon dioxide, *J. Phys. Conf. Ser.* 215 (2010)

012087.

- [146] S.G. Kazarian, Polymer Processing with Supercritical Fluids, *Polym. Sci.* 42 (2000) 78–101.
- [147] M.A. Fanovich, J. Ivanovic, D. Mistic, M. V. Alvarez, P. Jaeger, I. Zizovic, R. Eggers, Development of polycaprolactone scaffold with antibacterial activity by an integrated supercritical extraction and impregnation process, *J. Supercrit. Fluids.* 78 (2013) 42–53.
- [148] O.S. Fleming, F. Stepanek, S.G. Kazarian, Dye diffusion in polymer films subjected to supercritical CO<sub>2</sub>: Confocal raman microscopy and modelling, *Macromol. Chem. Phys.* 206 (2005) 1077–1083.
- [149] S. Sicardi, L. Manna, M. Banchemo, Diffusion of disperse dyes in PET films during impregnation with a supercritical fluid, *J. Supercrit. Fluids.* 17 (2000) 187–194.
- [150] M.L. Goñi, N.A. Gañán, R.E. Martini, A.E. Andreatta, Carvone-loaded LDPE films for active packaging: Effect of supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation on loading, mechanical and transport properties of the films, *J. Supercrit. Fluids.* 133 (2018) 278–290.
- [151] D.L. Gurina, Y.A. Budkov, M.G. Kiselev, A molecular insight into poly(methyl methacrylate) impregnation with mefenamic acid in supercritical carbon dioxide: A computational simulation, *J. Mol. Liq.* 337 (2021) 116424.
- [152] O.I. Gromov, M.O. Kostenko, A. V. Petrunin, A.A. Popova, O.O. Parenago, N. V. Minaev, E.N. Golubeva, M.Y. Melnikov, Solute diffusion into polymer swollen by supercritical CO<sub>2</sub> by high-pressure electron paramagnetic resonance spectroscopy and chromatography, *Polymers (Basel).* 13 (2021).
- [153] L.M. Comin, F. Temelli, M.D.A. Saldaña, Impregnation of flax oil in pregelatinized corn starch using supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Supercrit. Fluids.* 61 (2012) 221–228.
- [154] C.C. Bastante, L.C. Cardoso, C.M. Serrano, E.J.M. De Ossa, The Journal of Supercritical Fluids Supercritical impregnation of food packaging films to provide antioxidant properties, *J. Supercrit. Fluids.* 128 (2017) 200–207.
- [155] A.C. De Souza, A.M.A. Dias, H.C. Sousa, C.C. Tadini, Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging, *Carbohydr. Polym.* 102 (2014) 830–837.

- [156] S. Milovanovic, M. Stamenic, D. Markovic, M. Radetic, I. Zizovic, Solubility of thymol in supercritical carbon dioxide and its impregnation on cotton gauze, *J. Supercrit. Fluids*. 84 (2013) 173–181.
- [157] G.R. Medeiros, S.R.S. Ferreira, B.A.M. Carciofi, High pressure carbon dioxide for impregnation of clove essential oil in LLDPE films, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 41 (2017) 206–215.
- [158] A. Rojas, D. Cerro, A. Torres, M.J. Galotto, A. Guarda, J. Romero, Supercritical impregnation and kinetic release of 2-nonanone in LLDPE films used for active food packaging, *J. Supercrit. Fluids*. 104 (2015) 76–84.
- [159] E.H. Chimowitz, F.D. Kelley, F.M. Munoz, ANALYSIS OF RETROGRADE BEHAVIOR AND THE CROSS-OVER, 44 (1988) 23–52.
- [160] A.R.C. Duarte, J.F. Mano, R.L. Reis, Dexamethasone-loaded scaffolds prepared by supercritical-assisted phase inversion, *Acta Biomater.* 5 (2009) 2054–2062.
- [161] A. Rojas, A. Torres, M.J. Galotto, A. Guarda, Supercritical impregnation for food applications : a review of the effect of the operational variables on the active compound loading, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 0 (2019) 1–12.
- [162] M. Belizón, M.T. Fernández-Ponce, L. Casas, C. Mantell, E.J. Martínez De La Ossa-Fernández, Supercritical impregnation of antioxidant mango polyphenols into a multilayer PET/PP food-grade film, *J. CO2 Util.* 25 (2018) 56–67.
- [163] S. Milovanovic, M. Stamenic, D. Markovic, J. Ivanovic, I. Zizovic, Supercritical impregnation of cellulose acetate with thymol, *J. Supercrit. Fluids*. 97 (2015) 107–115.
- [164] A.P. Almeida, S. Rodríguez-Rojo, A.T. Serra, H. Vila-Real, A.L. Simplicio, I. Delgadilho, S. Beirão Da Costa, L. Beirão Da Costa, I.D. Nogueira, C.M.M. Duarte, Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 20 (2013) 140–145.
- [165] A.M.A. Dias, M.E.M. Braga, I.J. Seabra, P. Ferreira, M.H. Gil, H.C. De Sousa, Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide, *Int. J. Pharm.* 408 (2011) 9–19.
- [166] L.I. Cabezas, I. Gracia, M.T. García, A. De Lucas, J.F. Rodríguez, Production of biodegradable porous scaffolds impregnated with 5-fluorouracil in supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Supercrit. Fluids*. 80 (2013) 1–8.

- [167] J. Knors, Christopher, Y. Tropsha, N. Harvey, C. Richard, Tropsha, Method of Impregnating Polymeric Medical Devices With Triclosan, US 2003/0133831 A1, 2003.
- [168] Q. Xu, Y. Chang, Complex interactions among additive/supercritical CO<sub>2</sub>/polymer ternary systems and factors governing the impregnation efficiency, *J. Appl. Polym. Sci.* 93 (2004) 742–748.
- [169] K. Sugiura, S. Ogawa, I. Tabata, T. Hori, Impregnation of tranilast to the poly(lactic acid) fiber with supercritical carbon dioxide and the release behavior of tranilast, *J. Fiber Sci. Technol.* 61 (2005) 159–165.
- [170] M.T. Fernández-Ponce, E. Medina-Ruiz, L. Casas, C. Mantell, E.J. Martínez de la Ossa-Fernández, Development of cotton fabric impregnated with antioxidant mango polyphenols by means of supercritical fluids, *J. Supercrit. Fluids.* 140 (2018) 310–319.
- [171] P. Franco, L. Incarnato, I. De Marco, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of  $\alpha$ -tocopherol into PET/PP films for active packaging applications, *J. CO<sub>2</sub> Util.* 34 (2019) 266–273.
- [172] J. Pajnik, M. Stamenić, M. Radetić, S. Tomanović, R. Sukara, D. Mihaljica, I. Zizovic, Impregnation of cotton fabric with pyrethrum extract in supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 128 (2017) 66–72.
- [173] D. Marković, S. Milovanović, K. De Clerck, I. Zizovic, D. Stojanović, M. Radetić, Development of material with strong antimicrobial activity by high pressure CO<sub>2</sub> impregnation of polyamide nanofibers with thymol, *J. CO<sub>2</sub> Util.* 26 (2018) 19–27.
- [174] A. Bouledjoudja, Y. Masmoudi, Y. Li, W. He, E. Badens, Supercritical impregnation and optical characterization of loaded foldable intraocular lenses using supercritical fluids, *J. Cataract Refract. Surg.* 43 (2017) 1343–1349.
- [175] K. Ongkasin, Y. Masmoudi, C.M. Wertheimer, A. Hillenmayer, K.H. Eibl-Lindner, E. Badens, Supercritical fluid technology for the development of innovative ophthalmic medical devices: Drug loaded intraocular lenses to mitigate posterior capsule opacification, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 149 (2020) 248–256.
- [176] Y. Yokozaki, J. Sakabe, Y. Shimoyama, Enhanced impregnation of hydrogel contact lenses with salicylic acid by addition of water in supercritical carbon dioxide, *Chem.*

- Eng. Res. Des. 104 (2015) 203–207.
- [177] A.A. Barros, C. Oliveira, R.L. Reis, E. Lima, A.R.C. Duarte, Ketoprofen-eluting biodegradable ureteral stents by CO<sub>2</sub> impregnation: In vitro study, *Int. J. Pharm.* 495 (2015) 651–659.
- [178] M. Villegas, A.L. Oliveira, R.C. Bazito, P. Vidinha, Development of an integrated one-pot process for the production and impregnation of starch aerogels in supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 154 (2019) 104592.
- [179] N. Ganañ, M.G. Bordón, P.D. Ribotta, A. González, Study of chia oil microencapsulation in soy protein microparticles using supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation, *J. CO<sub>2</sub> Util.* 40 (2020) 101221.
- [180] C. Kleemann, R. Schuster, E. Rosenecker, I. Selmer, I. Smirnova, U. Kulozik, In-vitro digestion and swelling kinetics of whey protein, egg white protein and sodium caseinate aerogels, *Food Hydrocoll.* 101 (2020) 105534.
- [181] E. Gracia, M.T. García, J.F. Rodríguez, A. de Lucas, I. Gracia, Improvement of PLGA loading and release of curcumin by supercritical technology, *J. Supercrit. Fluids.* 141 (2018) 60–67.
- [182] P. Marizza, L. Pontoni, T. Rindzevicius, J.F. Alopaeus, K. Su, J.A. Zeitler, S.S. Keller, I. Kikic, M. Moneghini, N. De Zordi, D. Solinas, A. Cortesi, A. Boisen, Supercritical impregnation of polymer matrices spatially confined in microcontainers for oral drug delivery: Effect of temperature, pressure and time, *J. Supercrit. Fluids.* 107 (2016) 145–152.
- [183] J. Djuris, S. Milovanovic, D. Medarevic, V. Dobricic, A. Dapčević, S. Ibric, Selection of the suitable polymer for supercritical fluid assisted preparation of carvedilol solid dispersions, *Int. J. Pharm.* 554 (2019) 190–200.
- [184] M. Pantić, Ž. Knez, Z. Novak, Supercritical impregnation as a feasible technique for entrapment of fat-soluble vitamins into alginate aerogels, *J. Non. Cryst. Solids.* 432 (2016) 519–526.
- [185] M. Champeau, I.T. Coutinho, J.M. Thomassin, T. Tassaing, C. Jérôme, Tuning the release profile of ketoprofen from poly(L-lactic acid) suture using supercritical CO<sub>2</sub> impregnation process, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 55 (2020) 101468.
- [186] K. anne Johnson, N. Muzzin, S. Toufanian, R.A. Slick, M.W. Lawlor, B. Seifried, P. Moquin, D. Latulippe, T. Hoare, Drug-impregnated, pressurized gas expanded

- liquid-processed alginate hydrogel scaffolds for accelerated burn wound healing, *Acta Biomater.* 112 (2020) 101–111.
- [187] L. Meneses, R. Craveiro, A.R. Jesus, M.A.M. Reis, F. Freitas, A. Paiva, Supercritical CO<sub>2</sub> assisted impregnation of ibuprofen on medium-chain-length polyhydroxyalkanoates (mcl-PHA), *Molecules.* 26 (2021) 1–12.
- [188] I. Álvarez, C. Gutiérrez, J.F. Rodríguez, A. De Lucas, M.T. García, Production of drug-releasing biodegradable microporous scaffold impregnated with gemcitabine using a CO<sub>2</sub>foaming process, *J. CO<sub>2</sub> Util.* 41 (2020) 101227.
- [189] A. Ferri, M. Banchemo, L. Manna, S. Sicardi, Dye uptake and partition ratio of disperse dyes between a PET yarn and supercritical carbon dioxide, 37 (2006) 107–114.
- [190] L.C.S. Herek, R.C. Oliveira, A.F. Rubira, N. Pinheiro, Impregnation of pet films and PHB granules with curcumin in supercritical CO<sub>2</sub>, *Brazilian J. Chem. Eng.* 23 (2006) 227–234.
- [191] K. Gong, M. Branden, M. Patel, I. Rehman, Z. Zhang, J. Darr, Hydrotrophy: A promising tool for solubility enhancement: A review, *Int. J. Drug Dev. Res.* 96 (2007) 2048–2056.
- [192] Z. Shen, G.S. Huvard, C.S. Warriner, M. Mc Hugh, J.L. Banyasz, M.K. Mishra, CO<sub>2</sub>-assisted fiber impregnation, *Polymer (Guildf).* 49 (2008) 1579–1586.
- [193] J.M. Andanson, A. López-Periago, C.A. García-González, C. Domingo, S.G. Kazarian, Spectroscopic analysis of triflusal impregnated into PMMA from supercritical CO<sub>2</sub> solution, *Vib. Spectrosc.* 49 (2009) 183–189.
- [194] M. Banchemo, L. Manna, S. Ronchetti, P. Campanelli, A. Ferri, Supercritical solvent impregnation of piroxicam on PVP at various polymer molecular weights, *J. Supercrit. Fluids.* 49 (2009) 271–278.
- [195] F. De Almeida Fin de Lima, O.A.A. Dos Santos, N. Pinheiro, Impregnação de filmes do compósito de policarbonato (PC) e sílica-gel (Si) com corante fotocromico em fluido supercrítico, *Acta Sci. - Technol.* 32 (2010) 69–74.
- [196] S. Varona, S. Rodríguez-Rojo, Á. Martín, M.J. Cocero, C.M.M. Duarte, Supercritical impregnation of lavandin (*Lavandula hybrida*) essential oil in modified starch, *J. Supercrit. Fluids.* 58 (2011) 313–319.
- [197] C. Tsutsumi, N. Fukukawa, J. Sakafuji, K. Oro, K. Hata, N. Yuushou, T. Shiono,

- Impregnation of Poly(L-lactide-ran-cyclic carbonate) Copolymers with Useful Compounds with Supercritical Carbon Dioxide, *Polym. Polym. Compos.* 121 (2011) 1431–144.
- [198] Y. Masmoudi, L. Ben Azzouk, O. Forzano, J.M. Andre, E. Badens, Supercritical impregnation of intraocular lenses, *J. Supercrit. Fluids.* 60 (2011) 98–105.
- [199] Y.A. Hussain, C.S. Grant, Ibuprofen impregnation into submicron polymeric films in supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 71 (2012) 127–135.
- [200] S. Milovanovic, M. Radetic, D. Mistic, S. Asanin, Z. Irena, High pressure modified cotton in wound dressing applications, in: *Cott. Fibers Charact. Uses Perform.*, Nova Science Publishers, New York, 2017: pp. 177–206.
- [201] A. Torres, J. Romero, A. Macan, A. Guarda, M.J. Galotto, Near critical and supercritical impregnation and kinetic release of thymol in LLDPE films used for food packaging, *J. Supercrit. Fluids.* 85 (2014) 41–48.
- [202] S. Milovanovic, I. Jankovic-Castvan, J. Ivanovic, I. Zizovic, Effect of starch xero- And aerogels preparation on the supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of thymol, *Starch/Staerke.* 67 (2015) 174–182.
- [203] S. Milovanovic, D. Markovic, K. Aksentijevic, D.B. Stojanovic, J. Ivanovic, I. Zizovic, Application of cellulose acetate for controlled release of thymol, *Carbohydr. Polym.* 147 (2016) 344–353.
- [204] M.L. Goñi, J.M. Gañan, Nicolas Alberto Herrera, M.C. Strumia, A.E. Andreatta, R.E. Martini, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of LDPE films with terpene ketones as biopesticides against cornweevil (*Sitophilus zeamais*), *Enviado a J. Supercrit. Fluids.* 122 (2016) 18–26.
- [205] D.R.C. Pascoal, E.C.M. Cabral-Albuquerque, E.S. Velozo, H.C. de Sousa, S.A.B.V. de Melo, M.E.M. Braga, Copaiba oil-loaded commercial wound dressings using supercritical CO<sub>2</sub>: A potential alternative topical antileishmanial treatment, *J. Supercrit. Fluids.* (2016).
- [206] W.M. Giufrida, F.A. Voll, A.C. Feihmann, M.H. Kunita, E.H. Madureira, M.R. Guilherme, D.R.L. Vedoy, V.F. Cabral, L. Cardozo-Filho, Production of microparticles of PHBV polymer impregnated with progesterone by supercritical fluid technology, *Can. J. Chem. Eng.* 94 (2016) 1336–1341.
- [207] A. Rojas, A. Torres, F. Martínez, L. Salazar, C. Villegas, M. José Galotto, A. Guarda,

- J. Romero, Assessment of kinetic release of thymol from LDPE nanocomposites obtained by supercritical impregnation: Effect of depressurization rate and nanoclay content, *Eur. Polym. J.* 93 (2017) 294–306.
- [208] M.L. Goñi, N.A. Gañán, J.M. Herrera, M.C. Strumia, A.E. Andreatta, R.E. Martini, Supercritical CO<sub>2</sub> iof LDPE films with terpene ketones as biopesticides against corn weevil (*Sitophilus zeamais*), *J. Supercrit. Fluids.* 122 (2017) 18–26.
- [209] J. Pajnik, M. Stamenić, M. Radetić, S. Tomanović, R. Sukara, D. Mihaljica, I. Zizovic, Impregnation of cotton fabric with pyrethrum extract in supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 128 (2017) 66–72.
- [210] J. Sanchez-Sanchez, M. Fernández-Ponce, L. Casas, C. Mantell, E.J. Martínez de la Ossa, Impregnation of mango leaf extract into a polyester textile using supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 128 (2017) 208–217.
- [211] M.L. Goñi, N.A. Gañán, R.E. Martini, A.E. Andreatta, The Journal of Supercritical Fluids Carvone-loaded LDPE fi lms for active packaging : Effect of supercritical CO<sub>2</sub> - assisted impregnation on loading , mechanical and transport properties of the fi lms, 133 (2018) 278–290.
- [212] Y. Yokozaki, Y. Shimoyama, Loading of vitamin E into silicone hydrogel by supercritical carbon dioxide impregnation toward controlled release of timolol maleate, *J. Supercrit. Fluids.* 131 (2018) 11–18.
- [213] C. V. da Silva, V.J. Pereira, G.M.N. Costa, E.C.M. Cabral-Albuquerque, S.A.B. Vieira de Melo, H.C. de Sousa, A.M.A. Dias, M.E.M. Braga, Supercritical solvent impregnation/deposition of spilanthol-enriched extracts into a commercial collagen/cellulose-based wound dressing, *J. Supercrit. Fluids.* 133 (2018) 503–511.
- [214] I. García-Casas, C. Crampon, A. Montes, C. Pereyra, E.J. Martínez de la Ossa, E. Badens, Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of silica microparticles with quercetin, *J. Supercrit. Fluids.* 143 (2019) 157–161.
- [215] R. Campardelli, P. Franco, E. Reverchon, I. De Marco, Polycaprolactone/nimesulide patches obtained by a one-step supercritical foaming+impregnation process, *J. Supercrit. Fluids.* 146 (2019) 47–54.
- [216] G. Dhoot, R. Auras, M. Rubino, K. Dolan, H. Soto-Valdez, Determination of eugenol diffusion through LLDPE using FTIR-ATR flow cell and HPLC techniques, *Polymer (Guildf).* 50 (2009) 1470–1482.

- [217] F. Muratore, R.E. Martini, S.E. Barbosa, Bioactive paper by eugenol grafting onto cellulose. Effect of reaction variables, *Food Packag. Shelf Life*. 15 (2018) 159–168.
- [218] Von Moody, H.L. Needles, Major Fibers and Their Properties, Tufted Carpet Text. Fibers, Dye. Finish. Process. A Vol. Plast. Des. Libr. (2004) 35–59.
- [219] U. Klun, A. Kržan, Degradation of polyamides-6 by using metal salts as catalyst, *Polym. Adv. Technol.* 13 (2002) 817–822.
- [220] K.W. Cheng, S.J. Kuo, M. Tang, Y.P. Chen, Vapor-liquid equilibria at elevated pressures of binary mixtures of carbon dioxide with methyl salicylate, eugenol, and diethyl phthalate, *J. Supercrit. Fluids*. 18 (2000) 87–99.
- [221] K. Pramod, S.H. Ansari, J. Ali, Development and validation of UV spectrophotometric method for the quantitative estimation of eugenol, 3 (2013) 58–61. [file:///C:/Users/others/Dropbox/Artigos/Artigos/quantitative estimation of eugenol.pdf](file:///C:/Users/others/Dropbox/Artigos/Artigos/quantitative%20estimation%20of%20eugenol.pdf).
- [222] M.L. Goñi, N.A. Gañan, R.E. Martini, M.C. Strumia, Mass transfer kinetics and diffusion coefficient estimation of bioinsecticide terpene ketones in LDPE films obtained by supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation, *J. Appl. Polym. Sci.* 134 (2017) 45558.
- [223] A.B. Boland, K. Buhr, P. Giannouli, S.M. Van Ruth, Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems, *Food Chem.* 86 (2004) 401–411.
- [224] T. Anekpankul, M. Goto, M. Sasaki, P. Pavasant, A. Shotipruk, Extraction of anti-cancer damnacanthol from roots of *Morinda citrifolia* by subcritical water, *Sep. Purif. Technol.* 55 (2007) 343–349.
- [225] M.F. Barrera Vázquez, L.R. Comini, J.M. Milanesio, S.C. Núñez Montoya, J.L. Cabrera, S. Bottini, R.E. Martini, Pressurized hot water extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae), *J. Supercrit. Fluids*. 101 (2015) 170–175.
- [226] M.A. Desai, J. Parikh, A.K. De, Chemical Engineering Research and Design Modelling and optimization studies on extraction of lemongrass oil from *Cymbopogon flexuosus* ( Steud .) Wats, *Chem. Eng. Res. Des.* 92 (2013) 793–803.
- [227] R. Dutta, U. Sarkar, A. Mukherjee, Pseudo-kinetics of batch extraction of *Crotalaria juncea* ( Sunn hemp ) seed oil using 2-propanol, *Ind. Crop. Prod.* 87 (2016) 9–13.

- [228] J. Crank, *The Mathematics of Diffusion*, 2nd ed., Oxford University Press, London, 1975.
- [229] T.F. Meyabadi, M.R.M. Mojtahedi, S.A.M. Shoushtari, Melt spinning of reused nylon 6: Structure and physical properties of as-spun, drawn, and textured filaments, *J. Text. Inst.* 101 (2010) 527–537.
- [230] E. Kiran, Supercritical fluids and polymers – The year in review – 2014, *J. Supercrit. Fluids.* 110 (2016) 126–153.
- [231] F.F.M. da Silva, F.J.Q. Monte, T.L.G. de Lemos, P.G.G. do Nascimento, A.K. de Medeiros Costa, L.M.M. de Paiva, Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities, *Chem. Cent. J.* 12 (2018) 1–9.
- [232] A. Salerno, S. Diéguez, L. Diaz-Gomez, J.L. Gómez-Amoza, B. Magariños, A. Concheiro, C. Domingo, C. Alvarez-Lorenzo, C.A. García-González, Synthetic scaffolds with full pore interconnectivity for bone regeneration prepared by supercritical foaming using advanced biofunctional plasticizers, *Biofabrication.* 9 (2017) 035002.
- [233] A.C. De Souza, A.M.A. Dias, H.C. Sousa, C.C. Tadini, Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging, *Carbohydr. Polym.* 102 (2014) 830–837.
- [234] M.L. Goñi, N.A. Gañán, S.E. Barbosa, M.C. Strumia, R.E. Martini, Supercritical CO<sub>2</sub>-assisted impregnation of LDPE/sepiolite nanocomposite films with insecticidal terpene ketones: impregnation yield, crystallinity and mechanical properties assessment, *J. Supercrit. Fluids.* 130 (2017) 337–346.
- [235] O.S. Fleming, S.G. Kazarian, *Polymer Processing with Supercritical Fluids*, *Supercrit. Carbon Dioxide Polym. React. Eng.* (2006) 205–238.
- [236] J.D. Martinache, J.R. Royer, S. Siripurapu, F.E. Hénon, J. Genzer, S.A. Khan, R.G. Carbonell, Processing of polyamide 11 with supercritical carbon dioxide, *Ind. Eng. Chem. Res.* 40 (2001) 5570–5577.
- [237] K.F. Webb, A.S. Teja, Solubility and diffusion of carbon dioxide in polymers, *Fluid Phase Equilib.* 158–160 (1999) 1029–1034.
- [238] J. Siepmann, R. Siegel, M. Rathbone, *Fundamentals and Applications of Controlled*

Release Drug Delivery, Springer, London, 2012.

- [239] R. Penthala, G. Heo, H. Kim, I. Yeol, E. Hee, Y. Son, Synthesis of azo and anthraquinone dyes and dyeing of nylon-6, 6 in supercritical carbon dioxide, *J. CO2 Util.* 38 (2020) 49–58.
- [240] V. Compañ, L.F. Del Castillo, S.I. Hernández, M. Mar López-González, E. Riande, Crystallinity effect on the gas transport in semicrystalline coextruded films based on linear low density polyethylene, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 48 (2009) 634–642.
- [241] W.R. Brown, R.B. Jenkins, G.S. Park, The sorption and diffusion of small Molecules in amorphous and crystalline polybutadienes, *67* (1973) 45–67.
- [242] V. V. Pchelintsev, A.Y. Sokolov, G.E. Zaikov, Effect of chemical structure and crystallinity on sorption, diffusion and chemical stability of polyurethaneacetals, *Polym. Degrad. Stab.* 19 (1987) 125–134.
- [243] T. Kim, B. Seo, G. Park, Y. Lee, The Journal of Supercritical Fluids Predicting diffusion behavior of disperse dyes in polyester fibers by a method based on extraction, *J. Supercrit. Fluids.* 157 (2020) 104685.
- [244] W. Fred, J. Billmeyer, Textbook of polymer science, 3rd ed., John Wiley & Son, Newyork, 1984.
- [245] G.R. Medeiros, S.R.S. Ferreira, B.A.M. Carciofi, High pressure carbon dioxide for impregnation of clove essential oil in LLDPE films, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 41 (2017) 206–215.
- [246] E. Adeli, The use of supercritical anti-solvent (SAS) technique for preparation of Irbesartan-Pluronic® F-127 nanoparticles to improve the drug dissolution, *Powder Technol.* 298 (2016) 65–72.
- [247] L.G.P. Tienne, S.B. Cordeiro, E.B. Brito, M. de F. Vieira Marques, Microcrystalline cellulose treated by steam explosion and used for thermo-mechanical improvement of polypropylene, *J. Compos. Mater.* 54 (2020) 3611–3624.
- [248] T. Pielhop, J. Amgarten, P.R. Von Rohr, M.H. Studer, Steam explosion pretreatment of softwood: The effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility, *Biotechnol. Biofuels.* 9 (2016) 1–13.
- [249] P. Chaves, J. Oliveira, A. Haas, R.C.R. Beck, Applications of polymeric nanoparticles in oral diseases: A review of recent findings, *Curr. Pharm. Des.* 24 (2018) 1377–

1394.

- [250] E. Bach, E. Cleve, E. Schollmeyer, Past, present and future of supercritical fluid dyeing technology - an overview, *Rev. Prog. Color.* 32 (2002).
- [251] Howa Co., Ltd., (2001). <https://www.hisaka.co.jp/food/?c=zoom%26;pk=33> (accessed March 24, 2021).
- [252] M. Banchemo, S. Sicardi, A. Ferri, L. Manna, Supercritical Dyeing of Textiles — From the Laboratory Apparatus to the Pilot Plant, *Text. Res. J.* 78 (2008) 217–223.
- [253] Masson Group Co., Ltd, (2008). <http://www.masson.com.cn/cn/NewsInfo.aspx?id=432> (accessed March 24, 2021).
- [254] J.J. Long, H.M. Xu, C.L. Cui, X.C. Wei, F. Chen, A.K. Cheng, A novel plant for fabric rope dyeing in supercritical carbon dioxide and its cleaner production, *J. Clean. Prod.* 65 (2014) 574–582.
- [255] H. Zheng, J. Zhang, J. Yan, L. Zheng, An industrial scale multiple supercritical carbon dioxide apparatus and its eco-friendly dyeing production, *J. CO2 Util.* 16 (2016) 272–281.
- [256] ASME, Code For Pressure Vessels, VIII Division 1, The American Society of Mechanical Engineers, New York, 2010.
- [257] R&M Energy System, Sentry<sup>®</sup> Operation and Maintenance Instructions, (2009) 1–12.
- [258] W. Stikvoort, Comparative research into the load-bearing capacity of horizontal pressure vessels supported by saddles *American Journal of Engineering Research (AJER)*, *Am. J. Eng. Res.* (2019) 62–74.
- [259] L.P. Zick, Stresses in Large Horizontal Cylindrical Pressure Vessels on Two Saddle Supports., *Press. Vessel. Pip. Des. Anal.* 2 (1972) 959–970.