



UnB

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

SÍNTESE DE TINTAS ACRÍLICAS À BASE DE ÁGUA: ENCAPSULAMENTO
DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E LÁTEX COM
ALTO TEOR DE SÓLIDO

JULIETE SILVA NEVES

ORIENTADOR: PROF. FABRICIO MACHADO SILVA, D.Sc.

COORIENTADOR: PROF. ANGELO HENRIQUE DE LIRA MACHADO, D.Sc.

Brasília, DF

2019

Universidade de Brasília
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

SÍNTESE DE TINTAS ACRÍLICAS À BASE DE ÁGUA: ENCAPSULAMENTO
DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E LÁTEX COM
ALTO TEOR DE SÓLIDO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Química.

JULIETE SILVA NEVES

ORIENTADOR: PROF. FABRICIO MACHADO SILVA, DSC.
COORIENTADOR: PROF. ANGELO HENRIQUE DE LIRA MACHADO, DSC.

Brasília, DF

2019

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Juliete Silva Neves**, matrícula nº **15/0170629**, intitulada **“SÍNTESE DE TINTAS ACRÍLICAS À BASE DE ÁGUA: ENCAPSULAMENTO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E LÁTEX COM ALTO TEOR DE SÓLIDO”**, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 16 de agosto de 2019.

Prof. Dr. Fabrício Machado Silva
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.^a Dra. Talita de Almeida Fernandes
Membro Titular (IQ/UnB)

Dr. Rossano Gambetta
Membro Titular (EMBRAPA Agroenergia)

Prof.^a Dra. Maria José Araújo Sales
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa
Membro Suplente (FCE/UnB)

Em 16 de agosto de 2019.

Ao Edmar e Vania, meus pais...

“Fui ensinada que o caminho do progresso não é nem rápido, nem fácil.” – Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer à banca examinadora por ter aceitado participar da avaliação deste trabalho, agradeço pelo tempo dedicado à leitura do trabalho e fico feliz por poder contar com as suas contribuições.

Agradeço aos meus orientadores, Fabricio Machado e Angelo Machado por aceitarem me orientar neste trabalho. Foi uma honra trabalhar com dois pesquisadores que tanto admiro, sejam como pessoas ou como cientistas. Obrigada pela confiança e pela disponibilidade em me ajudar, aprendi muito ao lado de vocês.

Agradeço imensamente ao professor Timothy McKenna por ter me recebido no LCPP para o doutorado sanduíche e por ter me confiado o desafio de trabalhar com látex de alto teor de sólidos, que foi uma oportunidade de imenso aprendizado.

Agradeço aos meus pais pela dedicação que tiveram pela minha educação, por terem acreditado em mim e por me apoiarem a realizar os meus sonhos.

Aos muitos colegas do LDPQ que tive a oportunidade de conhecer ao longo destes 10 anos, em especial o Alan Jensen, meu obrigado pelos momentos de discursão e por terem feito do laboratório um lugar agradável de trabalho.

Por fim, agradeço aos meus amigos Anderson, Giovana e Fabiana, que me receberam tão bem na França e que foram a minha família durante o ano que estive com eles, vocês tornaram a distância de casa parecer pequena, nunca vou me esquecer dos nossos passeios de bicicleta, das discursões sobre política e do apoio que me deram no laboratório.

Sumário	
Introdução	16
Contextualização e formulação do problema	16
Objetivo	18
Objetivos específicos.....	18
Capítulo I : Revisão Bibliográfica.....	19
I.1 – Óleos essenciais	19
I.2 – Polimerização.....	23
I.2.1 – Polimerização em suspensão.....	24
I.2.2 – Polimerização em emulsão.....	27
I.2.3 – Polimerização em emulsão com alto teor de sólido.....	28
I.2.4 – Polimerização viva/controlada via Transferência Reversível de Cadeia por Adição-Fragmentação (RAFT).....	32
I.3 – Referências bibliográficas	34
Capítulo II: Técnicas de caracterização	37
1. Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas	37
2. Ressonância Magnética Nuclear	37
3. Cálculo de conversão por gravimétrica	38
4. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	38
5. Microscopia Eletrônica de Transmissão	38
6. Tamanho médio de partícula	38
7. Espalhamento de Luz Dinâmica	39
8. Calorimetria Diferencial de Varredura	39
9. Termogravimetria	39
10. Cromatografia de Permeação em Gel	39
11. Espectroscopia UV/Vis	40
12. Teste de identificação de peróxido	40
13. Determinação de índice de peróxido no polímero	40
14. Viscosidade	41
Capítulo III: Avaliação da atividade antifúngica e composição dos óleos essenciais	42
III.1 – Introdução	42
III.2 – Materiais e métodos	43
III.2.1 – Reagentes utilizados	43
III.2.1 – Método.....	43
III.3 – Resultados e discussões.....	44
III.3.1 – Avaliação da atividade antifúngica e composição do óleo essencial de Calendula officinalis.....	44
III.3.2 – Avaliação da atividade antifúngica e composição do óleo essencial de Romarinus officinalis.....	47

III.4 – Conclusão	54
III.5 – Referências Bibliográficas	54
Capítulo IV: Encapsulamento dos óleos essenciais	55
IV.1 – Introdução	55
IV.2 – Materiais e métodos	56
IV.2.1 – Reagentes utilizados	56
IV.2.1 – Método	56
IV.3 – Resultados e discussões	58
IV.3.1 – Reações de polimerização com óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i>	58
IV.3.2 – Reações de polimerização com óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i>	63
IV. 4 – Conclusão	75
IV. 5 – Referência Bibliográfica	76
Capítulo V: Látex com elevado teor de sólido	78
V. 1 - Introdução	78
V.2 – Materiais e métodos	79
V.2.1– Reagentes utilizados	79
V.2.2 – Método	79
V.3 – Resultados e discussões	81
V.3.1 – Síntese de látices em modo batelada	81
V.3.2 – Crescimento das partículas em modo semi-batelada	90
V. 4 – Conclusão	94
V. 5 – Referências Bibliográficas	95
Capítulo VI: Síntese da população de partículas pequenas	96
VI. 1 - Introdução	96
VI.2 – Materiais e métodos	97
VI.2.1 – Reagentes utilizados	97
VI.2.2 – Método	97
VI.3 – Resultados e discussões	98
VI. 4 – Conclusão	104
VI. 5 – Referências Bibliográficas	105
Capítulo VII: Látex com duas populações de partículas	106
VII.1 – Introdução	106
VII.2 – Materiais e métodos	107
VII.2.1 – Reagentes utilizados	107
VII.2.2 – Método	107
VII.3 – Resultados e discussões	108
VII. 4 – Conclusão	111
VII. 5 – Referências Bibliográficas	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações das diluições seriadas testadas para a atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>Calendula officinalis</i> e <i>Romarinus officinalis</i> .	43
Tabela 2: Relações entre as concentrações em mg.mL ⁻¹ e porcentagem.	43
Tabela 3 : Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima do óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> para espécies de <i>Candida</i> .	44
Tabela 4: Componentes identificados no óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> pela análise de CG/MS.	46
Tabela 5: Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima do óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> para as espécies de <i>Candida</i> .	47
Tabela 6 : Componentes identificados no óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> pela análise de CG/MS.	48
Tabela 7 : Condições experimentais das reações de polimerização.	57
Tabela 8 : Dimâmetro médio de partículas dos materiais poliméricos.	65
Tabela 9 : Temperatura de transição vítrea dos polímeros	68
Tabela 10 : Distribuição de massa molar dos materiais poliméricos.	69
Tabela 11 : Resultados dos testes de atividade antigíngica dos polímeros obtidos.	71
Tabela 12: Condições experimentais das reações de polimerização em batelada.	79
Tabela 13: Receitas das reações de polimerização em semi-batelada utilizando como carga inicial do reator os látices Batelada 16 e Batelada 17.	80
Tabela 14: Receitas das reações de polimerização em semi-batelada utilizando como carga inicial do reator os látices Batelada 18 e Batelada 19.	81
Tabela 15: Influência da concentração de tensoativo aniônico no diâmetro de partícula e PDI.	85
Tabela 16: Receitas das reações de crescimento do bloco hidrofóbico para formação das partículas via <i>PISA</i> .	98
Tabela 17: Resultados de massas molares e dispersões das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs.	100
Tabela 18: Composição do agente reticulante dimetacrilato etileno glicol (EGD) nas reações <i>Polymerization-Induced Self-Assembly</i> .	103
Tabela 19: Resultados da polimerização por auto-ordenamento induzido.	103
Tabela 20:Receitas das reações de polimerização em semi-batelada para obtenção de látex com duas populações utilizando como carga inicial do reator o látex B18 exp1.	107
Tabela 21: Diâmetros médios das partículas dos látices bipolares sintetizados.	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 : Estruturas químicas dos flavonoides (a) quercitina e (b) rutina.....	19
Figura 2: Estruturas químicas dos carotenoides (a) β -caroteno, (b) licopeno e (c) luteína.	20
Figura 3: Estruturas químicas dos sesquiterpenos (a) τ -muurolol e (b) α -cadinol.	20
Figura 4: Estrutura química da saponina Calendulosídeo B.	21
Figura 5: Estruturas químicas dos compostos fenólicos encontrados no óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> (a) ácido carnosóico, (b) carnosol, (c) rosmanol e (d) ácido rosmarínico. ...	21
Figura 6: Estruturas químicas dos compostos terpenóides encontrados no óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> (a) cânfora, (b) α -pineno, (c) γ -terpineno, (d) mirceno e (e) 1,8-cineol.....	22
Figura 7: Representação de um reator de polimerização em suspensão. (Adaptado da referência ³²)	24
Figura 8: Representação simplificada do sistema de polimerização em emulsão (Adaptada da referência ²⁷).....	27
Figura 9: Representação dos três intervalos da reação de polimerização em emulsão.....	28
Figura 10: Dependência da viscosidade de látices monomodais com o teor de sólidos e o diâmetro de partícula (Figura adaptada de Udagama e <i>et al.</i> ³⁸).....	29
Figura 11: Ilustração em duas dimensões da influência da distribuição de tamanho das partículas na fração volumétrica (Figura adaptada de Schneider <i>et al.</i> ³⁹).	31
Figura 12: Estrutura química de um agente RAFT.....	33
Figura 13: Ordem decrescente da eficiência do grupo R.	33
Figura 14: Influência da concentração de óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> no crescimento do fungo <i>Candida albicans</i> (a) placa de cultura tratada com 8% do óleo essencial e (b) placa de cultura tratada com 0,5% do óleo essencial.	45
Figura 15: Cromatograma de CG/MS do óleo essencial <i>Calendula officinalis</i>	45
Figura 16: Cromatograma de CG/MS do óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i>	48
Figura 17: Espectro de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno.	50
Figura 18: Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do α -pineno em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ¹ H RMN (CCl ₃ D): δ 0,84 (s,3H); 1,15 (d,1H); 1,26 (s,3H); 1,65 (s, 3H); 1,93 (t,1H); 2,06 (m,1H); 2,13 - 2,25 (m,2H); 2,34 (m,1H); 5,19 (s,1H).....	51
Figura 19: Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do 1,8-cineol em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ¹ H RMN (CCl ₃ D): δ 1,07 (s,3H); 1,26 (s,6H); 1,43 (m,1H); 1,51 (q, 4H); 1,69 (t,2H); 2,02 (t,2H).	52
Figura 20 : Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio da cânfora em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ¹ H RMN (CCl ₃ D): δ 0,84 (s,3H); 0,92 (s,3H); 0,96 (s,3H); 1,32 - 1,4 (m,2H); 1,68 (t,1H); 1,85 (d,1H); 1,91- 1,97(m,1H); 2,10(t,1H) 2,36 (dt,1H).	53
Figura 21: Perfis de conversão ao longo do tempo a reação de copolimerização do ácido metacrílico e metacrilato de metila contendo óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> com diferentes concentrações de iniciador e perfis de temperatura.	59
Figura 22: Imagens de Microscopia eletrônica de varredura do AM/MMA_C.O.(3) em (a) capsulas com diâmetro médio de 10 μ m e em (b) capsulas com diâmetro médio de 113 nm ...	60

Figura 23 : Histograma mostrando a distribuição de tamanho de partículas do copolímero a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila contendo óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> – AM/MMA_C.O.(3) – em (a) Diâmetro médio de 10 µm e (b) Diâmetro médio de 113 nm.	60
Figura 24: Curvas termogravimétricas dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> AM/MMA_C.O.(3) e AM/MMA(a)..	61
Figura 25: Espectro de UV/Vis do óleo essencial de <i>Calendulas officinalis</i> e da alíquota retirado do material encapsulado.	62
Figura 26: Espectro de UV/Vis das alíquotas tiradas a cada 30 min da reação do óleo essencial de <i>Calendula officinalis</i> com peróxido de benzoíla.....	62
Figura 27: Perfis de conversão ao longo do tempo das reações do copolimerização utilizando ácido metacrílico e metacrilato de metila.	64
Figura 28: Perfil de conversão ao longo do tempo da reação de copolimerização do metacrilato de metila e estireno contendo óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i>	64
Figura 29: Curva de conversão ao longo do tempo de reação de terpolimerização contendo ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.	65
Figura 30: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos polímeros (i) AM/MMA_R.O.(3a), (ii) AM/MMA(a), (iii) AM/MMA/Sty_R.O.(a) e (iv) AM/MMA/Sty(a).....	66
Figura 31: Histogramas de distribuição de tamanho dos polímeros (ii) AM/MMA_R.O.(3a), (ii) AM/MMA(a), (iii) AM/MMA/Sty_R.O.(a) e (iv) AM/MMA/Sty(a).....	67
Figura 32: Estruturas químicas do metacrilato de metia, ácido metacrílico e estireno.	68
Figura 33: Distribuição de massa molar da fração solúvel dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> e dos terpolímeros ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno com e sem óleo essencial de <i>Romarinus Officinalis</i>	69
Figura 34: Curvas termogravimétricas dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> e dos terpolímeros a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno com e sem óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i>	70
Figura 35 : Imagens do teste de identificação de peróxido (a) materiais antes da adição da solução ácida de iodeto de potássio e (b) materiais após a adição da solução ácida de iodeto de potássio. (1) AM/MMA_R.O.(3a); (2) AM/MMA(a); (3) AM/MMA/Sty_R.O.(a); (4) AM/MMA/Sty (a) (5) Óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> após a reação de oxidação; (6) água destilada.	72
Figura 36: Curva de Índice de peróxido em função do tempo de reação do terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.....	73
Figura 37: Placas de cultura do fungo <i>Candida albicans</i> tratadas com 0,25% de (a) óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> ,(b) terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno (c) óleo essencial de <i>Romarinus officinalis</i> encapsulado pelo terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.	73
Figura 38 : Avaliação da atividade citotóxica dos materiais AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a); AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty (a) em células de fibroblasto humano (FIBRO) após 24h de exposição nas concentrações de 0,01 mg·mL ⁻¹ , 0,05 mg·mL ⁻¹ , 0,1 mg·mL ⁻¹ , 0,25 mg·mL ⁻¹ e 0,5 mg·mL ⁻¹ (p<0,05).	74
Figura 39 : Avaliação da atividade citotóxica dos materiais AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a); AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty (a) em células de queratinócitos (HaCat) após 24h de exposição 0,01 mg·mL ⁻¹ , 0,05 mg·mL ⁻¹ , 0,1 mg·mL ⁻¹ , 0,25 mg·mL ⁻¹ e 0,5 mg·mL ⁻¹ (p<0,05).....	75

Figura 41: Imagem da âncora de agitação mostrando o depósito de coágulos.	82
Figura 42: Efeito da concentração de sulfato de sódio na evolução do número de partículas e diâmetro de partícula com o tempo de reação dos experimentos Batelada 7 e Batelada 8.	83
Figura 43: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos látices (a) Batelada 7 e (b) Batelada 8.	83
Figura 44: Efeito da concentração de persulfato de potássio e da temperatura de reação nos perfis de conversão dos experimentos Batelada 9, Batelada 11 e Batelada 12.	84
Figura 45: Efeito da concentração de tensoativo aniônico na evolução do diâmetro de partícula dos experimentos Batelada 11, Batelada 12, Batelada 14 e Batelada 13 ao longo da reação de polimerização.	85
Figura 46: A influência da concentração de tensoativo aniônico na variação do número de partículas ao longo do tempo da reação de polimerização.	86
Figura 47: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos látices (a) Batelada 11 , (b) Batelada 2, (c) Batelada 14 e (d) Batelada 13.	86
Figura 48: Reprodutibilidade dos experimentos mostrando a evolução o diâmetro de partícula e o número de partículas ao longo do tempo de reação.	87
Figura 49: Perfis de conversão dos experimentos Batelada 16, Batelada 17 e Batelada 18.	87
Figura 50 : Efeito da concentração de tensoativo na superfície de cobertura das partículas em função do aumento do teor de sólido dos látices.	88
Figura 51: Imagens de microscopia dos látices (a) Batelada 16; (b) Batelada 17; (c) Batelada 18 e (d) Batelada 19.	89
Figura 52: Evolução do número de partículas e diâmetro de partícula ao longo da reação do látex Batelada 19.	89
Figura 53: Imagem de microscopia eletrônica de transmissão do látex B17 exp3.	90
Figura 54: Imagens de microscopia dos látices (a) B16 exp1 e (b) B16 exp2.	91
Figura 55: Evolução do diâmetro de partícula ao longo da reação de polimerização em modo semi-batelada.	91
Figura 56: Variação da viscosidade do látex com o aumento do teor de sólidos para os látices B17 exp3; B16 exp1 e B16 exp2.	92
Figura 57: Imagem de microscopia do látex B18 exp1.	92
Figura 58: Variação do teor de cobertura das partículas em função do teor de sólidos.	93
Figura 59: Imagem de microscopia do látex B19 exp2.	94
Figura 60: Evolução do número de partículas, conversão e teor de sólidos ao longo do tempo de reação do látex B19 exp2.	94
Figura 61: Síntese da população de partículas pequenas por auto-ordenamento das cadeia poliméricas anfífilas obtidas via polimerização RAFT. Figura adaptada de Chaduc et al. ³	96
Figura 62: Espectros de RMN ¹ H das amostras coletadas nos tempos (a) 0 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min (e) 180 min e (f) 270 min da reação de polimerização RAFT do PAM-CTPPA 6, mostrando a diminuição dos sinais referentes aos hidrogênios vinílicos do ácido metacrílico, que indica o consumo o monômero durante a reação.	99
Figura 63 : Perfis de conversão das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs indicando conversão total.	100

Figura 64: Evolução da massa molar experimental e teórica em função da conversão das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs : (a) PAM-CTPPA6, (b) PAM-CTPPA7, (c) PAM-CTPPA8, (d) PAM-CTPPA9, (e) PAM-CTPPA10 e (f) PAM-CTPPA11.	101
Figura 65: Perfis de conversão das reações de polimerização em emulsão auto-ordenadas pelo copolímero anfifílico formado a partir do ácido metacrílico e do estireno.	102
Figura 66 : Imagens de microscopia eletrônica dos látices (a) PISA6, (b) PISA7, (c) PISA8, (d) PISA9, (e) PISA10.....	104
Figura 67: Ilustração do modo preparo do látex com duas populações via polimerização em emulsão em modo batelada a partir dos látices de partículas grandes e partículas pequenas..	106
Figura 68: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos látices com duas populações de partículas: (a) B18 exp1-R1 ; (b) B18 exp1-R2; (c) B18 exp1-R3 e (d) B18 exp1-R5.	108
Figura 69: Resultados das análises de viscosidade dos látices com duas populações de partículas.....	109
Figura 70: Resultados das análises de viscosidade dos látices contendo 60% de teor de sólido mostrando que a viscosidade dos látices contendo duas populações de partículas com tamanhos diferentes é menor que a viscosidade do látex monodisperso de mesmo teor de sólido.....	110

LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIações

ACPA	Ácido 4,4-azobis(4-cianopentanoico)
AM	Ácido metacrílico
APS	Persulfato de amônio
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
CTPPA	Ácido 4-ciano-4-thiothiopropylsulfanylpentanoico
DMEM	Meio de cultura Eagle Modificado por Dulbecco
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmica
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
DTP	Distribuição de Tamanho de Partícula
EE	Eficiência de Encapsulamento
FIBRO	Células de fibroblastos
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
HaCat	Células de queratinócitos
HCl	Ácido Clorídrico
I	Iniciador
I^{\bullet}	Radical primário de iniciador
k_{ad}	Constante Taxa de adição
k_{tr}	Constante de transferência de cadeia
k_{tr}	Constante Taxa de transferência de cadeia
k_{β}	Constante Taxa de fragmentação
M	Monômero
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMA	Metacrilato de metila
M_n	Massa molar média numérica
M_w	Massa molar média ponderada
P(AM-co-MMA)	Poli(ácido acrílico-co-metacrilato de metila)
P(AM-co-MMA-co-Sty)	Poli(ácido acrílico-co-metacrilato de metila-co-estireno)

PAM-CTPPA	Agente macroRAFT
P_{m+1}^*	Cadeia polimérica em crescimento contendo $m+1$ meros
P_1^*	Primeiro radical polimérico
PBO	Peróxido de benzoíla
PISA	Polimerização com auto-organização induzida
P_m^*	Cadeia polimérica em crescimento contendo m meros
P_n^*	Cadeia polimérica em crescimento contendo n meros
PVA	Poli(álcool vinílico)
Q_m	Cadeia polimérica morta contendo m meros
Q_{m+n}	Cadeia polimérica morta contendo $m+n$ meros
Q_n	Cadeia polimérica morta contendo n meros
R^*	Radical
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>R. officinalis</i>	<i>Romarinus officinalis</i>
RAFT	Transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação
Sty	Estireno
TA	Tensioativo aniônico
T_g	Temperatura de transição vítrea
THF	Tetrahidrofurano
TN	Tensioativo não iônico
X	Impureza

RESUMO

Esta tese contribui para o estudo dos processos de polimerização em meio heterogêneo, suspensão e emulsão, visando à síntese de materiais de revestimento à base de água, como tintas e esmaltes. Tem como objetivo inicial encapsular óleos essenciais com atividade antifúngica para prevenir a proliferação de fungos durante o período de armazenamento do material. A atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Calendula officinalis* e *Romarinus officinalis* para fungos da espécie *Candida* foi avaliada, sendo observado que o óleo essencial de *Romarinus officinalis* apresenta maior atividade antifúngica em relação ao primeiro. Em seguida, o óleo essencial de *Romarinus officinalis* foi encapsulado pelo processo de polimerização em suspensão com eficiência acima de 80%. Os testes de avaliação da atividade antifúngica dos polímeros mostrou que os materiais encapsulados apresentam atividade antifúngica com concentrações mínimas inibitórias menores que a do óleo essencial livre e os testes de citotoxicidade revelam que estes materiais não apresentam toxicidade para linhagens de células de fibroblasto e queratinócitos humanos (FIBRO e HaCat). Pensando na aplicação proposta para o material é interessante obter materiais com elevado teor de sólido, acima de 60%vol, pois reduz o tempo de secagem e os custos com transporte e estocagem. Assim, em uma etapa seguinte foi avaliada a síntese de látices bimodais com elevado teor de sólidos pelo processo de polimerização em emulsão. A população de partículas grandes, foi obtida em processo em batelada, onde as sementes de partículas foram criadas, seguido de um processo em semi-batelada para concentração do látex até o teor de sólido entre 55 e 60%vol. Via polimerização RAFT foi criada a população de partículas pequenas pelo auto-ordenamento das cadeias poliméricas em bloco, constituídas por um bloco hidrofílico à base de ácido metacrílico e outro hidrofóbico à base de estireno. Em um segundo momento, uma pré-emulsão preparada a partir do látex de partículas pequenas e uma mistura de monômeros e tensoativos foi adicionada ao látex de partículas grandes para obtenção do látex bipopular. Foi observada a redução da viscosidade de 0,35 Pa.s para 0,15 Pa.s quando comparados um látex monomodal e outro bimodal com o mesmo teor de sólido (60%).

Palavras-chave: Polimerização radicalar, encapsulamento de óleos essenciais, elevado teor de sólido e polimerização RAFT.

ABSTRACT

This thesis contributes to the study of polymerization processes in heterogeneous media, suspension and emulsion, intended for the synthesis of water-based coating materials, such as paints and enamels. The initial goal was to encapsulate essential oils with antifungal activity to prevent the proliferation of fungi during the storage period of the material. The antifungal activity of the essential oils of *Calendula officinalis* and *Romarinus officinalis* for fungi of the *Candida* species was evaluated. It was observed that the essential oil of *Romarinus officinalis* has a higher antifungal activity compared to the first one. Then, the essential oil of *Romarinus officinalis* was encapsulated by the suspension polymerization process with efficiency above 80%. Testing of antifungal activity of the polymers showed that encapsulated materials exhibit antifungal activity with lower inhibitory concentrations lower than that of free essential oil and the cytotoxicity tests reveal that these materials do not show toxicity fibroblast cell lines (FIBRO) and human keratinocytes (HaCat). Considering the proposed application for the material, it is interesting to obtain materials with a high solids content, above 60%vol, as it reduces the drying time and transport and storage costs. In a subsequent step, the synthesis of bimodal latex with a high solids content was carried out by the emulsion polymerization process. The population of large particles was obtained in a batch process, where the seed particles were created, followed by a semi-batch process for the concentration of the latex to the solid content between 55 and 60%vol. Via the RAFT polymerization, the population of small particles was created by self-ordering the block polymer chains, consisting of a hydrophilic block based on methacrylic acid and another hydrophobic block based on styrene. In a second step, a pre-emulsion prepared from the latex of small particles and a mixture of monomers and surfactants was added to the latex of large particles to obtain the bipopular latex. It was observed the reduction of viscosity from 0.35 Pa.s to 0.15 Pa.s when compared to a monomodal latex and another bimodal with the same solid content (60%).

Keywords: Radical polymerization, encapsulation of essential oils, high solids content and RAFT polymerization.

Introdução

Contextualização e formulação do problema

As micoses cutâneas estão entre as infecções fúngicas mais comuns, sendo principalmente causadas por fungos filamentosos, como as espécies *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, que se alimentam de tecidos queratinizados como cabelo, unha e pele, ou também por outras espécies oportunistas, como a *Candida*. A onicomicose é uma infecção superficial causada por estes fungos e que tem sido um problema de saúde pública mundial, principalmente por causarem infecções invasivas em paciente imunodeprimidos.¹⁻³

Alguns estudos mostram que estes fungos sobrevivem e se proliferam em esmaltes de unha usados e compartilhados em salões de beleza que, portanto, são veículos de transmissão de fungos. Sendo assim, esterilizar os esmaltes após o uso é um desafio e uma necessidade de saúde pública.⁴

Neste contexto o presente trabalho tem como desafio inicial preparar um polímero para a formulação de esmaltes de unha que apresente atividade antifúngica para garantir a esterilização dos esmaltes, após o uso, e inibir a proliferação de fungos durante o armazenamento.

Como agentes antifúngicos, foram utilizados os óleos essenciais de *Calendula officinalis* e *Romarinus officinalis*, que apresentam propriedades antifúngicas descritas na literatura. Os óleos essenciais são boas alternativas para esta aplicação, pois, diferente dos fármacos, o desenvolvimento de resistências dos fungos aos óleos essenciais é raro, e a indústria de cosmético já utiliza estes compostos nas formulações de outros produtos e eles também conferem aos materiais fragrância.¹

No entanto, trata-se de compostos voláteis, instáveis, que podem facilmente se degradar por exposição à luz ou devido a variações de temperatura. Assim, a prática de encapsulamento de óleos essenciais tem ganhado destaque, uma vez que essa técnica protege o óleo essencial, minimizando a sua degradação, as perdas por evaporação e a interação indesejada com outros componentes da formulação. O encapsulamento, além de preservar as propriedades químicas e biológicas, também permite que os óleos essenciais sejam liberados de forma gradual no meio.²

A fim de simplificar o processo de encapsulamento, reduzindo o número de etapas, este trabalho propõe o encapsulamento via processo de polimerização radicalar em suspensão. A polimerização radicalar é responsável para obtenção de aproximadamente 50% de todo polímero sintético produzido industrialmente, devido à larga gama de monômeros que são polimerizáveis via mecanismo de polimerização em cadeia, iniciada por espécies radicalares, e por usar condições brandas de reação, podem ser conduzidas à pressão atmosférica e com temperaturas ente 25 °C e 100 °C, sendo que as únicas recomendações

são a desoxigenação do meio reacional e, por ser uma reação exotérmica, um cuidadoso controle de temperatura do sistema.

A polimerização em suspensão ocorre em meio aquoso, que facilita as trocas térmicas e permite o controle de temperatura do meio reacional. Consiste basicamente em dispersar o monômero em água por ação combinada da agitação e um agente de suspensão. A polimerização se inicia pela adição de um iniciador solúvel na fase monomérica e ocorre no interior de cada gota de monômero, que agem como microreatores de polimerização em massa. Com o óleo essencial dissolvido no monômero, o encapsulamento acontece *in situ* com o avanço da conversão.

Como uma segunda etapa do trabalho de tese, visando a ampliação dos estudos sobre processos de polimerização em meio heterogêneo, para a síntese de tintas e esmaltes à base de água, estudos foram desenvolvidos visando à obtenção de látex com alto teor de sólido via polimerização em emulsão.

Grande parte da produção de tintas e esmaltes é feita em polimerização em emulsão. Diferente da polimerização em suspensão, a polimerização em emulsão convencional consiste em adicionar tensoativos ao meio de reação acima da concentração micelar crítica (CMC), formando micelas, que agora é o *locus* da reação, iniciada por uma espécie solúvel na fase aquosa.

A fração volumétrica de polímero em relação ao volume total de látex (teor de sólido) para os processos industriais é normalmente definida entre 40% e 55%. Neste cenário, o desafio da indústria consiste em aumentar essa fração de polímero, uma vez que significa redução de custos com transporte e armazenamento, além de melhorar a eficiência de cobertura na aplicação como tinta.

Porém, o obstáculo para o aumento do teor de sólidos é o consequente aumento da viscosidade do látex, o que dificulta as trocas de massa e energia no reator e o transporte do látex através de tubulações na indústria. Assim, é preciso aumentar o teor de sólido sem aumentar a viscosidade.

A estratégia utilizada nos trabalhos publicados na literatura é a síntese de látex com duas ou três populações de partículas com tamanhos diferentes que podem ser obtidos a partir de blendas de látex monomodais, que são concentrados por evaporação, que consiste em uma técnica onerosa para aplicação em escala industrial; ou por nucleação *in situ* da segunda população por adição de tensoativos, que exige habilidade em ajustar as concentrações de tensoativo para evitar nucleação homogênea e desestabilização do látex.

Assim, este trabalho traz uma nova metodologia para obtenção de látex bimodal com elevado teor de sólido, que consiste em mesclar etapas de polimerização em emulsão convencional em processo em batelada e semi-batelada e polimerização controlada por RAFT (Transferência Reversível de Cadeia por Adição-Fragmentação).

A polimerização em modo semi-batelada com controle do fluxo de adição de iniciador e monômeros ao longo da reação confere ao sistema uma condição ávida por monômero, minimizando a nucleação homogênea e contribuindo para a estabilidade do látex.

A polimerização RAFT permite o controle do crescimento das cadeias poliméricas e obtenção de cadeias com distribuição estreita de massa molar. Tal controle possibilita a arquitetura de cadeias em blocos, em que variando a natureza química de cada monômero, cadeias com característica anfifílicas são facilmente sintetizadas. Em meio aquoso estas cadeias se auto-organizam de forma induzida, dando origem às partículas poliméricas sem a necessidade de adicionar tensioativos ao sistema.

Objetivo

Este trabalho tem como principal objetivo o estudo de processos de polimerização em meio heterogêneo, suspensão e emulsão, para a síntese de materiais de cobertura à base de água e que apresentem atividade antifúngica, devido ao encapsulamento de óleo essenciais, para evitar a proliferação de fungos durante o período de armazenamento.

Objetivos específicos

1. Confirmar a composição química dos óleos essenciais de *Calendula officinalis* e *Romarinus officinalis* obtidos comercialmente.
2. Avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais.
3. Encapsular óleos essenciais via processo de polimerização em suspensão.
4. Avaliar a atividade antifúngica dos materiais poliméricos obtidos.
5. Avaliar a citotoxicidade dos materiais poliméricos obtidos.
6. Sintetizar látex via processo de polimerização em emulsão com partículas monodispersas com diâmetro médio próximo de 300 nm.
7. Sintetizar via polimerização RAFT um homopolímero hidrofílico.
8. Sintetizar um copolímero em bloco anfifílico que induza o auto-ordenamento das cadeias para a nucleação de partículas com diâmetro médio próximo de 40 nm.
9. Sintetizar látex bimodal com teor de sólido acima de 60% e viscosidade abaixo de 1,5 Pa.s a uma taxa de cisalhamento de 20 s^{-1} .

(1) Vlahovic, T. C. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery* **2016**, 33, 305.

(2) Kumar, R.; Shukla, S. K.; Pandey, A.; Pandey, H.; Pathak, A.; Dikshit, A. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2016**, 7, 3218.

(3) Silva-Rocha, W. P.; de Azevedo, M. F.; Chaves, G. M. *Journal de Mycologie Médicale* **2017**, 27, 57.

(4) Klafke, G.; Alves da Silva, R.; Thaís de Pellegrin, K.; Xavier, M. *Anais Brasileiros de Dermatologia* **2018**, 93, 930.

Capítulo I : Revisão Bibliográfica

I.1 – Óleos essenciais

Calendulas officinalis

A *Calendula officinalis* (calêndula) é uma planta da família Asteraceae, uma das maiores famílias vegetais, originária da região do Mar Mediterrâneo, mas atualmente é cultivada em diferentes lugares do mundo, inclusive no Brasil. Ao passar dos anos, o óleo essencial desta planta tem ganhado destaque na indústria farmacêutica e de cosméticos, devido às suas propriedades químicas e biológicas.¹ Dentre os principais componentes químicos deste óleo essencial estão os flavonoides, terpenos, carotenoides e saponinas.²⁻⁵

Tal composição química, confere ao óleo atividades anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e antifúngica, as quais têm sido exploradas, pelas indústrias para formulações de fitoterápicos, cosméticos, conservantes de alimentos e agente antifúngico.^{1,2,6,7}

Os flavonoides são compostos do metabolismo secundário das plantas responsáveis pela pigmentação das flores e que apresentam propriedade antioxidante. Os dois principais flavonoides encontrados nos extratos de *Calendula officinalis* são a quercitina e a rutina, cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 1.⁷

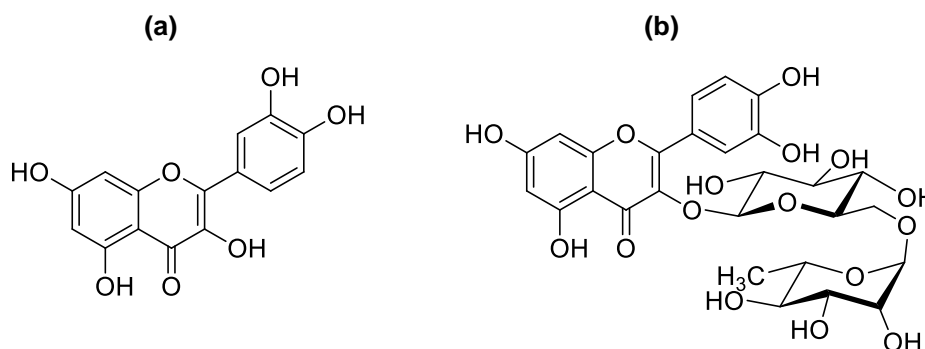


Figura 1 : Estruturas químicas dos flavonoides (a) quercitina e (b) rutina.

Os carotenoides são compostos caracterizados por apresentarem, pelo menos, 6 ligações duplas conjugadas. Por esse motivo, são coloridos e podem ser usados como corantes alimentícios. A conjugação das ligações duplas das moléculas destes compostos possibilita capturar as espécies radicalares reativas de oxigênio formadas nos processos químicos e, por isso, apresentam atividade antioxidante. A Figura 2 apresenta a estrutura química dos principais carotenoides encontrados nos óleos essenciais de *C. officinalis*.⁸

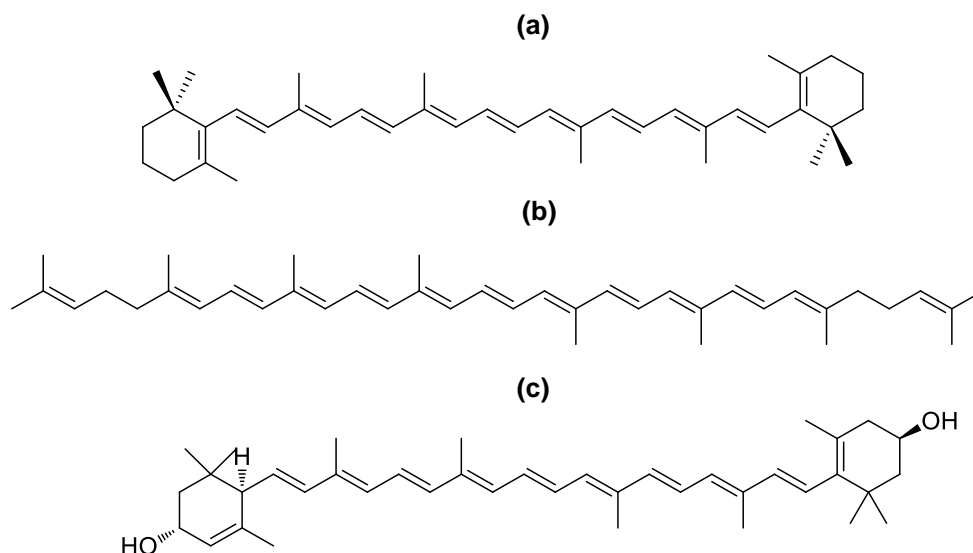


Figura 2: Estruturas químicas dos carotenoides (a) β -caroteno, (b) licopeno e (c) luteína.

Os sesquiterpenos apresentam baixa massa molecular, por isso, são compostos voláteis responsáveis pela essência dos óleos. Os principais compostos do óleo essencial de *C. officinalis* são da família dos muurolol e cadinol. A Figura 3 apresenta a estrutura química dos compostos τ -muurolol e α -cadinol.⁸

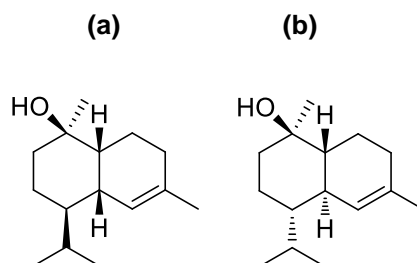


Figura 3: Estruturas químicas dos sesquiterpenos (a) τ -muurolol e (b) α -cadinol.

Este óleo essencial é composto também de saponinas, moléculas anfifílicas que possuem propriedades tensoativas, que é uma propriedade explorada pela indústria de cosméticos para produção de cremes emolientes.⁹

A estrutura química da saponina (Figura 4) é formada por um grupo hidrofílico derivado de um glicosídeo, como por exemplo D-glucose, D-galactose, L-arabinose entre outras, e um grupo lipofílico. Sua característica anfifílica permite que estas moléculas interajam com a membrana celular de microrganismos, influenciando o mecanismo de osmose e desequilibrando a concentração de Na^+ e K^+ , levando assim à morte das células.⁸

Dessa forma, estes compostos desempenham papel importante para o desenvolvimento da planta, defendendo-a do ataque de fungos e outros micro-organismos.

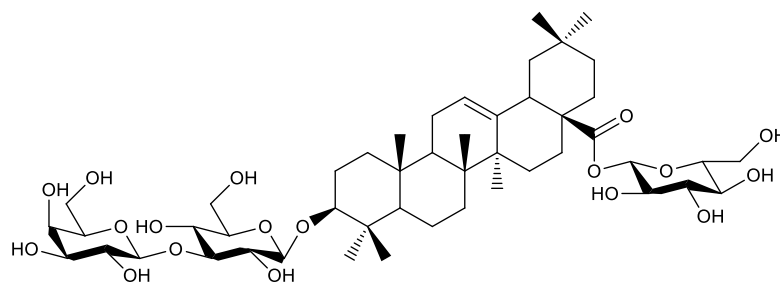
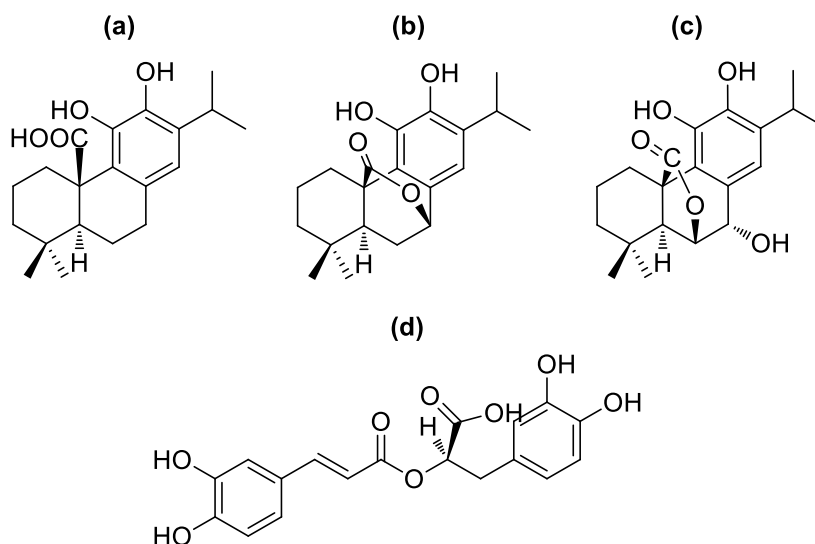


Figura 4: Estrutura química da saponina Calendulosídeo B.

Romarinus officinalis

As propriedades antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Romarinus officinalis* (alecrim) são descritas na literatura por vários autores. Tais propriedades estão relacionadas com a composição do óleo essencial, que contém principalmente compostos terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos) e fenólicos.¹⁰⁻¹⁴

Os principais compostos fenólicos encontrados no óleo essencial de *Romarinus officinalis* são os diterpenos ácido carnosólico (Figura 5a), carnosol (Figura 5b), rosmanol (Figura 5c) e o ácido rosmarínico (Figura 5d), cujas estruturas químicas são mostradas na Figura 5.^{10,15}


 Figura 5: Estruturas químicas dos compostos fenólicos encontrados no óleo essencial de *Romarinus officinalis* (a) ácido carnosólico, (b) carnosol, (c) rosmanol e (d) ácido rosmarínico.

Estes compostos conferem a este óleo essencial atividade antioxidante e, por isso, têm despertado o interesse da indústria de alimentos para o uso como conservantes naturais, evitando ou retardando a oxidação indesejada de lipídios, que altera as propriedades dos alimentos durante a etapa de armazenamento.¹⁶

Yang e colaboradores¹⁷ avaliaram a capacidade do extrato de *R. officinalis* de retardar a oxidação de três óleos vegetais, óleo de soja, óleo de semente de algodão e óleo de farelo de arroz, em relação aos antioxidantes sintéticos utilizados pela indústria de alimentos,

hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT). Os autores observaram que o extrato utilizado foi mais eficiente em retardar a oxidação dos óleos vegetais que os antioxidantes sintéticos e que, após o período de estocagem, os óleos vegetais em que o extrato foi incorporado, apresentaram maior concentração de componentes fenólicos.

Compostos antioxidantes são aqueles capazes de parar ou retardar a oxidação de outros compostos oxidáveis, mesmo em concentrações baixas, menos de 1%.¹⁸

A propriedade antioxidante desse óleo essencial tem atraído também o interesse da indústria de cosméticos para a formulação de loções protetoras. Pérez-Sánchez *et al.*¹⁹ estudaram a inibição dos efeitos nocivos da radiação UVB em células humanas, após ingestões diárias de uma mistura de *R. officinalis* e outros extratos cítricos, e os seus resultados mostraram que este combinado auxilia na proteção e prevenção do câncer de pele causado pela exposição a essa radiação.

No entanto, os compostos fenólicos são pouco voláteis e a sua presença nos óleos essenciais depende do processo obtenção. Óleos obtidos por destilação, geralmente, não apresentam estes compostos e são ricos em terpenos.

Os terpenos são compostos voláteis e responsáveis pelo aroma dos óleos essenciais. Os principais terpenos encontrados no óleo essencial de *R. officinalis* são cânfora (Figura 6a), α -pineno (Figura 6b), γ -terpineno (Figura 6c), mirceno (Figura 6d) e 1,8-cineol (Figura 6e), cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 6.²⁰

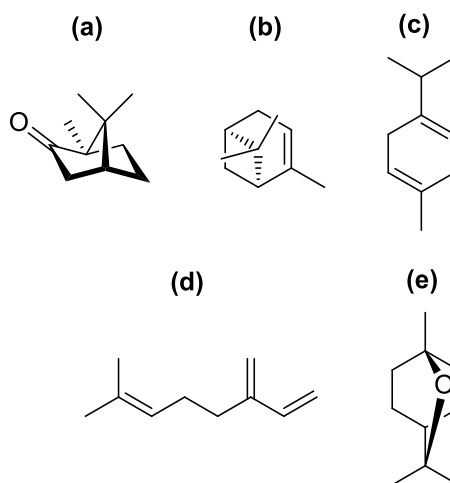


Figura 6: Estruturas químicas dos compostos terpenóides encontrados no óleo essencial de *Romarinus officinalis* (a) cânfora, (b) α -pineno, (c) γ -terpineno, (d) mirceno e (e) 1,8-cineol.

Os compostos α -pineno e γ -terpineno sofrem auto-oxidação na presença de radicais, por isso, retardam a oxidação de outros compostos. Diferente dos componentes fenólicos, estes compostos não interrompem a reação, apenas diminuem a taxa de oxidação.¹⁸

Os terpenos são responsáveis pela atividade antimicrobiana do óleo essencial.²⁰ O pineno, um monoterpene, apresenta atividade antimicrobiana, interfere na cadeia de reações de respiração das mitocôndrias e, além disso, influencia o transporte de íons potássio pela membrana celular, alterando o funcionamento da bomba de Na^+ e K^+ e também a bomba de H^+ , alterando o potencial elétrico das membranas celulares, levando a célula à morte.²¹⁻²⁴

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *R. officinalis* é relatada em alguns trabalhos na literatura, entre eles podem ser citados Bomfim *et al.*²⁵ que avaliaram a atividade deste óleo para o fungo *Fusarium verticillioides* e relata uma concentração mínima inibitória de 150 µg·mL⁻¹ de um óleo que continha como compostos majoritários o 1,8-cineol, cânfora e α-pineno. Pesavento *et al.*²⁶ avaliaram a atividade bactericida para as espécies *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *Campylobacter jejuni* com o objetivo de identificar um composto natural para substituir os conservantes sintéticos utilizados pela indústria de alimentos. Os resultados obtidos confirmam que o óleo essencial apresenta tal atividade.

I.2 – Polimerização

Os materiais poliméricos podem ser obtidos por diferentes processos de polimerização em fase homogênea, como a polimerização em massa e a polimerização em solução e, em fase heterogênea, como a polimerização em suspensão, em emulsão, miniemulsão, entre outras. Cada processo de polimerização apresenta vantagens e desvantagens, por isso, o que determina a sua escolha são as características desejadas para o produto final.^{27,28}

A aplicação do material polimérico é determinada pelas suas propriedades, como distribuição de massa molar, distribuição de tamanho de partícula, temperatura de transição vítrea e estabilidade térmica. Essas propriedades são determinadas pelo processo de polimerização. Sendo assim, é preciso conhecer cada processo de polimerização, para determinar o mais adequado para obtenção do material desejado.²⁷

As reações de polimerização em presença de radicais livres podem ser conduzidas em processos de polimerização homogêneo (massa e solução) ou heterogêneo (emulsão e suspensão) dependendo da mistura reacional inicial.²⁷

Pelo processo de polimerização em massa é possível a obtenção de materiais com elevada massa molar e de elevada pureza, pois no reator são adicionados apenas os monômeros e o iniciador ou catalisador. No entanto, este método é limitado a conversões entre 40 e 50%, sendo necessária uma etapa de recuperação do monômero residual. Além disso, o aumento da viscosidade do meio com o progresso da reação, dificulta a remoção de calor do meio reacional sendo difícil o controle da temperatura.²⁹

As reações de polimerização iniciadas por radicais livres são exotérmicas, liberam uma grande quantidade de calor. O aumento rápido da viscosidade do meio reacional na polimerização em massa, mesmo em conversões baixas, dificulta a dissipação do calor, podendo ocorrer pontos quentes dentro do reator, o que não é desejável, visto que nestas regiões o material pode se degradar ou a taxa de reação pode aumentar significativamente. Em casos extremos, a aceleração descontrolada da taxa de reação pode ser desastrosa, com a formação de blocos no reator ou fuga de temperatura, que podem conduzir a explosão no reator.²⁷

O processo de polimerização em solução utiliza um solvente que auxilia na diminuição da viscosidade, facilitando a remoção de calor e transferência de massa. Com isso, há um melhor controle da reação, quando comparado ao processo em massa. No entanto, ao final da

reação, é necessária uma etapa de remoção do solvente e monômero residual, pois assim como na polimerização em massa, a polimerização em solução também apresenta baixas conversões.²⁹

A polimerização em sistemas heterogêneos tem sido a melhor alternativa para o controle da temperatura durante a reação, pois utiliza água como fase contínua, uma substância que apresenta elevada capacidade calorífica, o que permite melhor dissipação de calor no meio. Como a polimerização heterogênea ocorre nas gotas de monômero (suspensão) ou no interior das micelas (emulsão), a viscosidade do meio reacional não aumenta com o aumento da taxa de reação, o que facilita a remoção de calor.²⁹

Na polimerização em suspensão, a ação combinada da agitação e agente de suspensão estabiliza as gotas de monômero na fase contínua (água). A reação de polimerização ocorre em cada gota de monômero, que é o *locus* da reação. Na polimerização em emulsão, o surfactante é adicionado acima da CMC, e neste caso a reação ocorre no interior das micelas.²⁷⁻²⁹

I.2.1 – Polimerização em suspensão

Na polimerização de suspensão clássica, os monômeros (fase orgânica) são dispersos numa fase contínua, normalmente água, devido à ação combinada de agitação e agentes de suspensão. Para que a reação de polimerização tenha início, é adicionado, ao meio, um iniciador radicalar solúvel na fase orgânica.³⁰

A reação de polimerização ocorre nas gotas de monômeros, que se comportam como microrreatores de polimerização em massa apresentando, portanto, o mesmo comportamento cinético das reações em massa.²⁹⁻³¹

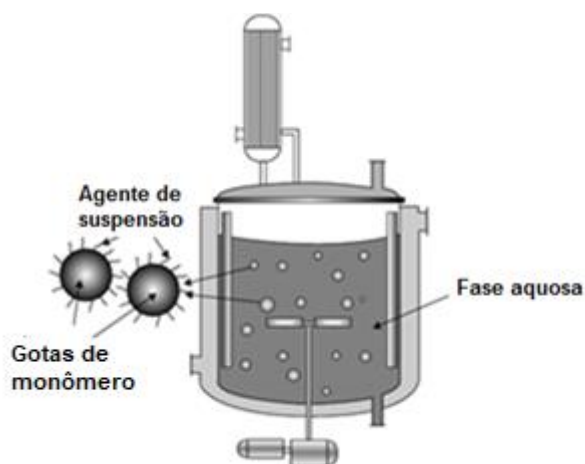


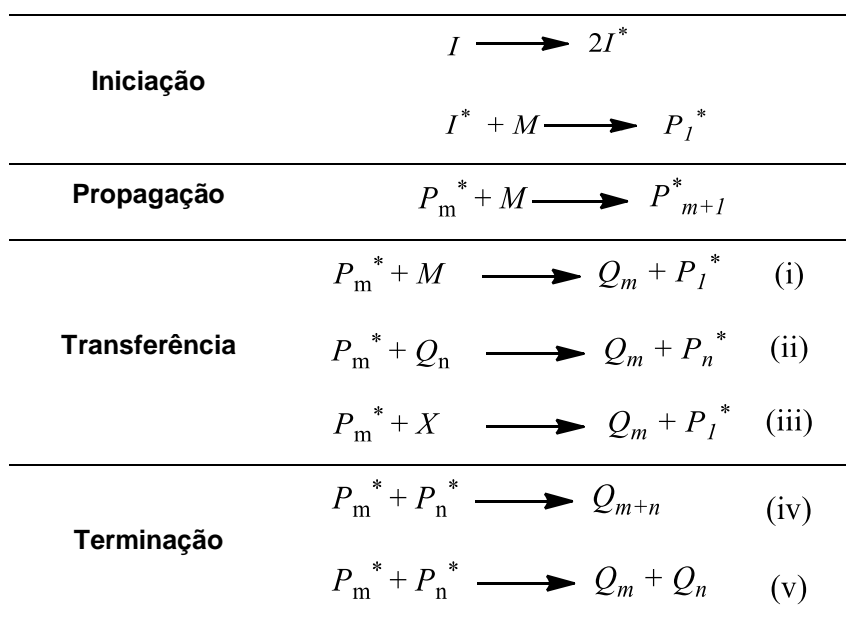
Figura 7: Representação de um reator de polimerização em suspensão. (Adaptado da referência ³²)

Nas reações de polimerização por adição radicalares, as cadeias poliméricas crescem pela adição sucessiva de duplas ligações ao radical, respeitando-se as seguintes etapas de reação: iniciação, propagação, transferência de cadeia e terminação (Esquema 1). A iniciação é a etapa em que há a formação dos radicais primários e a reação deste radical com o primeiro monômero. Na propagação, a cadeia polimérica cresce devido à incorporação sucessiva de monômeros. A transferência de cadeia e a terminação são etapas responsáveis pela morte da

cadeia polimérica viva (em crescimento), de tal forma que a cadeia polimérica para de crescer.^{30,31}

O crescimento de uma cadeia polimérica pode ser interrompido por diferentes mecanismos, sendo eles:^{31,33}

- i. Transferência para monômero, quando o centro ativo passa para uma molécula de monômero.
- ii. Transferência de cadeia para polímero, quando o centro ativo passa para uma cadeia polimérica inativa.
- iii. Transferência para impureza, quando o centro ativo passa para uma molécula de impureza.
- iv. Terminação por combinação de cadeia, quando duas cadeias em crescimento se combinam.
- v. Terminação por desproporcionamento, quando há a transferência de um átomo de hidrogênio de uma cadeia em crescimento para outra.



Esquema 1

No Esquema 1 são representados os mecanismos de iniciação, propagação, transferência e terminação de uma homopolimerização.

Onde:

I = iniciador

I^* = radical primário

M = monômero

P_1^* = primeiro radical polimérico

P_m^* , P_n^* e P_{m+1}^* = cadeias poliméricas em crescimento

Q_m^* , Q_n^* e Q_{m+n} = cadeias poliméricas mortas

X = impureza

O processo de polimerização em suspensão permite o melhor controle da temperatura durante a reação, devido à facilidade na remoção de calor. A viscosidade do meio reacional tem pouca alteração, mesmo com o aumento da conversão, pois a viscosidade aumenta apenas no interior das gotas.²⁹

Além do controle de temperatura, uma importante vantagem do processo de polimerização em suspensão é a possibilidade de controle da distribuição de tamanho de partícula a partir da combinação entre agitação e concentração de agentes de suspensão.³⁴

A velocidade de agitação, geometria do reator e tipo de impelidor influenciam na turbulência e dispersão de material dentro do reator e, portanto, determinam a distribuição do tamanho das partículas de polímeros. Com o aumento da turbulência (cisalhamento), as taxas de quebra das gotas de monômeros aumentam, sendo formadas gotas pequenas. No entanto, também resulta no aumento das colisões destas gotas, favorecendo o mecanismo de coalescência, que também influencia o tamanho final das partículas. A distribuição de tamanho de partícula é então determinada pelo balanço entre as taxas quebra e coalescência das gotas.^{34,35}

As três etapas determinantes para o tamanho de partícula são: primeira etapa, quando a conversão ainda é baixa o mecanismo de quebra das gotas prevalece, sendo assim, as gotas são pequenas. Segunda etapa, com o aumento progressivo da viscosidade no interior das gotas, o mecanismo de quebra diminui e o mecanismo de coalescência prevalece, a tamanho médio das gotas aumentam. Terceira etapa, quando a conversão é elevada e as partículas são rígidas o suficiente para que as colisões sejam elásticas, e os mecanismos de quebra e coalescência cessam, este ponto é chamado de ponto de identificação de partícula.³⁵

A adição de agentes de suspensão ao meio diminui a tensão superficial entre as gotas de monômeros e a água, promovendo a melhor dispersão das gotas na fase contínua. Os agentes de suspensão são, geralmente, polímeros solúveis em água e que possuem carácter hidrofílico e hidrofóbico (lipofílico). As moléculas do agente de suspensão são adsorvidas sobre a superfície das gotas de monômero, produzindo uma fina camada de proteção que, devido às forças repulsivas, evitam a coalescência das gotas quando ocorre a colisão entre elas. Os agentes de suspensão são, portanto, protetores coloidais.³⁵

Considerando, que a agitação do sistema de polimerização influencia diretamente a distribuição de tamanho das gotas de monômero, a combinação ideal entre agitação e concentração de agente de suspensão pode determinar a distribuição de tamanho e a morfologia final das partículas poliméricas. O aumento da agitação promove a quebra das gotas em tamanhos menores, e conseqüentemente aumenta a área superficial, sendo preciso aumentar a concentração do agente de suspensão para manter a suspensão estável e evitar a aglomeração do material e o depósito na parede do reator, que dificulta a transferência de calor e influencia as características finais do polímero.^{30,32}

No entanto, o processo de polimerização em suspensão apresenta alguns pontos negativos, tais como, necessidade de tratamento posterior para remoção de impurezas e baixa produtividade por reator, uma vez que parte do volume é ocupada pela fase contínua.

I.2.2 – Polimerização em emulsão

Em geral, o sistema de polimerização em emulsão é composto de uma fase orgânica (monômeros), tensoativo, iniciador hidrossolúvel e uma fase contínua – como a água é normalmente usada como fase contínua. O produto da polimerização em emulsão é chamado de látex, termo usado para se referir à dispersão homogênea estável das nanopartículas poliméricas na fase contínua.²⁷

Os tensoativos são moléculas que apresentam uma cadeia de carbonos, com natureza hidrofóbica, e uma terminação hidrofílica, apresentando em sua estrutura química dois segmentos que possibilitam a interação tanto com a fase orgânica, quanto com a fase aquosa. Se a concentração de tensoativo estiver acima da CMC, as moléculas de tensoativos se organizam formando micelas. A adição e decomposição do iniciador na fase aquosa promove o início da reação de polimerização.

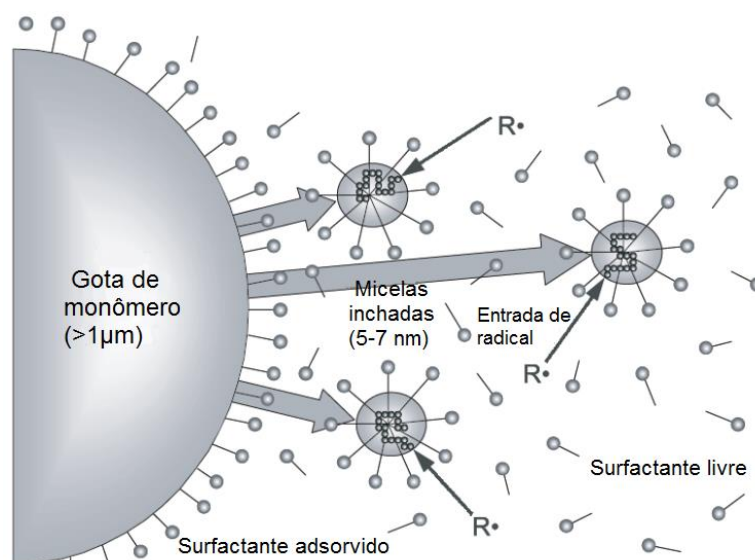


Figura 8: Representação simplificada do sistema de polimerização em emulsão (Adaptada da referência²⁷).

O iniciador hidrossolúvel se decompõe na fase aquosa formando radicais, que reagem com o monômero dissolvido na fase contínua formando os oligorradicais. À medida que os oligorradicais crescem se tornam cada vez mais hidrofóbicos, até serem capturados pelas micelas inchadas com monômero. A reação de polimerização ocorre, portanto, no interior das micelas, principal diferença entre a polimerização em emulsão e a polimerização em suspensão. Na polimerização em suspensão é usado um iniciador hidrofóbico, solúvel na fase orgânica, por isso, a reação de polimerização ocorre no interior das gotas de monômero.²⁷

Na polimerização em emulsão, a formação das partículas, nucleação, ocorre no interior das micelas, por isso, é chamada de nucleação micelar ou nucleação heterogênea. Entretanto, se a concentração de tensoativo estiver abaixo da CMC o oligorradical cresce até o limite de solubilidade na fase aquosa e precipita formando partículas primárias. Este mecanismo de nucleação é chamado de nucleação homogênea.

Quando a concentração de tensoativo está acima da CMC a nucleação micelar é predominante, porém o aumento da solubilidade do monômeros na fase aquosa favorece a

nucleação homogênea. Se não houver quantidade de tensoativo suficiente para estabilizar as partículas formadas, a nucleação homogênea induz a coagulação das partículas, formando coágulos macroscópicos que se depositam na parede do reator e âncora de agitação, dificultando a transferência de calor no meio reacional.²⁷

A reação de polimerização é dividida em três intervalos, representados na Figura 9. O Intervalo I corresponde à fase de nucleação das partículas, neste estágio o número de partículas e a taxa de polimerização aumentam com o tempo. O monômero que estava no interior das micelas é consumido até a exaustão, quando inicia o intervalo II.³³

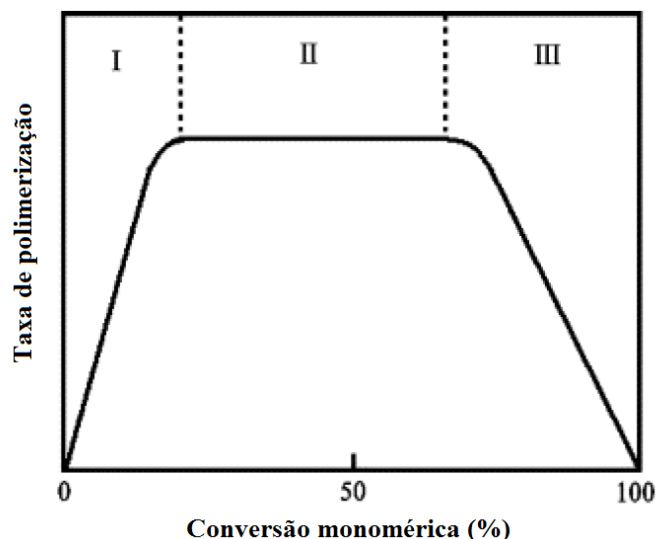


Figura 9: Representação dos três intervalos da reação de polimerização em emulsão.

No intervalo II, o número de partículas se mantém estável e a reação de polimerização ocorre consumindo o monômero das gotas, conforme as moléculas de monômero são incorporadas à cadeia polimérica, outras moléculas difundem das gotas de monômero, através da fase contínua, dando sequência à polimerização. Se não ocorrer a nucleação de novas partículas, a taxa de polimerização se mantém constante durante este intervalo. Quando as gotas de monômero são consumidas, inicia-se o intervalo III.

No intervalo III, o número de partícula se mantém constante e a cadeia polimérica cresce incorporando o monômero residual dissolvido na fase aquosa e presente no interior das partículas. O decréscimo da concentração de monômero no interior das partículas aumenta a viscosidade local, reduzindo a mobilidade do macrorradical e resultando na diminuição da taxa de terminação e aumento do número de radicais por partícula. Este efeito é chamado de efeito gel e é responsável pelo aumento da taxa de reação neste intervalo.

I.2.3 – Polimerização em emulsão com alto teor de sólido

Milhões de toneladas de polímero são produzidos anualmente no mundo utilizando o processo de polimerização em emulsão. Este é o principal método de síntese de materiais de revestimento à base de água, como por exemplo, tintas vinílicas e acrílicas, revestimento de papel, fibras têxtil, adesivos vinílicos, entre outros.³⁶

Na maioria dos processos de polimerização em emulsão utilizados na indústria o teor de sólido do látex, ou seja, o volume de polímero em relação ao volume total de látex, está entre

40 e 55 vol%, o que significa que de 60 a 45 vol% do reator é ocupado por água. É de interesse da indústria que o teor de sólido de um látex seja o maior possível, pois assim, o volume ocupado por água diminui e, conseqüentemente, a produção de polímero aumenta. Além de aumentar a produção e reduzir o consumo de água, a indústria também ganha com a redução de custos com armazenagem e transporte do produto final.³⁶

Porém, o aumento do teor de sólido contribui para o aumento da viscosidade de um látex e acima de 55 vol% de teor de sólido o aumento da viscosidade é significativo. A elevação da viscosidade é indesejável, pois dificulta a homogeneização do meio reacional, dificultando as transferências de massa e de energia no interior do reator, além de dificultar o bombeamento do látex dentro da planta industrial. Por esse motivo, é fundamental compreender a relação entre viscosidade e o teor de sólido de um látex.³⁷

A Figura 10 ilustra a variação da viscosidade em função do teor de sólido de três látexes com diferentes tamanhos de partícula. O aumento do teor de sólidos reduz a distância entre as partículas de um látex contribuindo para o aumento da interação entre elas, resultando no aumento da viscosidade. Além do teor de sólido, observa-se que a distribuição de tamanho de partícula é outro fator que influencia a viscosidade do látex, para um mesmo teor de sólido, o aumento do tamanho de partícula contribui para a redução da viscosidade do látex, o que significa que para possuírem um mesmo valor de viscosidade o látex com partículas pequenas terá um teor de sólidos mais baixo que o látex de partículas grandes. Isso ocorre porque quando o tamanho de partícula diminui, a área superficial efetiva das partículas aumenta, contribuindo para o aumento da atração entre as partículas e, conseqüente, aumento da viscosidade.³⁸

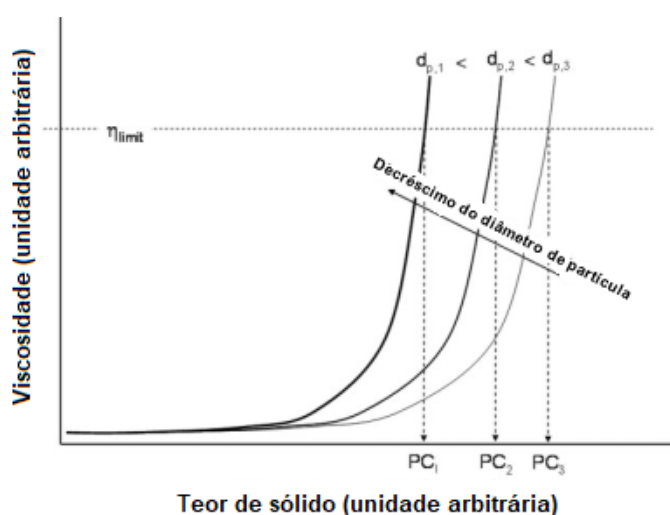


Figura 10: Dependência da viscosidade de látexes monomodais com o teor de sólidos e o diâmetro de partícula (Figura adaptada de Udagama e *et al.*³⁸).

A viscosidade do látex também é influenciada pela força iônica da fase contínua. As espécies iônicas dissolvidas na fase contínua formam uma dupla camada eletrônica sobre a superfície das partículas, expandindo o raio efetivo, o que aumenta a fração volumétrica das partículas em relação ao volume total da dispersão, este efeito contribui para o aumento da viscosidade.³⁶

A fração volumétrica máxima ocupada pelas partículas de um látex monodisperso e formado por partículas esféricas depende do tipo de empacotamento que as partículas estão. Na configuração Cúbica de Face Centrada o valor máximo é de 74 vol%, num empacotamento randômico a fração volumétrica máxima é de 64 vol%, em outras palavras, o teor de sólido máximo de um látex monomodal está entre 74 e 64 vol%. Entretanto, em ambos os empacotamentos o fluxo das partículas é limitado e se estes valores forem alcançados, a viscosidade tende ao infinito.^{36,39,40}

Por esta razão, obter látex com elevado teor de sólido e baixa viscosidade é um grande desafio para a indústria. No entanto, trabalhos da literatura mostram que manipulando a distribuição de tamanho de partícula é possível sintetizar látex com teor de sólido próximo de 70 vol% e com baixa viscosidade. Para isso é preciso que o látex tenha duas ou três populações de partículas com tamanhos diferentes, onde a população de partículas grandes corresponda de 60 a 80 vol% do volume total de polímero e que o diâmetro das partículas da população pequena seja de quatro a oito vezes menor que o diâmetro das partículas grandes.^{41,42}

Schneider *et al.*³⁹ fizeram um estudo experimental sobre a viscosidade de látices bimodal e trimodal com o objetivo de encontrar a condição ótima, ou seja, condição para obtenção de látex com alto teor de sólido e viscosidade mínima. Os autores sintetizaram três látices monomodais com tamanhos de partícula diferentes, 607 nm, 340 nm e 60 nm, a partir dos quais, foram preparadas blendas com diferentes frações de cada população de partícula. A viscosidade das blendas preparadas foi mensurada para diferentes teores de sólido. Os resultados apresentados mostram que para um teor de sólido de 65 vol% a condição de menor viscosidade foi encontrada quando a fração de partículas pequenas esteve entre 10 e 15% (v/v), de partículas médias entre 0 e 10% (v/v) e partículas grandes entre 75 e 80% (v/v).

Além da fração de cada população, a razão entre o tamanho das partículas grandes e partículas pequenas é outro fator que influencia a viscosidade do látex. A Figura 11 ilustra esquematicamente em duas dimensões que é preciso uma razão ótima entre os diâmetros das partículas grandes e pequenas para que a perda de espaço entre as partículas seja mínima.^{39,43}

Na Figura 11a, as partículas pequenas são muito grandes pra ocuparem os interstícios entre as partículas grandes e na Figura 11c, as partículas são pequenas e não ocupam de forma efetiva os interstícios. Na Figura 11d, as partículas pequenas possuem o tamanho ideal para ocuparem os interstícios entre as partículas grandes, no entanto, na Figura 11d, as partículas tem o mesmo tamanho de 11b, mas estão em maior quantidade, sendo observado o mesmo efeito da Figura 11a, onde as partículas pequenas aumentam a distância entre as partículas grandes, aumentando o volume ocupado por elas.

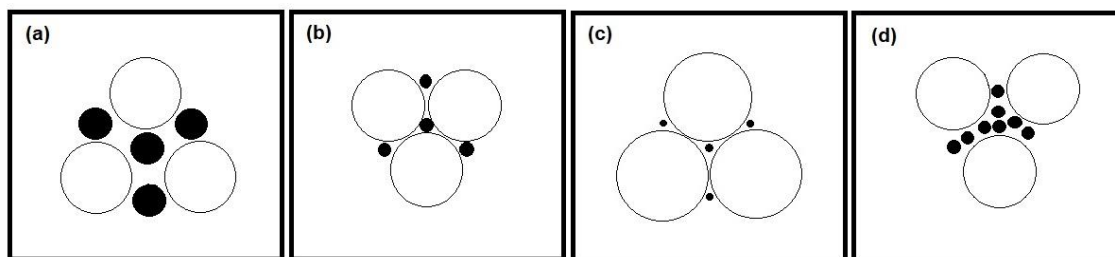


Figura 11: Ilustração em duas dimensões da influência da distribuição de tamanho das partículas na fração volumétrica (Figura adaptada de Schneider *et al.*³⁹).

Os látices multimodais podem ser obtidos, de forma geral, de duas maneiras diferentes: *i*) por blendas de látices monomodais de partículas com diâmetro bem definido ou; *ii*) por formação *in situ* das populações. O problema do método de blendagem de látices monomodais é a dificuldade de concentrar o látex final, uma vez que os látices monomodais apresentam baixo teor de sólido.

No entanto, Schneider *et al.*⁴⁴ obtiveram êxito em sintetizar látices bi- e trimodal estáveis de uma mistura de metacrilato de metila, acrilato de butila e ácido acrílico, com teor de sólido próximo de 65 vol% e viscosidade abaixo de 2500 mPa·s a 20 s⁻¹. Os autores descrevem em seu trabalho dois processos de síntese. No primeiro processo o reator foi alimentado com uma blenda de látices de dois ou três partículas de tamanhos diferentes e em modo semi-batelada o látex foi concentrado para 65 vol% de teor de sólidos e no segundo processo o reator é alimentado com um látex monomodal e criação da outra população de partículas é feita *in situ* por injeção de uma mistura de tensoativo, monômero e iniciador.

Boutti *et al.*⁴⁵⁻⁴⁷ utilizaram o método de geração *in situ* da segunda população. Os autores sintetizaram um látex bimodal com elevado teor de sólido em um processo de quatro estágios. Nos dois primeiros estágios a população de partículas grandes é criada via polimerização em modo batelada e em seguida em modo semi-batelada o látex é concentrado a um teor de sólido de 60 vol%. No terceiro estágio é adicionado ao meio de reação tensoativo e iniciador para nucleação da segunda população de partículas e no quarto estágio o látex é concentrado até o teor de sólido desejado à medida que as duas populações crescem. Os autores obtiveram um látex com teor de sólido de 74 vol% e viscosidade próxima de 1581 mPa·s a 20 s⁻¹.

Porém, outros métodos também podem ser utilizados para a síntese de látex concentrado, por exemplo, Liang *et al.*⁴⁸ obtiveram um látex bimodal de poli(etileno-co-acetato de vinila) em uma única etapa via reação em semi-batelada. O método utilizado pelos autores é baseado na auto-agregação das partículas de forma espontânea durante a reação de polimerização. O látex sintetizado apresentou uma fração de 78,4 vol% de partículas grandes e 21,6 vol% de partículas pequenas e razão diâmetro entre as duas populações de 4,51. Com teor de sólido de 71 vol% a viscosidade ficou abaixo de 300 mPa·s a uma taxa de cisalhamento de 20 s⁻¹.

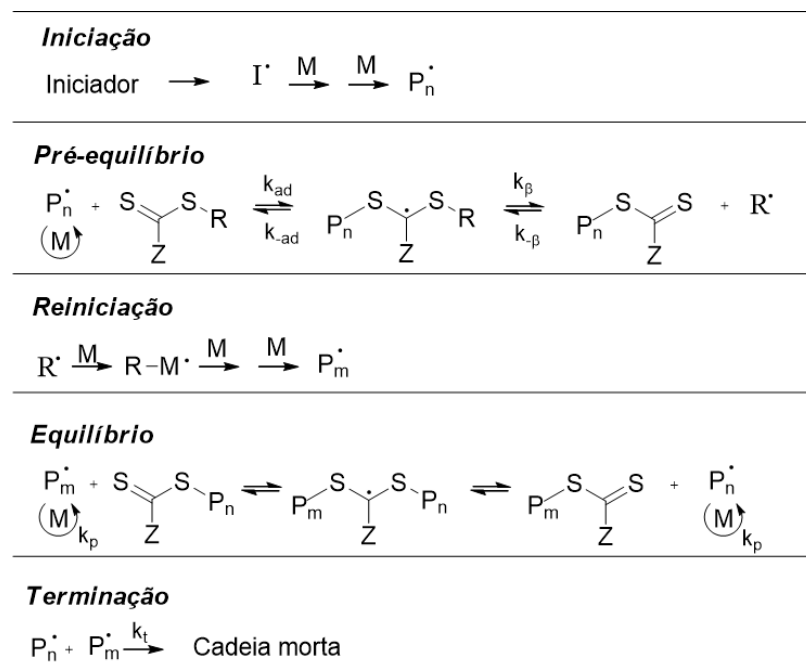
I.2.4 – Polimerização viva/controlada via Transferência Reversível de Cadeia por Adição-Fragmentação (RAFT)

A polimerização viva/controlada é uma técnica utilizada para a síntese de polímeros com distribuição de massa molar estreita e que permite o controle da composição e design de polímeros com estruturas mais complexas, como polímeros em bloco.

A polimerização radicalar controlada segue um mecanismo de reação similar ao observado nas polimerizações radicalares, a diferença básica entre elas é o equilíbrio dinâmico entre as espécies vivas e dormentes devido a um processo reversível de desativação / ativação dos radicais formados no meio de reação.³³

O processo de polimerização RAFT foi descrito pela primeira vez em 1998 por Chiefari *et al.*⁴⁹ e consiste na polimerização radicalar de um monômero na presença de um agente de transferência de cadeia, chamado de agente RAFT, caracterizada por uma reação de transferência reversível entre as cadeias vivas (em crescimento) e cadeias dormentes (desativadas).

O mecanismo da polimerização RAFT é apresentado no Esquema 2 e consiste na sequência de reações de adição e fragmentação. A reação de polimerização começa pela etapa clássica de iniciação da polimerização radicalar com a decomposição do iniciador e formação dos radicais primários. Em seguida, na etapa de propagação, os monômeros são adicionados ao radical formando uma cadeia em crescimento que reage com o agente RAFT. Na etapa de pré-equilíbrio, um radical intermediário é formado e se fragmenta liberando uma cadeia dormente que tem uma extremidade RAFT e um novo radical, que propaga consumindo os monômeros dando origem a uma nova cadeia polimérica viva. Rapidamente é estabelecido o equilíbrio entre as espécies vivas e dormentes e a reação de transferência acontece de forma mais rápida que a reação de propagação, garantindo que as cadeias cresçam de forma linear.⁵⁰⁻⁵²



Esquema 2

Assim, para garantir uma distribuição estreita de massa molar as condições experimentais devem ser pensadas de forma que o agente RAFT seja consumido no estágio inicial da reação e que o equilíbrio seja atingido rapidamente.⁵³

Além das condições experimentais, a estrutura química do agente RAFT tem grande importância para o controle do crescimento da cadeia polimérica. Estes compostos possuem uma função tiocarbonila ligada a dois outros grupos diferentes, Z e R (Figura 11).⁵⁴

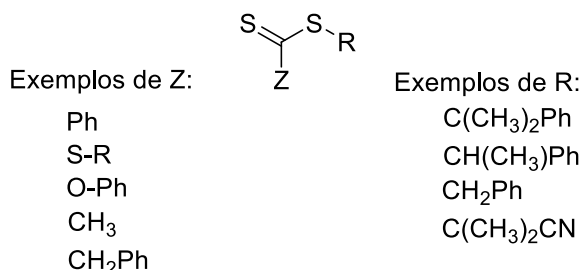


Figura 12: Estrutura química de um agente RAFT.

Para reações convencionais, a constante de transferência de cadeia (k_{tr}) é a razão entre a constante da taxa de transferência (k_{tr}) e constante da taxa de propagação (k_p). No entanto, para as reações que as espécies reagem por adição e fragmentação, como as reações de polimerização RAFT, k_{tr} depende da constante da taxa de adição (k_{ad}) e da constante da taxa de fragmentação (k_{β}) de acordo com a Equação 1.^{52,55}

$$k_{tr} = k_{ad} \frac{k_{\beta}}{k_{-ad} + k_{\beta}} \quad (\text{Equação 1})$$

Assim, a constante de transferência do agente RAFT pode variar entre 0,01 e 1000 dependendo dos substituintes Z e R. Logo, para garantir a eficiência do controle da reação de polimerização é preciso selecionar cuidadosamente os substituintes do agente RAFT. O grupo Z é responsável pela ativação da dupla ligação C=S para favorecer a adição dos radicais e influencia na estabilidade do radical intermediário. A constante de transferência diminui na série onde Z é aril > alquil ~ alquiltio ~ pirrol > amido > alcoxi > dialquilamino. De forma geral, o grupo R determina a atividade do agente RAFT, devendo ser um bom grupo de saída e o radical R^{*} deve ser um radical mais estável que o radical P_n^{*} em crescimento para que a reiniciação seja favorecida. A ordem decrescente da eficiência do grupo R como grupo de saída é apresentado na Figura 12.^{52-54,56}

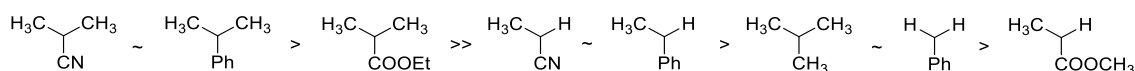


Figura 13: Ordem decrescente da eficiência do grupo R.

O mais interessante da polimerização viva / controlada é a possibilidade de sintetizar macromoléculas específicas, com baixa dispersão de massa molar e composição química controlada, características que tornam esta técnica a mais eficiente para a obtenção de polímeros em bloco, com composição bem definida e baixa heterogeneidade. Após o consumo

do primeiro monômero, as cadeias poliméricas continuam ativas e quando o segundo monômero é adicionado, a reação de polimerização continua, e tudo isso em uma única etapa.⁵⁶

Velasquez *et al.*⁵⁷ obtiveram sucesso ao utilizarem a técnica de polimerização RAFT na síntese de copolímeros em bloco anfifílico, a reação foi conduzida em solução de 1,4-dioxano à 30 °C. Inicialmente foi preparado o bloco hidrofóbico a partir do cloreto de vinilideno e acrilato de metila e, em seguida, o bloco hidrofílico foi obtido a partir do ácido acrílico.

Um copolímero em bloco anfifílico consiste em um copolímero que tem um bloco hidrofóbico e outro bloco hidrofílico, blocos estes que conferem ao polímero características de tensoativo e, por isso, são usados como emulsificantes e dispersantes. Além disso, esta característica permite o auto-ordenamento das cadeias poliméricas formando micelas e dispensando o uso de tensoativos na polimerização em emulsão.⁵⁸

Chaduc *et al.*^{59,60} sintetizaram nanopartículas poliméricas em emulsão sem adição de tensoativo. No primeiro trabalho⁵⁹, os autores sintetizaram de forma controlada um homopolímero de ácido metacrílico em meio aquoso. Já no segundo trabalho⁶⁰, após o crescimento do bloco de poli(ácido metacrílico) – bloco hidrofílico – adicionam estireno ao meio reacional fazendo crescer o bloco hidrofóbico. A característica anfifílica das cadeias poliméricas induz a polimerização auto-ordenada ou PISA, que vem da expressão em inglês *polymerization-induced self-assembly*, processo responsável pela nucleação das nanopartículas.

Além da nucleação de partículas, o processo por PISA é uma ferramenta para a síntese de vesículas, que podem ser usadas para encapsulamento de fármacos em sistemas de liberação controlada. Além de dispensar a adição de tensoativos, por ser conduzida em um único pote, simplifica o processo de obtenção destes materiais e também permite a funcionalização da superfície destes materiais melhorando a eficiência no processo de entrega dos fármacos.^{61,62}

Em vista da versatilidade das reações de polimerização radicalar devido à larga gama de monômeros que polimerizam via mecanismo radicalar, à simplicidade do sistema reacional com temperaturas de reação entre 25 e 100 °C e baixa pressão, a possibilidade de arquitetar as cadeias poliméricas permite modificações nas propriedades dos polímeros e a síntese de novos materiais com as mais diversas aplicações.⁶³⁻⁶⁵

I.3 – Referências bibliográficas

- (1) Honorio, I. C. G.; Bonfim, F. P. G.; Montoya, S. G.; Casali, V. W. D.; Leite, J. P. V.; Cecon, P. R. *Acta Scientiarum-Agronomy* **2016**, 38, 69.
- (2) Benvenuti, S.; Bortolotti, E.; Maggini, R. *Scientia Horticulturae* **2016**, 199, 170.
- (3) Hernandez-Saavedra, D.; Perez-Ramirez, I. F.; Ramos-Gomez, M.; Mendoza-Diaz, S.; Loarca-Pina, G.; Reynoso-Camacho, R. *Medicinal Chemistry Research* **2016**, 25, 163.
- (4) Kishimoto, S.; Maoka, T.; Sumitomo, K.; Ohmiya, A. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **2005**, 69, 2122.
- (5) Kaskoniene, V.; Kaskonas, P.; Jalinskaite, M.; Maruska, A. *Chromatographia* **2011**, 73, S163.
- (6) Cabral, L. D.; Pinto, V. F.; Patriarca, A. *European Journal of Plant Pathology* **2016**, 145, 363.

- (7) Moraes, M. L. L.; da Silva, H. D. T.; Blanes, L.; Doble, P.; Tavares, M. F. M. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2016**, *125*, 408.
- (8) Brunetin, J. *Pharmacognosie: Phytochimie Plantes médicinales*; 3ª ed.; Techniques & Documentation: Paris, 1999.
- (9) Slavov, A.; Panchev, I.; Kovacheva, D.; Vasileva, I. *Food Hydrocolloids* **2016**, *61*, 469.
- (10) Monteschio, J. D. O.; de Souza, K. A.; Vital, A. C. P.; Guerrero, A.; Valero, M. V.; Kempinski, E.; Barcelos, V. C.; Nascimento, K. F.; do Prado, I. N. *Meat Science* **2017**, *130*, 50.
- (11) Teixeira, B.; Marques, A.; Ramos, C.; Neng, N. R.; Nogueira, J. M. F.; Saraiva, J. A.; Nunes, M. L. *Industrial Crops and Products* **2013**, *43*, 587.
- (12) Kontogianni, V. G.; Tomic, G.; Nikolic, I.; Nerantzaki, A. A.; Sayyad, N.; Stosic-Grujicic, S.; Stojanovic, I.; Gerothanassis, I. P.; Tzakos, A. G. *Food Chemistry* **2013**, *136*, 120.
- (13) Baratta, M. T.; Dorman, H. J. D.; Deans, S. G.; Figueiredo, A. C.; Barroso, J. G.; Ruberto, G. *Flavour and Fragrance Journal* **1998**, *13*, 235.
- (14) Amar, Y.; Meddah, B.; Bonacorsi, I.; Costa, G.; Pezzino, G.; Saija, A.; Cristani, M.; Boussahel, S.; Ferlazzo, G.; Meddah, A. T. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **2017**, *16*, 315.
- (15) Vallverdu-Queralt, A.; Regueiro, J.; Martinez-Huelamo, M.; Alvarenga, J. F. R.; Leal, L. N.; Lamuela-Raventos, R. M. *Food Chemistry* **2014**, *154*, 299.
- (16) Lee, K. G.; Shibamoto, T. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 4947.
- (17) Yang, Y.; Song, X. X.; Sui, X. N.; Qi, B. K.; Wang, Z. J.; Li, Y.; Jiang, L. Z. *Industrial Crops and Products* **2016**, *80*, 141.
- (18) Amorati, R.; Foti, M. C.; Valgimigli, L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2013**, *61*, 10835.
- (19) Perez-Sanchez, A.; Barrajon-Catalan, E.; Caturla, N.; Castillo, J.; Benavente-Garcia, O.; Alcaraz, M.; Micol, V. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* **2014**, *136*, 12.
- (20) Ojeda-Sana, A. M.; van Baren, C. M.; Elechosa, M. A.; Juarez, M. A.; Moreno, S. *Food Control* **2013**, *31*, 189.
- (21) Sikkema, J.; Debont, J. A. M.; Poolman, B. *Clinical Microbiology Reviews* **1995**, *59*, 201.
- (22) Uribe, S.; Ramirez, J.; Pena, A. *Journal of Bacteriology* **1985**, *161*, 1195.
- (23) Dorman, H. J. D.; Deans, S. G. *Journal of Applied Microbiology* **2000**, *88*, 308.
- (24) Griffin, S. G.; Wyllie, S. G.; Markham, J. L.; Leach, D. N. *Flavour and Fragrance Journal* **1999**, *14*, 322.
- (25) Bomfim, N. D.; Nakassugi, L. P.; Oliveira, J. F. P.; Kohiyama, C. Y.; Mossini, S. A. G.; Grespan, R.; Nerilo, S. B.; Mallmann, C. A.; Abreu, B. A.; Machinski, M. *Food Chemistry* **2015**, *166*, 330.
- (26) Pesavento, G.; Calonico, C.; Bilia, A. R.; Barnabei, M.; Calesini, F.; Addona, R.; Mencarelli, L.; Carmagnini, L.; Di Martino, M. C.; Lo Nostro, A. *Food Control* **2015**, *54*, 188.
- (27) Odian, G. G. *Principles of polymerization*; 4 ed.; John Wiley & Sons: New York, 2004.
- (28) Chanda, M. *Introduction to polymer science and chemistry : a problem solving approach*; Taylor & Francis, 2006.
- (29) Braun, D. *Polymer synthesis : theory and practice : fundamentals, methods, experiments*; Third edition. Berlin ; New York : Springer, 2001.
- (30) Xie, L.; Luo, Z.-H. *Macromolecular Reaction Engineering* **2016**, *10*, 479.
- (31) Woloszyn, J. D.; Hesse, P.; Hungenberg, K. D.; McAuley, K. B. *Macromolecular Reaction Engineering* **2013**, *7*, 293.
- (32) edited by José, M. A. *Polymer reaction engineering*; Oxford ; Ames, Iowa : Blackwell Pub., 2007.
- (33) Moad, G. *The chemistry of radical polymerization*; Second fully revised edition. Amsterdam ; Boston : Elsevier, 2006.
- (34) Xie, G. M.; Pan, P. J.; Bao, Y. Z. *Journal of Applied Polymer Science* **2016**, *133*, 43632.
- (35) Machado, F.; Lima, E. L.; Pinto, J. C. *Polímeros* **2007**, *17*, 166.
- (36) Guyot, A.; Chu, F.; Schneider, M.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Progress in Polymer Science* **2002**, *27*, 1573.

- (37) Schneider, M.; Graillat, C.; Guyot, A.; Betremieux, I.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1935.
- (38) Udagama, R.; McKenna, T. F. L. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, *115*, 2668.
- (39) Schneider, M.; Claverie, J.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1878.
- (40) Schneider, M.; Graillat, C.; Guyot, A.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1897.
- (41) Do Amaral, M.; Van Es, S.; Asua, J. M. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2004**, *42*, 3936.
- (42) Pishvaei, M.; Graillat, C.; Cassagnau, P.; McKenna, T. F. *Chemical Engineering Science* **2006**, *61*, 5768.
- (43) Pishvaei, M.; Graillat, C.; McKenna, T. F.; Cassagnau, P. *Journal of Rheology* **2007**, *51*, 51.
- (44) Schneider, A.; Graillat, C.; Guyot, A.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1916.
- (45) Boutti, S.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Polymer* **2005**, *46*, 1189.
- (46) Boutti, S.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Polymer* **2005**, *46*, 1211.
- (47) Boutti, S.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Polymer* **2005**, *46*, 1223.
- (48) Liang, R. X.; Zhang, P. P.; Wei, C. Q.; Li, H. S.; Wang, Z. P.; Huang, X. P.; Yin, W. S.; Chen, X. P. *Progress in Organic Coatings* **2017**, *110*, 86.
- (49) Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559.
- (50) Wang, A. R.; Zhu, S. P. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2003**, *41*, 1553.
- (51) Peklak, A. D.; Butte, A. *Macromolecular Theory and Simulations* **2006**, *15*, 546.
- (52) Moad, G.; Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Krstina, J.; Mayadunne, R. T. A.; Postma, A.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Polymer International* **2000**, *49*, 993.
- (53) Zhang, Z. B.; Zhu, X. L.; Zhu, J.; Cheng, Z. P. *Polymer* **2006**, *47*, 6970.
- (54) Takada, K.; Matsumoto, A. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2017**, *55*, 3266.
- (55) Derboven, P.; Van Steenberge, P. H. M.; Reyniers, M. F.; Barner-Kowollik, C.; D'Hooge, D. R.; Marin, G. B. *Macromolecular Theory and Simulations* **2016**, *25*, 104.
- (56) Matyjaszewski, K.; Müller, A. H. E. *Controlled and Living Polymerizations: From Mechanisms to Applications*; John Wiley & Sons, 2009.
- (57) Velasquez, E.; Pembouong, G.; Rieger, J.; Stoffelbach, F.; Boyron, O.; Charleux, B.; D'Agosto, F.; Lansalot, M.; Dufils, P. E.; Vinas, J. *Macromolecules* **2013**, *46*, 664.
- (58) Gyorgy, C.; Lovett, J. R.; Penfold, N. J. W.; Armes, S. P. *Macromolecular Rapid Communications* **2019**, *40*, 7.
- (59) Chaduc, I.; Lansalot, M.; D'Agosto, F.; Charleux, B. *Macromolecules* **2012**, *45*, 1241.
- (60) Chaduc, I.; Girod, M.; Antoine, R.; Charleux, B.; D'Agosto, F.; Lansalot, M. *Macromolecules* **2012**, *45*, 5881.
- (61) Xu, X. F.; Pan, C. Y.; Zhang, W. J.; Hong, C. Y. *Macromolecules* **2019**, *52*, 1965.
- (62) Zhao, J. Q.; Yan, C. X.; Chen, Z.; Liu, J. J.; Song, H. J.; Wang, W. W.; Liu, J. F.; Yang, N.; Zhao, Y. P.; Chen, L. *Journal of Colloid and Interface Science* **2019**, *540*, 66.
- (63) Zhang, R. S.; Jones, M. M.; Moussa, H.; Keskar, M.; Huo, N. B.; Zhang, Z. Q.; Visser, M. B.; Sabatini, C.; Swihart, M. T.; Cheng, C. *Biomaterials Science* **2019**, *7*, 287.
- (64) Hosseinzadeh, S.; Hosseinzadeh, H.; Pashaei, S.; Khodaparast, Z. *International Journal of Biological Macromolecules* **2019**, *121*, 677.
- (65) Contreras-Lopez, D.; Fuentes-Ramirez, R.; Albores-Velasco, M.; de los Santos-Villarreal, G.; Saldivar-Guerra, E. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2018**, *56*, 2463.

Capítulo II: Técnicas de caracterização

1. Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas

Composição dos óleos essenciais

A composição dos OEs foi determinada por cromatografia em fase gasosa utilizando um cromatógrafo a gás GC-2010 Shimadzu com detector GCMS-QP2010 Plus e injetor automático AOC-5000, equipado com uma coluna Rtx-5MS (Restek) (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília. O gás utilizado foi hélio, a uma vazão de 1,2 mL·min⁻¹, rampa de aquecimento de 50 a 240 °C com taxa de 5 °C·min⁻¹. A identificação dos constituintes foi feita por comparação dos espectros de massas obtidos com os espectros de massas disponível no banco de dados do equipamento e com dados da literatura.

Eficiência de encapsulamento

A eficiência do método de encapsulamento do OE de *R. officinalis* foi determinada baseada no OE livre (não encapsulado) utilizando a Equação 2:

$$EE\% = \frac{(\text{óleo total}) - (\text{óleo livre})}{(\text{óleo total})} \quad (\text{Equação 2})$$

O OE livre foi determinado por cromatografia em fase gasosa utilizando um cromatógrafo a gás GC-2010 Shimadzu com detector GCMS-QP2010 Plus e injetor automático AOC-5000, equipado com uma coluna Rtx-5MS (Restek) (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília. O gás utilizado foi hélio, a uma vazão de 1,2 mL·min⁻¹, rampa de aquecimento de 50 a 240 °C com taxa de 5 °C·min⁻¹. As amostras foram preparadas misturando 2 mL de hexano à 2 mL da suspensão polimérica. A mistura foi centrifugada e o sobrenadante contendo o OE livre foi analisado em triplicata e a quantidade de óleo essencial livre foi determinada comparando os resultados com uma curva de calibração preparada a partir de concentração definidas do OE.

2. Ressonância Magnética Nuclear

Composição do óleo essencial

A quantificação dos compostos majoritários do OE de *Romarinus officinalis* foi feita a partir dos espectros de RMN do OE e dos compostos 1,8-cineol, cânfora e α-pineno. Para aquisição dos espectros foi utilizado o equipamento de RMN (Bucker 600 Ascend, instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília, equipado com uma sonda de 5 mm, operando a 600 MHz. Cerca de 10 mg de amostra e 10 mg do padrão interno ácido benzoico foram dissolvidas em 1 mL de clorofórmio deuterado e os espectros foram adquiridos a 25 °C.¹

Conversão das polimerizações RAFT

As conversões molares dos monômeros foram determinadas por RMN ^1H utilizando o equipamento de RMN (Bruker AC300 MHz, Varian Instruments) equipado com uma sonda de 54 mm, operando a 300 MHz, instalado no Laboratório de Química de Superfície de Organometálicos da Universidade Claude Bernard Lyon 1 na França. Uma gota do meio reacional foi dissolvida 0,5 mL de água deuterada e os espectros foram adquiridos a 25 °C, utilizando 1,3,5- trioxano como padrão interno.

3. Cálculo de conversão por gravimétrica

Análise gravimétrica foi utilizada para calcular as conversões das reações poliméricas. Durante a reação, foram retiradas alíquotas do material, as massas foram anotadas antes e depois de serem secas até peso constante em uma estufa a 60 °C e então as conversões calculadas segundo a Equação 3.

$$x = \frac{m_p}{m_a \times f_o} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

x = conversão

m_p = massa do polímero seco

m_a = massa da alíquota

f_o = concentração da fase orgânica em relação à fase aquosa

4. Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliar a morfologia e organização das partículas poliméricas obtidas. As amostras foram fixadas sobre os *stubs* (suportes) utilizando uma fita de carbono e, em seguida, recobertas com uma fina camada de ouro. As análises, então, foram feitas em equipamento da JEOL, modelo JSM-7001F operando em uma voltagem de aceleração de 15 keV, instalado no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília.

5. Microscopia Eletrônica de Transmissão

As imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foram obtidas em um equipamento Philips CM120 electron microscope operando em uma voltagem de 100 kV, instalado no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. As amostras foram preparadas pela secagem de uma gota de amostra diluída sobre um grid de cobre coberto de carbon e um filme de formivar. (Ted Pella, Inc.).

6. Tamanho médio de partícula

A distribuição de tamanho de partícula (DTP) foi determinada medindo o diâmetro de mais de 300 partículas (número suficiente para garantir a DTP estatisticamente representativa), a partir de imagens obtidas por microscopia eletrônica.

7. Espalhamento de Luz Dinâmica

O tamanho de partícula durante as reações de polimerização em emulsão foi medido pela técnica de Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS) em um instrumento Nano Zetasizer Malvern, instalado no Laboratório de Química e Processos de Polimerização da Universidade Claude Bernard Lyon 1 na França. As amostras foram diluídas em água destilada e analisadas em triplicata

8. Calorimetria Diferencial de Varredura

As temperaturas de transição vítrea dos polímeros foram determinadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC) utilizando um calorímetro Shimadzu DSC-60, instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília, em atmosfera de hélio com vazão de $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. As placas de alumínio foram preparadas utilizando entre 7 e 8 mg de amostra. As análises seguiram o mesmo perfil, com taxas de aquecimento constantes ($10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) e duas rampas de aquecimento ($-50 \text{ }^\circ\text{C}$ a $200 \text{ }^\circ\text{C}$). Os dados obtidos a partir da segunda rampa de aquecimento foram utilizados para determinar a temperatura de transição vítrea.

9. Termogravimetria

A estabilidade térmica dos materiais foi determinada por análise termogravimétrica, utilizando o equipamento da Shimadzu, modelo DTG-60H, instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília. As amostras foram colocadas em cadinhos de platina, contendo aproximadamente 8,0 mg de amostra. As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio, com vazão de $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com aquecimento, de 25 a $800 \text{ }^\circ\text{C}$ e taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

10. Cromatografia de Permeação em Gel

Massa molar média e a distribuição de massa molar foram determinadas por cromatografia de permeação em gel utilizando o equipamento Viscotek GPCmax (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, United Kingdom), instalado na Central Analítica o Instituto de Química da Universidade de Brasília, com detector de índice de refração, colunas KF-802.5, KF-804L e KF-805L instaladas em série e loop de injeção de $100 \mu\text{L}$. As amostras foram preparadas com os polímeros secos em solução de tetrahidrofurano (THF) em uma concentração de $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. O THF foi usado como fase móvel com fluxo de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$. A curva de calibração foi construída com padrões de poliestireno com peso molecular na faixa de $1200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ a $4500 \times 10^6 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ com dispersão de peso molecular em torno de 1.

As massas molares médias em número (M_n) e as dispersões de massa molar ($\mathcal{D}=M_w/M_n$) dos macroRATFs foram determinadas utilizando o equipamento Viscotek TDA305 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, United Kingdom), instalado no Laboratório de

Química e Processos de Polimerização da Universidade Claude Bernard Lyon 1 na França, equipado com detector de índice de refração ($\lambda = 670 \text{ nm}$), detector de UV, e 3 colunas da Malvern [T6000M General Mixed Org (300 x 8 mm)], instaladas em série e loop de injeção de 100 μL . Antes da análise, as amostras foram modificadas por metilação dos grupos ácidos carboxílico com diazometano trimetilsilano (TMS).

A modificação das funções ácidas presentes no polímero para funções éster é necessária para análise destes materiais por GPC em THF. As amostras foram dissolvidas em uma mistura de THF e água destilada e então, gota a gota foi adicionado o TMS até que a mistura obtivesse uma coloração amarela. As amostras foram mantidas sob agitação por 15h, em seguida, os solventes foram evaporados na capela. Os polímeros secos foram dissolvidos diretamente em THF para uma concentração de $5,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. O THF foi usado como fase móvel com fluxo de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$. A curva de calibração foi construída com padrões de polimetacrilato de metila.

11. Espectroscopia UV/Vis

A eficiência do método de encapsulamento do OE de *C. officinalis* foi avaliada por espectroscopia UV/Vis utilizando um espectrômetro de absorção CaryWin 50 Varian, instalado no Laboratório AQQUA da Universidade de Brasília.

As amostras foram preparadas misturando 3 mL de hexano à 1 mL da suspensão polimérica. A mistura foi centrifugada e o sobrenadante contendo o OE livre foi analisado em triplicata e a quantidade de óleo essencial livre foi determinada comparando os resultados com uma curva de calibração preparada a partir de concentração definidas do OE.

12. Teste de identificação de peróxido

A presença de peróxido residual no polímero foi identificada utilizando iodeto de potássio como indicador. Foi preparada uma solução ácida com 1 mL de ácido acético glacial e 0,1 g iodeto de potássio (KI). Em um tudo de ensaio foram adicionados 1 mL do material polimérico e 1 mL da solução ácida contendo KI e a mistura foi agitada. O aparecimento da coloração amarelada indica a presença de peróxido na amostra.

13. Determinação de índice de peróxido no polímero

O índice de peróxido no polímero foi determinado por titulação. Em um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 5 g da amostra, 30 mL de uma solução de ácido acético e água destilada, 3:2 (v/v), e 1,0 mL de uma solução de iodeto de potássio (KI) preparada em um balão volumétrico de 10 mL com 5 g do sal. A amostra foi titulada com uma solução 0,01 N de tiosulfato de sódio penta hidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Para facilitar observar o ponto final da titulação foi acrescentado próximo ao ponto de viragem 0,5 mL de uma solução de 5% de amido 5%. O índice de peróxido determinado em meq / 1000g de amostra.

Padronização da solução de tiosulfato de sódio

A solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilizada na titulação foi padronizada a partir da titulação de uma solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Foram preparados 175 mL de uma solução a partir de 0,49 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 2,8 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado e 0,7 g de KI. Esta solução foi titulada com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ até que a mudança da cor castanha para amarela, em seguida foram acrescentados 0,5 mL da solução de amido e a titulação continuou até a cor azul desaparecer.

14. Viscosidade

A viscosidade dos látices foi determinada em um reômetro Thermo Scientific HAAKE MARS, instalado no Laboratório de Química e Processos de Polimerização da Universidade Claude Bernard Lyon 1 na França, utilizando a geometria de Couette, que são dois cilindros coaxiais. Um dos cilindros foi preenchido com 0,4 mL da amostra de látex e mantido estático, enquanto o outro girava a uma taxa de cisalhamento de 20 s^{-1} . A viscosidade do látex foi mensurada a partir do torque necessário para manter o rotor à velocidade constante.

(1) Almeida, N. S.; Benedito, L. E. C.; Maldaner, A. O.; de Oliveira, A. L. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2018**, 29, 1944.

Capítulo III: Avaliação da atividade antifúngica e composição dos óleos essenciais

III.1 – Introdução

O tratamento convencional para micoses, normalmente, é feito com o uso oral e utópico de antibióticos. No entanto, além dos efeitos adversos dos medicamentos, o uso de antibióticos pode levar ao desenvolvimento de resistência microbiológica ao medicamento. Neste contexto, os óleos essenciais que apresentam atividade antifúngica podem ser uma alternativa para a prevenção do crescimento de fungos patogênicos, e no tratamento de onicomicoses de paciente imunodeprimidos, tendo em vista que o desenvolvimento de resistência aos óleos essenciais é raro.¹

Óleos essenciais são misturas de compostos naturais e voláteis, derivados do metabolismo secundário de plantas, que muitas vezes são produzidos para atuarem como mecanismo de defesa contra invasores. Por esse motivo, muitos óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana, propriedade que tem sido cada vez mais explorada pela indústria farmacêutica, de cosméticos e também de alimentos.^{2,3}

Da mistura de compostos químicos que compõem o óleo essencial, dois ou três compostos majoritários caracterizam o óleo essencial e são responsáveis pelas propriedades biológicas. Os óleos essenciais de *Calendula officinalis* são ricos em flavanoides, terpenos, carotenóides e saponinas e apresentam propriedades anti-inflamatórias, antioxidante e antifúngica, já o óleo essencial de *Romarinus officinalis* são ricos em terpenóides e apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana.

No entanto, para uma mesma espécie vegetal a composição dos óleos essenciais pode variar devido a diferentes fatores, tais como: condições de cultivo da planta, adubação, irrigação, condições climáticas e de solo, período de colheita, das partes da planta que serão usadas para a extração e o método de extração.^{4,5}

Assim, os óleos essenciais de uma mesma espécie podem apresentar composições diferentes e para se iniciar estudos sobre algum óleo essencial é preciso inicialmente determinar a sua composição e avaliar as suas propriedades.

Sendo assim, este capítulo é focado no estudo dos óleos essenciais de *Calendula officinalis* e *Romarinus officinalis*, onde foram realizados testes de atividade antifúngica para fungos da espécie *Candida* para determinar as concentrações mínimas inibitórias e fungicidas de cada um e análises de composição química.

III.2 – Materiais e métodos

III.2.1 – Reagentes utilizados

As espécies de referência utilizadas no estudo pertencem à *American Type Culture Collection* (ATCC) foram *Candida albicans* ATCC SC 5314, *Candida glabrata* ATCC 2001 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Nos testes de avaliação de atividade antifúngica foram utilizados os óleos essenciais de *Calendula officinalis* (*C. officinalis*, Laszlo, Alemanha) e *Romarinus officinalis* (*R. officinalis*, Mundo dos óleos, Brasil) e os seguintes reagentes: água ultrapura esterilizada, Tween 80 (Merck; Alemanha) utilizado como emulsificante, meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (Acumedia; Brasil), meio de cultura Caldo Agar Dextrose (Acumedia; Brasil) e como padrão antifúngico foi utilizado o fluconazol (Sigma-Aldrich; Brasil).

III.2.1 – Método

Suspensão do óleo essencial

Para avaliação da Concentração Inibitória Mínima, foram preparados, inicialmente, 5 mL da suspensão dos óleos essenciais (OEs) com concentração de 0,144 g.mL⁻¹. Em um tubo estéril, foram adicionados 4,2 mL de água destilada e estéril, 0,8 mL do OE e 0,1 mL de Tween 80, em seguida a mistura foi mantida sob agitação por 3 min em agitador Vortex (Phoenix, Brasil).

Suspensão fúngica

Durante 24 horas as cepas de *Candida* foram cultivadas em meio Agar Sabouraud Dextrose, e então as suspensões fúngicas foram preparadas para uma concentração final de 2x10³ unidades formadoras de colônia (CFU)·mL⁻¹.

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pelo método microdiluição de acordo o protocolo CLSI M27-A2 com algumas modificações. A atividade antifúngica dos OEs foi testada para espécies de *Candida* com diluições seriadas segundo a Tabela 1.

Tabela 1: Concentrações das diluições seriadas testadas para a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Calendula officinalis* e *Romarinus officinalis*.

	<i>Candida albicans</i> ATCC SC5314	<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019
<i>Calendula officinalis</i>	72 a 0,56 mg.mL ⁻¹	*	72 a 0,56 mg.mL ⁻¹
<i>Romarinus officinalis</i>	18 a 1,13 mg.mL ⁻¹	18 a 1,13 mg.mL ⁻¹	18 a 1,13 mg.mL ⁻¹

*Não foi testada a atividade microbiana do óleo essencial de *Calendula officinalis* para a espécie *Candida glabrata*.

Tabela 2: Relações entre as concentrações em mg.mL⁻¹ e porcentagem.

Concentração (mg.mL ⁻¹)	72	36	18	9	4,5	2,25	1,13	0,56	0,28
Concentração (%)	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03

Nos poços do controle positivo foram adicionados 100 µL da suspensão fúngica (2×10^3 UFC.mL⁻¹), em seguida, 100 µL da solução de fluconazol com concentração de 2,0 g.mL⁻¹, nos poços de controle de crescimento foram adicionados 100 µL do meio e 100 µL da suspensão fúngica (2×10^3 UFC.mL⁻¹), e nos poços de controle de esterilidade foram adicionados apenas 200 µL do meio de cultura. A microplaca foi incubada a 37 ± 2 °C por 48 horas. A CIM foi definida como a concentração mais baixa que produzia visível inibição do crescimento dos fungos.

Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A Concentração Fungicida Mínima foi obtida por meio de semeadura em meio Agar Sabouraud Dextrose (Acumedia; Brasil) de alíquotas de 10 µL da concentração em que não foi observado o crescimento dos fungos e das concentrações superior e inferior. Após a semeadura as placas foram incubadas à 37 ± 2 °C por 24 horas, ao final deste período as placas foram observadas. A CFM foi considerada como a mais baixa concentração onde o crescimento de menos de três colônias foi observado.

Os testes foram realizados em triplicata para todas as espécies testadas.

III.3 – Resultados e discussões

III.3.1 – Avaliação da atividade antifúngica e composição do óleo essencial de *Calendula officinalis*

A avaliação da atividade antifúngica do OE de *C. officinalis* foi realizada por meio da técnica adaptada de microdiluição e os resultados dos ensaios para determinação das CIM e CFM para as espécies *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 : Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima do óleo essencial de *Calendula officinalis* para espécies de *Candida*.

Espécie	Concentração Inibitória Mínima		Concentração Fungicida Mínima	
	(mg.mL ⁻¹)	(%)	(mg.mL ⁻¹)	(%)
<i>Candida albicans</i> SC5314	>72	>8	>72	>8
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	36	4	72	8

Os resultados mostram que a espécie *C. parapsilosis* apresenta maior sensibilidade ao OE que a espécie *C. albicans*. Não foi possível determinar a CIM e nem CFM para a *C. albicans*, pois estão acima das concentrações testadas, porém a análise das imagens das placas de cultura apresentadas na Figura 14 mostram que o crescimento do fungo é influenciado pela variação da concentração do OE.

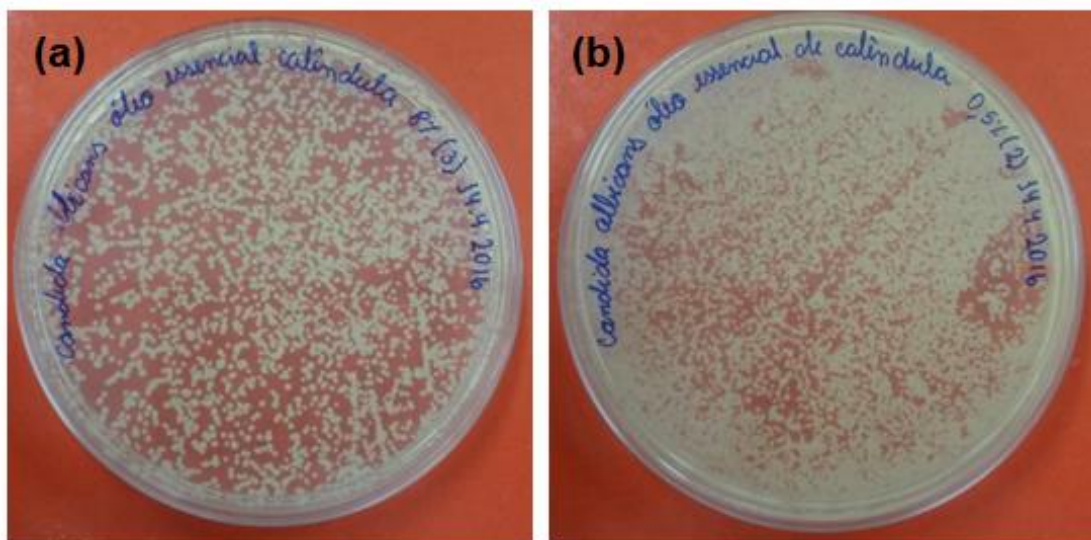


Figura 14: Influência da concentração de óleo essencial de *Calendula officinalis* no crescimento do fungo *Candida albicans* (a) placa de cultura tratada com 8% do óleo essencial e (b) placa de cultura tratada com 0,5% do óleo essencial.

As propriedades de um OE estão relacionadas com a sua composição química. Na Figura 15 é apresentado o cromatograma de CG/MS do OE de *C. officinalis* e na Tabela 4 são listados os compostos de acordo com os tempos de retenção.

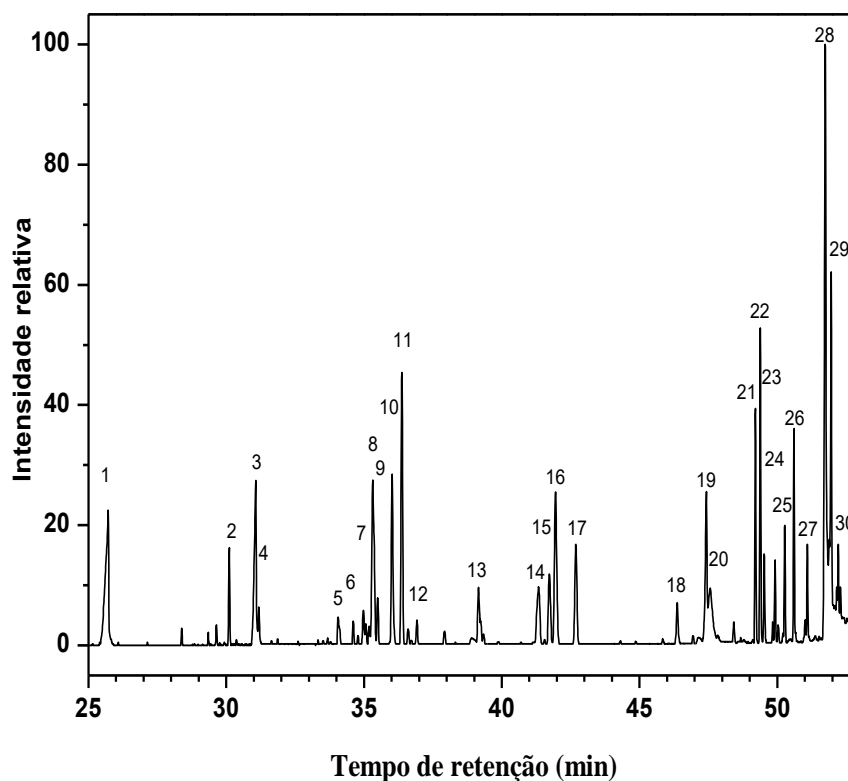


Figura 15: Cromatograma de CG/MS do óleo essencial *Calendula officinalis*.

Tabela 4: Componentes identificados no óleo essencial de *Calendula officinalis* pela análise de CG/MS.

Número do pico	Componentes	Tempo de retenção (min)
1	ácido caprílico	25,7
2	acetato de dimetilfenetilo	30,1
3	ácido cáprico	31,1
4	α -copaeno	31,2
5	γ -cadineno	34,1
6	valenceno	34,6
7	β -costol	35,0
8	elemeno	35,1
9	ledeno	35,3
10	α -cadineno	35,5
11	α -amorfenol	36,0
12	δ -cadineno	36,4
13	veridiflorol	39,2
14	α -cadinol	41,3
15	rosifoliol	41,7
16	cadinol	42,0
17	hexadecano metil	42,7
18	limoneno	46,4
19	ácido tetradecanóico	47,4
20	loliolide	47,6
21	octadecano metil	49,2
22	neofitadieno	49,4
23	2-pentadecanona	49,5
24	hexadecanal	49,9
25	2-hexadecen-1-ol	50,3
26	octadecano	50,6
27	decano	51,0
28	ácido hexadecanóico	51,7
29	ácido oleico	51,9
30	docosano	52,2

A análise da composição indica a presença de sesquiterpenos característicos do OE de *C. officinalis*, são eles o α -copaeno, ledeno, γ -cadineno, α -cadineno, δ -cadineno, α -cadinol e veridiflorol, estes compostos são voláteis e responsáveis pelo aroma característico do OE.

Ácidos graxos também são observados na composição. Os ácidos de cadeia curta como os ácidos caprílico e cáprico atraem o interesse da indústria de cosméticos, pois conferem maior emoliência às formulações de cremes. Além desses, outros ácidos graxos como o ácido tetradecanóico, ácido hexadecanóico e ácido oleico também são observados.

Esses ácidos apresentam cadeias longas e não são comumente encontrados em OE. No entanto, a presença destes compostos está relacionada ao método de extração utilizado para obtenção do OE analisado.

O OE analisado foi obtido pelo método de extração com CO₂ supercrítico (informação fornecida pelo fabricante). Este método utiliza como solvente CO₂ em estado supercrítico, temperatura entre 31 e 55 °C e pressão entre 0,5 e 7,4 MPa, condição que aumenta a solubilidade de compostos com elevada massa molar, permitindo assim a extração de ácidos graxos com cadeias longas.

III.3.2 – Avaliação da atividade antifúngica e composição do óleo essencial de *Romarinus officinalis*

A avaliação da atividade antifúngica do OE de *R. officinalis* seguiu o mesmo procedimento experimental utilizado para o OE de *C. officinalis* e foram utilizadas as espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* cujas CIM e CFM são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5: Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima do óleo essencial de *Romarinus officinalis* para as espécies de *Candida*.

Espécie	Concentração inibitória mínima		Concentração fungicida mínima	
	(mg·mL ⁻¹)	(%)	(mg·mL ⁻¹)	(%)
<i>Candida albicans</i> SC5314	2,25	0,25	4,50	0,50
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	2,25	0,25	4,50	0,50
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	4,50	0,50	9,00	1,00

Os resultados mostram que o OE de *R. officinalis* apresenta atividade antifúngica para as espécies de *Candida* testadas, com valores de CIM e CFM inferiores aos apresentados pelo OE de *C. officinalis*, sendo ainda observada uma maior sensibilidade das cepas de *C. albicans* e *C. glabrata* em relação à cepa *C. parapsilosis*.

As atividades biológicas dos OEs são determinadas pela composição química. A composição do OE utilizado foi determinada por cromatografia gasosa (CG/MS) e o cromatograma é apresentado na Figura 16. Na Tabela 6, são mostrados os componentes identificados com os respectivos tempos de retenção.

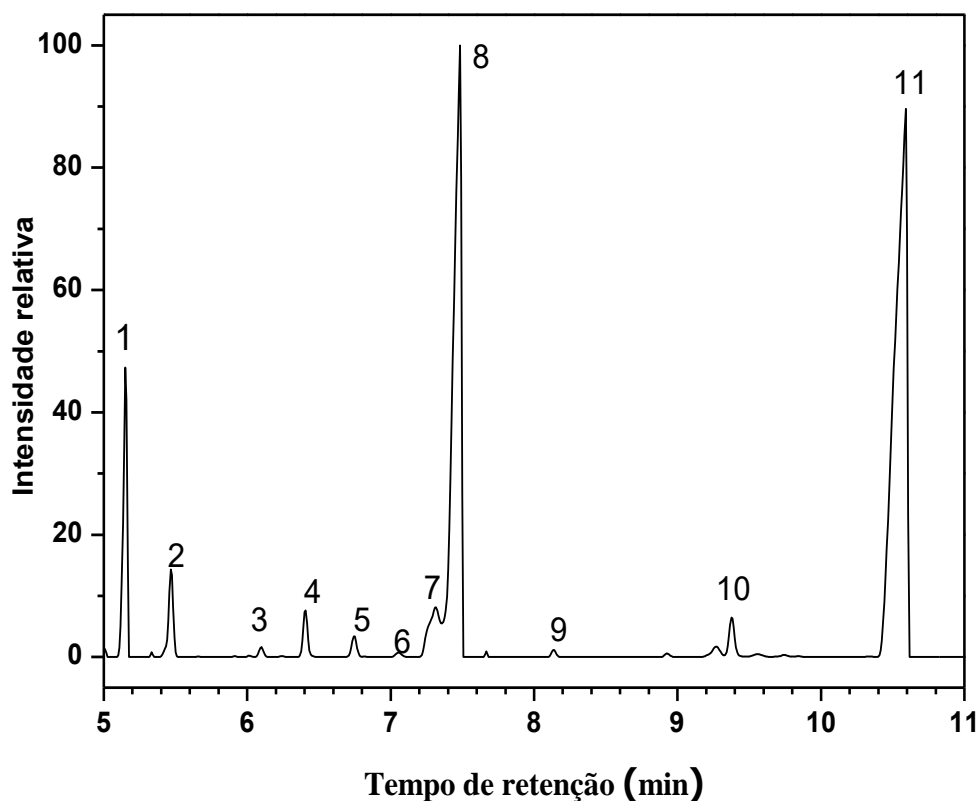

 Figura 16: Cromatograma de CG/MS do óleo essencial de *Romarinus officinalis*.

 Tabela 6 : Componentes identificados no óleo essencial de *Romarinus officinalis* pela análise de CG/MS.

Número do pico	Componentes	Tempo de retenção (min)
1	α -pineno	5,1
2	canfeno	5,5
3	α -fencheno	6,1
4	mirceno	6,4
5	α -felandreno	6,7
6	α -terpineno	7,0
7	<i>p</i> -cimeno	7,3
8	1,8-cineol	7,5
9	γ -terpineno	8,1
10	α -óxido de pineno	9,4
11	cânfora	10,5

De acordo com a análise, os três compostos majoritários do OE de *R. officinalis* são o α -pineno, o 1,8-cineol e a cânfora. Eles correspondem respectivamente a 8%, 34% e 52% (w/w) do OE, cujas frações foram determinadas por análise quantitativa de RMN (qRMN) do espectro de ^1H RMN do OE, que é apresentado na Figura 17. Pela integração dos sinais do ácido benzoico (usado como padrão interno, observado em 8,17, 7,65 e 7,51 ppm), α -pinene (5,22 ppm), cânfora (1,8 ppm) e 1,8-cineol (1,07 ppm), foi possível quantificar a concentração

de cada composto no OE. Os espectros de ^1H RMN do α -pineno, do 1,8-cineol e da cânfora são apresentados respectivamente nas Figuras 18, 19 e 20.

Hammer *et al.*⁶ investigaram a atividade antifúngica dos compostos α -pineno, 1,8-cineol, α -terpineno e β -mirceno e observaram que, destes compostos, apenas o β -mirceno não apresentava atividade antifúngica. Os outros compostos apresentaram atividades tanto para fungos de levedura quanto fungos dermatófilos.

Alguns estudos mostram que, em células de levedura, os compostos α -pineno e γ -terpineno interagem com a membrana celular aumentando a permeabilidade, inibem a respiração celular e os processos de transporte iônico, provocando mudanças no potencial elétrico da membrana celular e conseqüente morte da célula.^{7,8}

Estes compostos conferem, portanto, ao OE de *R. officinalis* atividade antifúngica.

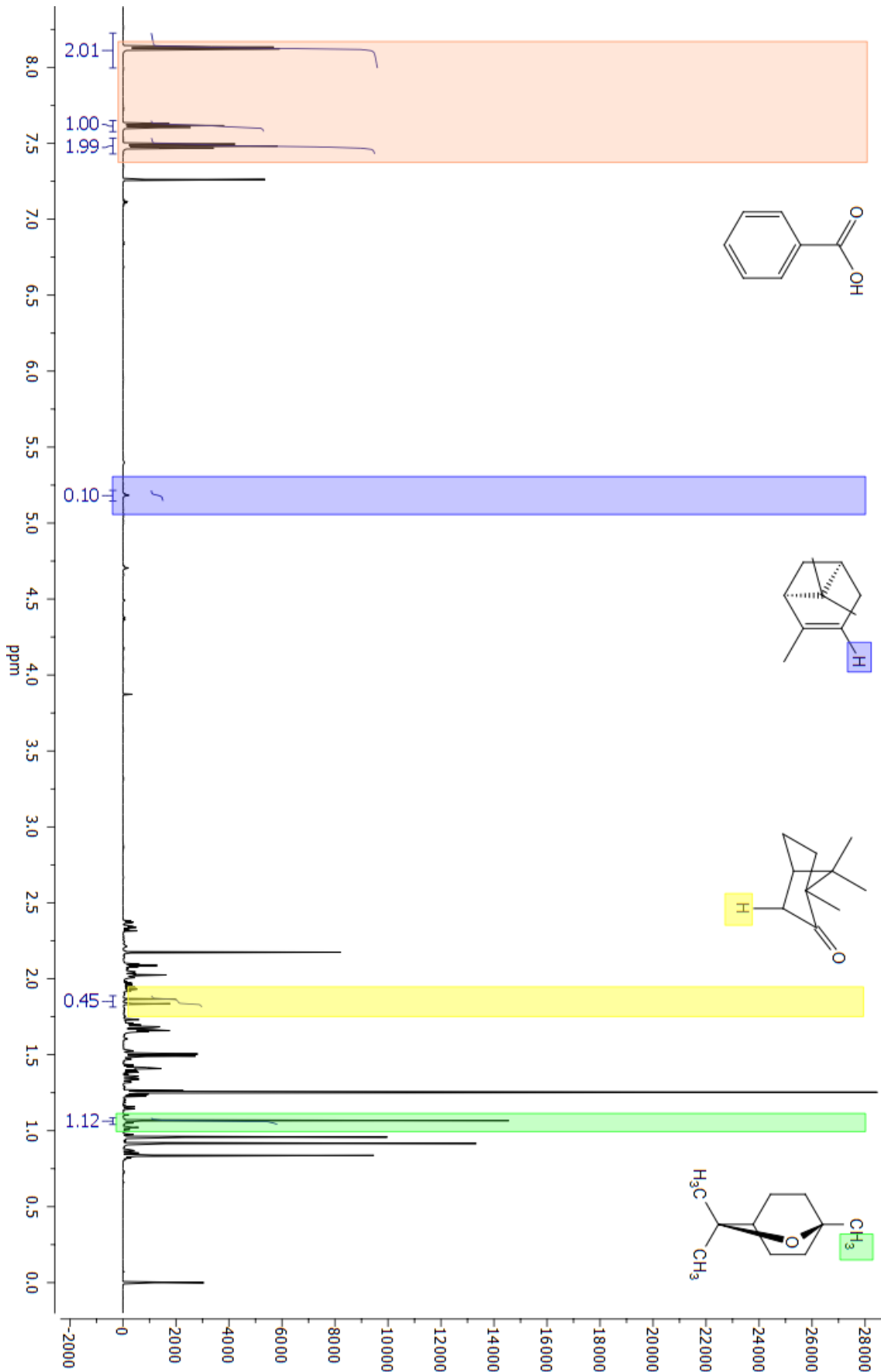


Figura 17: Espectro de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do óleo essencial de *Romarinus officinalis* em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno.

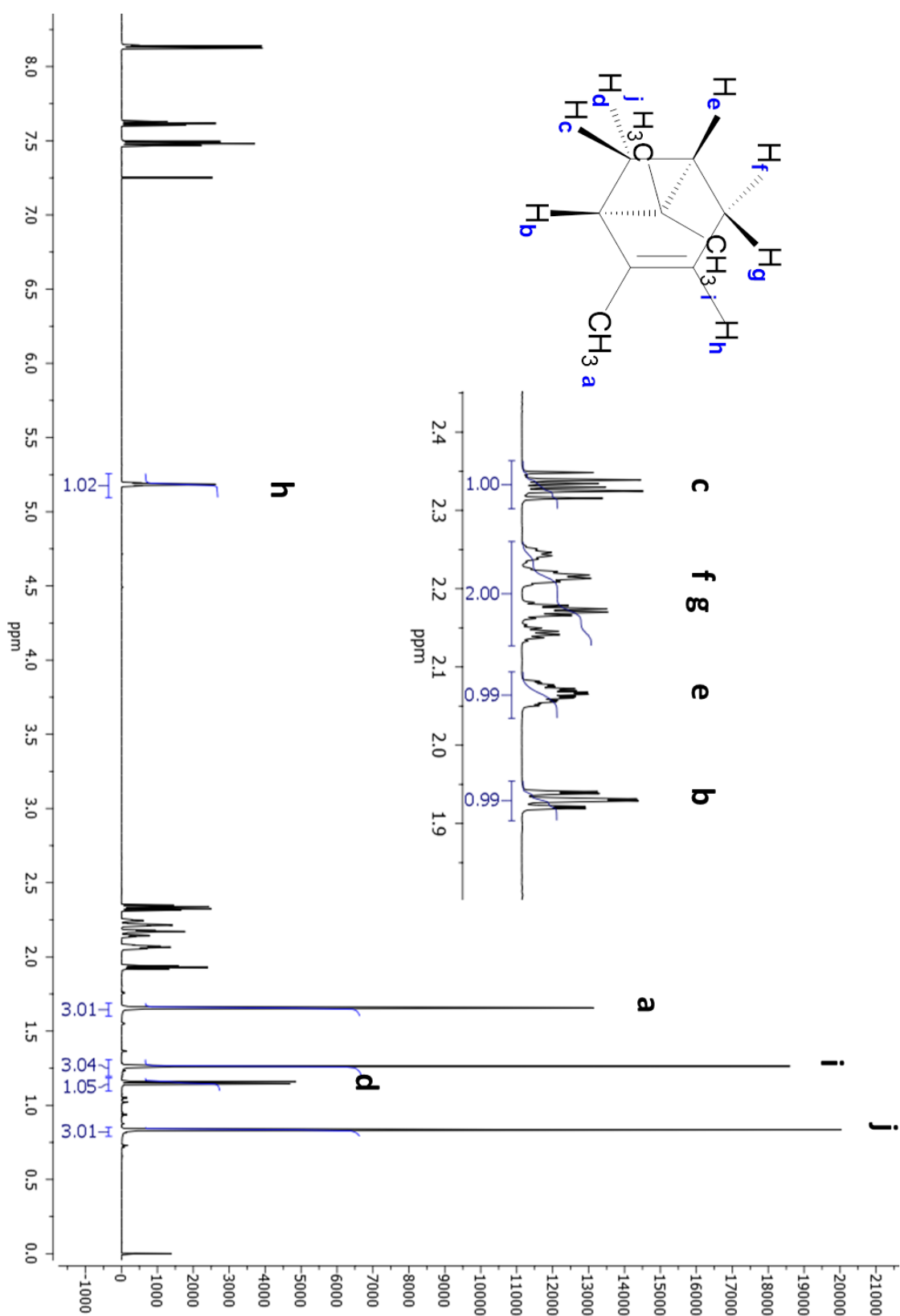


Figura 18: Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do α-pineno em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ¹H RMN (CCl₃D): δ 0,84 (s,3H); 1,15 (d,1H); 1,26 (s,3H); 1,65 (s, 3H); 1,93 (t,1H); 2,06 (m,1H); 2,13 - 2,25 (m,2H); 2,34 (m,1H); 5,19 (s,1H).

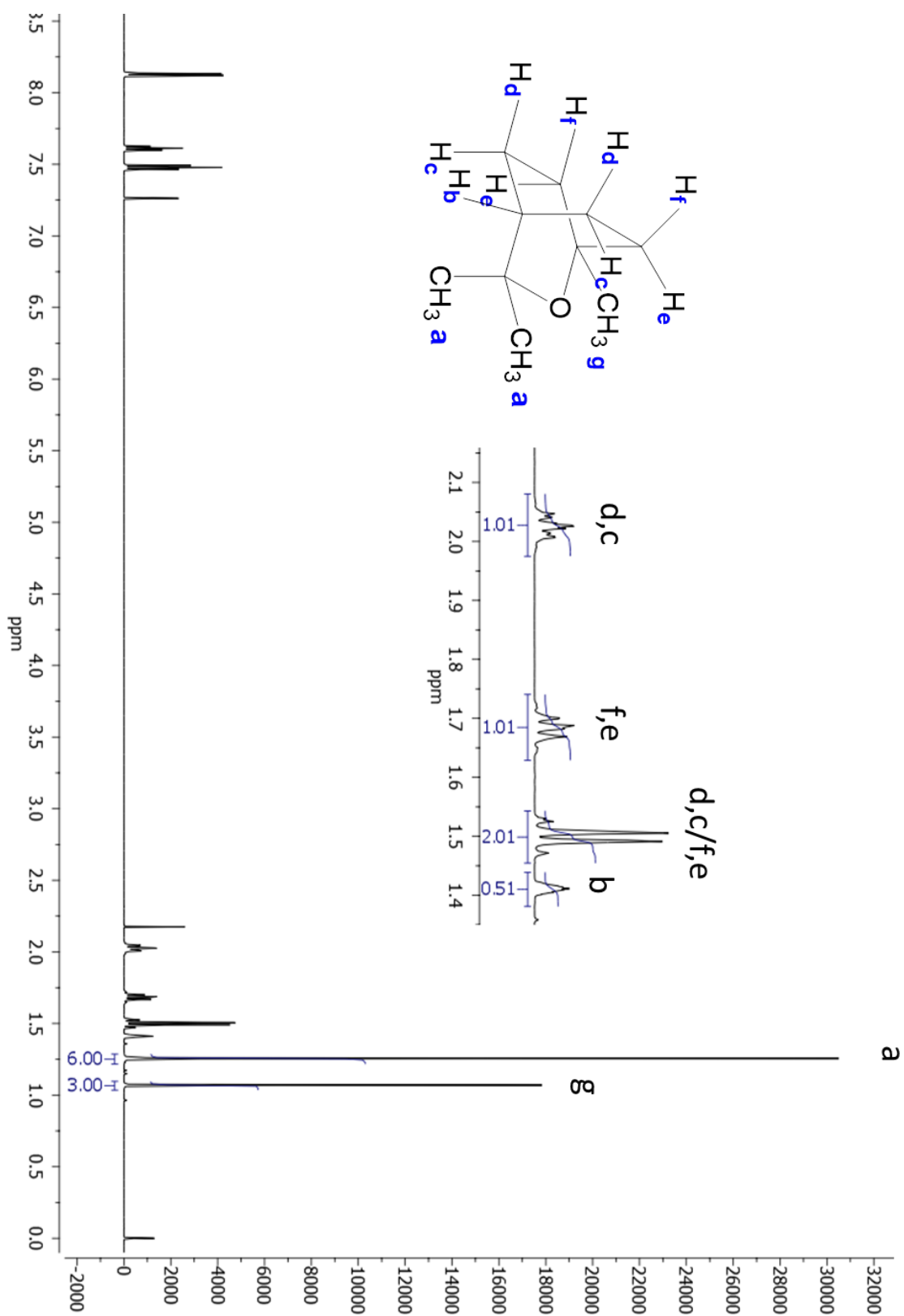


Figura 19: Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio do 1,8-cineol em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ^1H RMN (CCl_3D): δ 1,07 (s,3H); 1,26 (s,6H); 1,43 (m,1H); 1,51 (q, 4H); 1,69 (t,2H); 2,02 (t,2H).

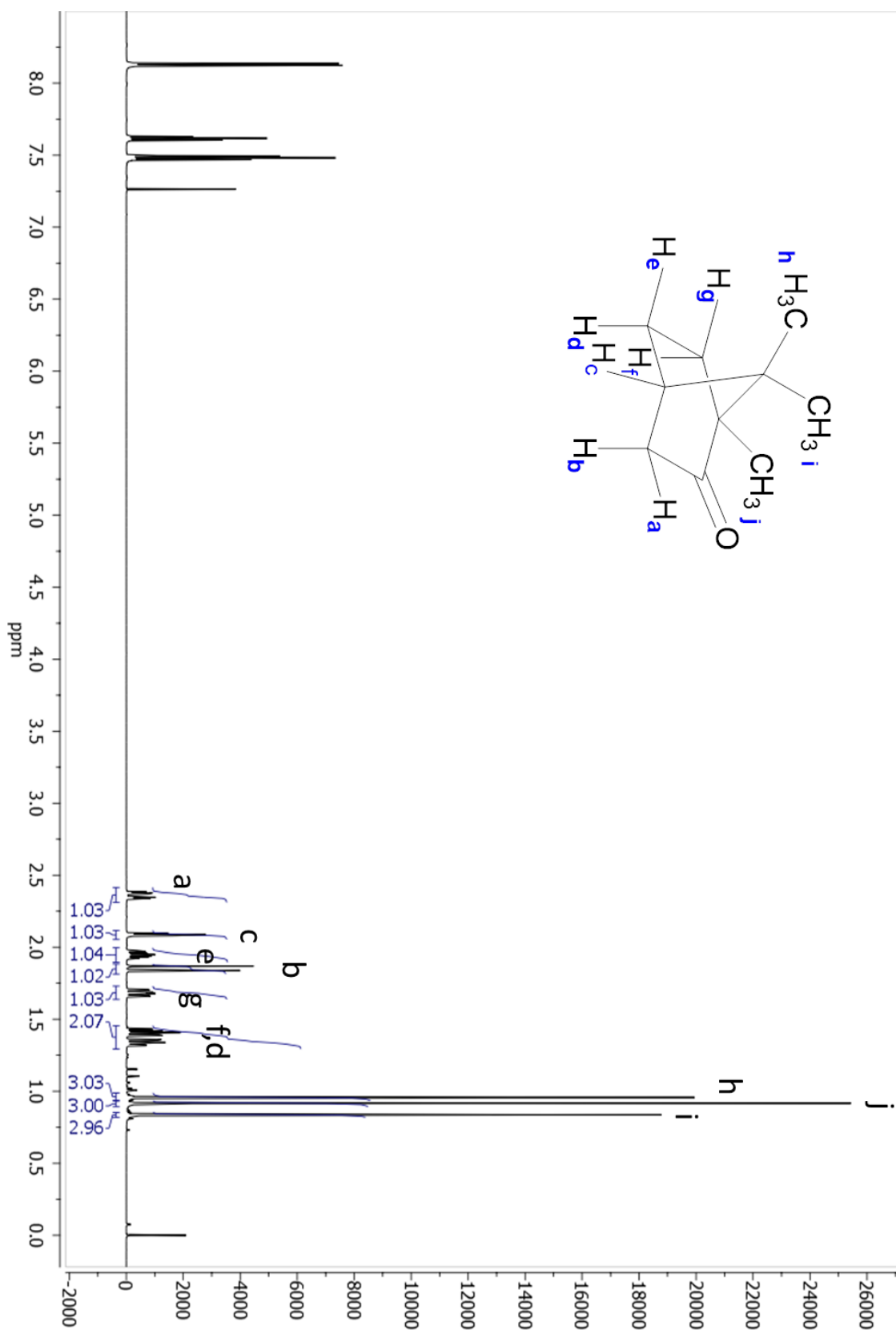


Figura 20 : Espectros de Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio da cânfora em clorofórmio deuterado e ácido benzóico como padrão interno. ^1H RMN (CDCl_3): δ 0,84 (s,3H); 0,92 (s,3H); 0,96 (s,3H); 1,32 - 1,4 (m,2H); 1,68 (t,1H); 1,85 (d,1H); 1,91- 1,97(m,1H); 2,10(t,1H) 2,36 (dt,1H).

III.4 – Conclusão

A atividade antifúngica dos OEs de *C. officinalis* e *R. officinalis* foi testada para espécies do fungo *Candida* e os resultados mostraram que estes fungos são mais sensíveis ao OE de *R. officinalis* do que ao OE de *C. officinalis*.

As cepas de *C. parapsilosis* apresentaram maior sensibilidade ao OE *C. officinalis* que as de *C. albicans*, com CIM igual a $36 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. A CIM para a *C. albicans* ficou acima das concentrações testadas e, por isso, não foi possível determinar os valores de CIM e nem a CFM, porém foi observado que o aumento da concentração do OE diminuiu o crescimento do fungo.

Nos testes com o OE de *R. officinalis* as espécies de *C. albicans* e *C. glabrata* apresentaram CIMs igual a $2,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, portanto, foram mais sensíveis à ação do OE que a espécie *C. parapsilosis*, com CIM de $4,50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Sendo assim, o OE de *R. officinalis* apresentou maior atividade antifúngica que o OE de *C. officinalis*, apresentando maior potencial para o uso como agente antifúngico na formulação de tintas, esmaltes ou em outros cosméticos, com o objetivo de inibir a proliferação de fungos durante o armazenamento do produto.

III.5 – Referências Bibliográficas

- (1) Vlahovic, T. C. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery* **2016**, 33, 305.
- (2) Baptista, E. B.; Zimmermann-Franco, D. C.; Lataliza, A. A. B.; Raposo, N. R. B. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical* **2015**, 48, 746.
- (3) Fekrazad, R.; Mir, A. P. B.; Barghi, V. G.; Shams-Ghahfarokhi, M. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2015**, 12, 289.
- (4) Kishimoto, S.; Maoka, T.; Sumitomo, K.; Ohmiya, A. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **2005**, 69, 2122.
- (5) Kaskoniene, V.; Kaskonas, P.; Jalinskaite, M.; Maruska, A. *Chromatographia* **2011**, 73, S163.
- (6) Hammer, K. A.; Carson, C. F.; Riley, T. V. *Journal of Applied Microbiology* **2003**, 95, 853.
- (7) Griffin, S. G.; Wyllie, S. G.; Markham, J. L.; Leach, D. N. *Flavour and Fragrance Journal* **1999**, 14, 322.
- (8) Cox, S. D.; Mann, C. M.; Markham, J. L.; Bell, H. C.; Gustafson, J. E.; Warmington, J. R.; Wyllie, S. G. *Journal of Applied Microbiology* **2000**, 88, 170.

Capítulo IV: Encapsulamento dos óleos essenciais

IV.1 – Introdução

Apesar de os OEs apresentarem propriedades de interesse da indústria, o uso dos OEs puros apresenta algumas desvantagens do ponto de vista tecnológico. Por serem voláteis e instáveis à presença de oxigênio, luz e variação de temperatura, podem perder suas propriedades biológicas durante o armazenamento devido à perda por evaporação e/ou a interação com outros compostos da formulação.^{1,2}

Sendo assim, o encapsulamento dos OEs é uma estratégia válida e eficiente para aumentar a estabilidade, prevenir a degradação e a evaporação do óleo durante o período de estocagem, e também possibilita a liberação controlada aumentando o tempo de ação do OE e percepção da fragrância após a aplicação.³

O encapsulamento de OEs é uma técnica que tem sido utilizada em diferentes setores da indústria. Na indústria têxtil, em que os OEs são utilizados para conferir fragrâncias aos tecidos, o encapsulamento é uma forma de reduzir a taxa de evaporação, evitando a perda do OE durante a estocagem e prolongando a liberação das fragrâncias durante o uso.^{4,5}

Na indústria de alimentos, em que os OEs são usados como conservantes naturais, o nanoencapsulamento além de aumentar a estabilidade do OE, diminuindo a volatilidade, aumentando a solubilidade em meio aquoso e reduzindo a interação com outros ingredientes, potencializa a sua atividade antimicrobiana devido ao aumento da superfície de contato do OE e o micro-organismo, além de agir como um reservatório de OE como liberação controlada prolongando a sua atividade biológica.⁶

Alguns métodos podem ser usados no encapsulamento de OEs entre eles: polimerização de interface⁵, precipitação por inversão de fase⁴, polimerização *in situ*,⁷ evaporação de solvente⁸ e spray dryer¹.

No método de polimerização *in situ*, as capsulas micrométricas podem ser obtidas via polimerização em suspensão. Esta é uma técnica eficiente de encapsulamento de OE, pois pode ser realizada em uma única etapa e tem como vantagens o controle de tamanho de partícula e de temperatura.

Este capítulo é dedicado ao estudo do encapsulamento dos OEs de *C. officinalis* e *R. officinalis* via processo de polimerização em suspensão, onde os monômeros metacrilato de metila, estireno e ácido metacrílico, o OE e o peróxido de benzoíla, iniciador radicalar organossolúvel, são dispersos na fase aquosa por ação combinada do agente de suspensão e da agitação. A reação de polimerização ocorre no interior de cada gota formada, que atua como um microreator de polimerização em massa.

Após sintetizado, a atividade antifúngica do material encapsulado será testada para os fungos *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* seguindo o mesmo procedimento dos testes realizados com os OEs no capítulo III.

IV.2 – Materiais e métodos

IV.2.1 – Reagentes utilizados

Nas reações de polimerização foram utilizados os seguintes reagentes: Metacrilato de metila (com pureza de 99%; MMA; Sigma-Aldrich; Brasil), ácido metacrílico (com 99% de pureza; AM; Sigma-Aldrich; Brasil), estireno (com 99% de pureza; Sty; Vetec; Brasil), óleo essencial de *Calendula officinalis* (*C. officinalis*, Laszlo, Alemanha) e óleo essencial de *Romarinus officinalis* (*R. officinalis*, Mundo dos óleos, Brasil). O poliálcool vinílico (com pureza de 90%; PVA; Reagen; Brasil) foi usado como agente de suspensão e peróxido de benzoíla (com pureza de 99%; PBO; Sigma-Aldrich; Brasil) foi usado como iniciador. Todos os reagentes foram utilizados sem passar por purificação prévia.

Para os ensaios *in vitro* de citotoxicidade, foram utilizadas as linhagens células de fibroblasto e queratinócitos humanos (FIBRO e HaCat). As linhagens de FIBRO foram doação da Professora Dr^a Daniela Mara Oliveira do Laboratório de Nanobiotecnologia do Departamento de Genética e Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília e a linhagem de queratinocitos HaCat foi obtida por meio do banco de células do Rio de Janeiro e mantidas em cultura no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília, UnB. Para o cultivo das células foram utilizados os seguintes reagentes: meio de cultivo DMEM (EagleModificado por Dulbecco), bicarbonato de sódio (com 99% de pureza, NaHCO₃, J.T.Baker; México), soro fetal bovino (FBS, GIBCO, América do Sul), penicilina (GIBICO, Brasil), streptomocina (GIBICO, Brasil) e Azul de Trypan.

IV.2.1 – Método

Em um reator de vidro encamisado (volume nominal 400 mL) foram adicionados 70 mL de água destilada e PVA conforme indicado na Tabela 7. O sistema foi aquecido em banho de água a 85 °C, sob agitação mecânica de 500 rpm foi adicionada a mistura de monômeros, iniciador e óleo essencial, conforme indicado na Tabela 7. A mistura foi mantida sob agitação mecânica a 2000 rpm durante 240 minutos. Em seguida, o sistema foi desligado e o material polimérico foi armazenado em um frasco de vidro.

Tabela 7 : Condições experimentais das reações de polimerização.

	Código	Monômeros (%) ^a			PBO (%) ^b	PVA (g/mL)	Óleo essencial (%) ^c	
		MMA	AM	Sty				
<i>Calendula officinalis</i>	1	AM/MMA_C.O.(1a)	70	30	--	4,5	0,009	10
	2	AM/MMA_C.O.(1b)	70	30	--	4,5	0,009	10
	3	AM/MMA_C.O.(1c)	70	30	--	4,5	0,009	10
	4	AM/MMA_C.O.(2)	70	30	--	4,5	0,009	10
	5	AM/MMA_C.O.(3)	70	30	--	5,0	0,009	10
	6	AM/MMA_C.O.(4)	70	30	--	5,0	0,009	10
	7	AM/MMA(1)	70	30	--	2,3	0,009	--
	8	AM/MMA(2)	70	30	--	5,0	0,009	--
<i>Romarinus officinalis</i>	9	AM/MMA_R.O.	70	30	--	5,0	0,009	2
	10	AM/MMA_R.O.(1)	70	30	--	5,0	0,009	2
	11	AM/MMA_R.O.(2)	70	30	--	5,0	0,009	2
	12	AM/MMA_R.O.(3a)	70	30	--	5,0	0,007	2
	13	AM/MMA_R.O.(3b)	70	30	--	5,0	0,007	2
	14	AM/MMA_R.O.(3c)	70	30	--	5,0	0,007	2
	15	AM/MMA(a)	70	30	--	5,0	0,007	--
	16	AM/MMA(b)	70	30	--	5,0	0,007	--
	17	AM/MMA(c)	70	30	--	5,0	0,007	--
	18	AM/Sty_R.O.(1)	70	--	30	5,0	0,009	2
	19	AM/Sty_R.O.(2)	70	--	30	1,5	0,009	2
	20	AM/Sty_R.O.(3)	70	--	30	7,0	0,011	2
	21	AM/Sty_R.O.(4)	80	--	20	7,0	0,009	2
	22	AM/MMA/Sty_R.O.(a)	70	5	25	7,0	0,009	2
	23	AM/MMA/Sty (a)	70	5	25	7,0	0,009	--
	24	AM/MMA/Sty (b)	70	5	25	7,0	0,009	--

A fase monomérica corresponde à 30% da massa total contida no reator.

^a Porcentagem em massa dos monômeros na fase monomérica.

^b Porcentagem em massa do iniciador PBO em relação à massa total de monômeros.

^c Porcentagem em massa do óleo essencial em relação à massa total no reator.

Teste de citotoxicidade

As linhagens celulares foram cultivadas em meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM). Ambas foram tamponadas com bicarbonato de sódio e suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) e antibiótico (100 UI·mL⁻¹ penicilina e 100 µg·mL⁻¹ streptomicina) a 1%, pH 7,2. As células foram mantidas em frascos de cultura celular em uma incubadora à

temperatura de 37 ± 2 °C, em atmosfera de 95% de ar umidificado e 5% de CO₂. Os experimentos foram realizados com a célula na fase logarítmica de crescimento.

Para a quantificação de células viáveis, 40 µL de solução do corante Azul Trypan foram adicionados em dez microlitros da suspensão celular. Este reagente é um corante incapaz de penetrar em célula com a membrana plasmática intacta, o que possibilita a distinção das células viáveis pelo princípio de exclusão de Azul Trypan. Por conseguinte, 10 µL desta suspensão foram adicionadas em hemocitômetro de Neubauer. A concentração de células foi determinada segundo a contagem dos quadrantes laterais e por meio da Equação 4.

Número de células contadas × *Fator de diluição* = *Número de células por mL* Equação 4

Para realização do ensaio as linhagens celulares (FIBRO e HaCat) foram semeadas em placas de 96 poços na concentração de $5 \cdot 10^3$ e $3 \cdot 10^3$ de células por poço em meio DMEM. Após 24 horas, o meio de cultura inicial foi substituído por 200 µL de meio de cultura contendo as amostras dos polímeros nas concentrações de $0,01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0,05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0,25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ e $0,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. A determinação da viabilidade celular foi realizada por meio do método colorimétrico redutor de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio, (MTT). A quantificação foi realizada por espectrofotometria, utilizando o comprimento de onda de 595 nm. Os resultados foram obtidos com uma média de três experimentos independentes em triplicatas. Os dados foram analisados e plotados em gráfico de coluna pelo teste estatístico One-ANOVA no *software* GraphPad Prism (5.0).

IV.3 – Resultados e discussões

IV.3.1 – Reações de polimerização com óleo essencial de *Calendula officinalis*

Nesta etapa do trabalho, foi realizado o encapsulamento do OE de *Calendula officinalis* via copolimerização dos monômeros ácido metacrílico e metacrilato de metila em processo de polimerização em suspensão, utilizando as composições apresentadas na Tabela 7, amostras de entrada de 1 a 6.

Conversão

As capsulas foram obtidas via polimerização em suspensão, processo no qual a agitação e a concentração do agente de suspensão influenciam na estabilidade do meio e no tamanho final de partícula. Por esse motivo, para garantir a formação de nanocapsulas – diâmetro médio menor que 1 µm – o sistema foi mantido sob forte agitação (2000 rpm).

Na Figura 21, são apresentados os perfis de conversão dos copolímeros de ácido metacrílico/metacrilato de metila na síntese das nanocapsulas de OE de *C. officinalis*. O material AM/MMA_C.O.(1c) foi preparado com 4,5% de iniciador, peróxido de benzoíla (PBO), e a reação foi mantida durante 4 horas a 85 °C. Nestas condições, foi observado o aumento brusco da conversão nos 30 minutos iniciais da reação, com resposta a concentração elevada de PBO.

No intuito de controlar o aumento brusco da conversão nos minutos iniciais da reação, o procedimento experimental foi repetido com a mesma concentração de iniciador, porém, a reação foi mantida a 75 °C nos 120 minutos iniciais e, em seguida, a temperatura foi elevada para 85 °C e mantida assim durante os 120 minutos finais. A reação ocorreu de forma mais branda na fase inicial, entretanto a conversão final foi inferior a 90% (Ver AM/MMA_C.O.(2) na Tabela 7).

Na tentativa de aumentar a conversão final, para o material AM/MMA_C.O.(4), o perfil de temperatura foi mantido o mesmo, 75 °C nos primeiros 120 minutos de reação e 85 °C nos 120 minutos restantes, porém a concentração de iniciador foi aumentada para 5%. Entretanto, foi observado que a conversão se manteve abaixo de 90%.

Considerando os resultados obtidos, optou-se então em fazer a reação AM/MMA_C.O.(3) com 5% de iniciador, mas com o perfil de temperatura diferente. O sistema foi mantido a 75 °C nos 60 minutos iniciais de reação e, em seguida, a temperatura foi elevada para 85 °C, sendo mantida assim pelos 180 minutos restantes de reação. Adotando essa metodologia, foi observada uma melhora na conversão final do material e a reação ocorreu de forma branda e controlada.

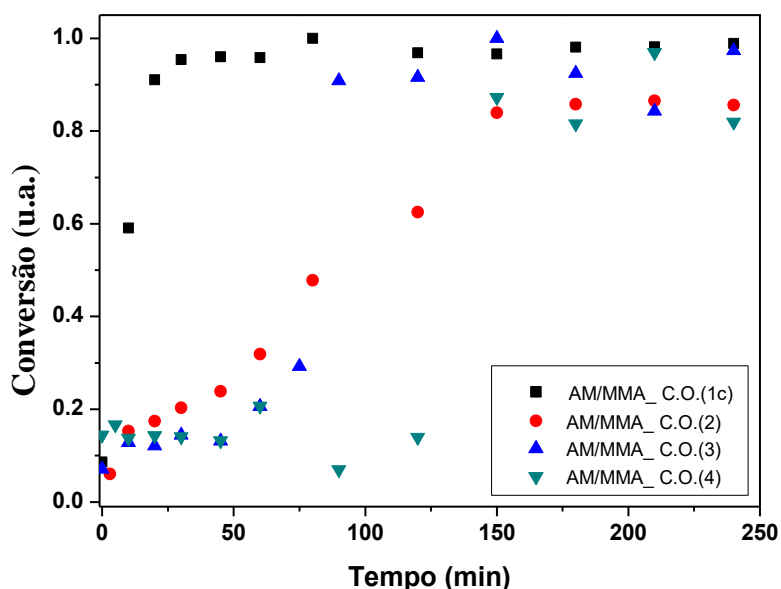


Figura 21: Perfis de conversão ao longo do tempo a reação de copolimerização do ácido metacrílico e metacrilato de metila contendo óleo essencial de *Calendula officinalis* com diferentes concentrações de iniciador e perfis de temperatura.

Morfologia e distribuição de tamanho

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) apresentadas na Figura 22 revelam a obtenção de capsulas com morfologia esférica e estreitas distribuições de tamanho. De acordo com os histogramas apresentados na Figura 23, foram obtidas duas populações de capsulas, a primeira população de microcápsulas com diâmetro médio igual a 10 μm e a segunda população de nanocápsulas com diâmetro médio de 113 nm.

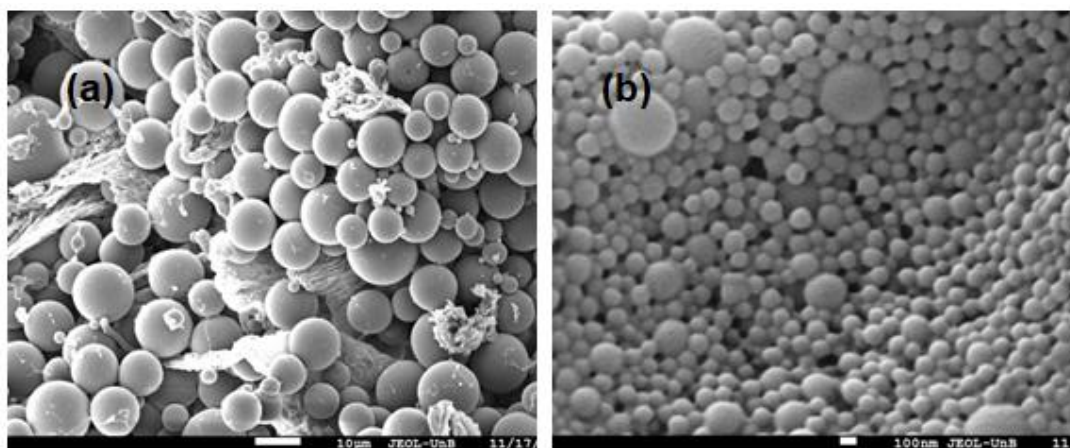


Figura 22: Imagens de Microscopia eletrônica de varredura do AM/MMA_C.O.(3) em (a) capsulas com diâmetro médio de 10 μm e em (b) capsulas com diâmetro médio de 113 nm .

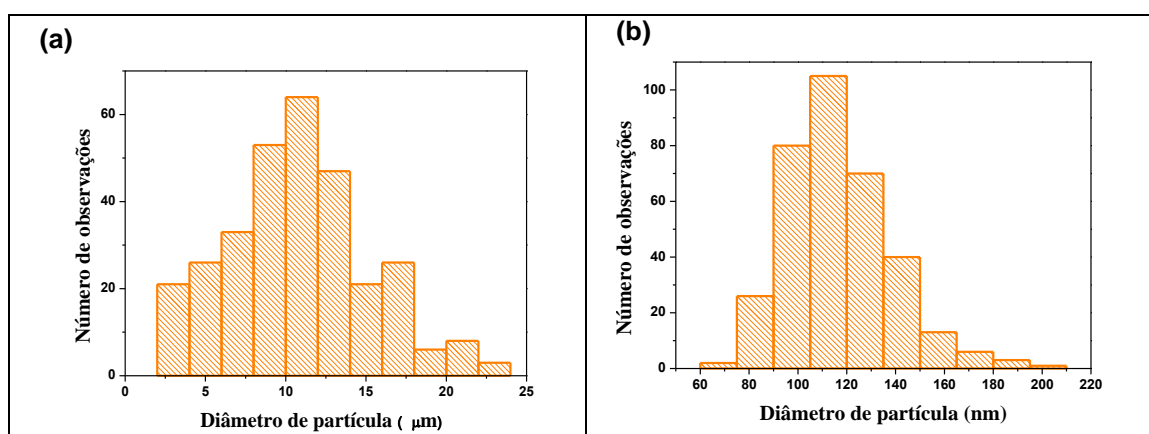


Figura 23 : Histograma mostrando a distribuição de tamanho de partículas do copolímero a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila contendo óleo essencial de *Calendula officinalis* – AM/MMA_C.O.(3) – em (a) Diâmetro médio de 10 μm e (b) Diâmetro médio de 113 nm.

Determinação da temperatura de transição vítrea por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As temperaturas de transição vítrea (T_g) dos copolímeros de AM/MMA foram determinadas por DSC e o copolímero sem o OE apresentou T_g igual a 148 °C. Na literatura a temperatura de transição vítrea dos homopolímeros de ácido metacrílico (PAM) e metacrilato de metila (PMMA) são respectivamente 228 °C e 120 °C.⁹ Com base nestas informações é possível estimar a composição do copolímero a partir da equação de Fox (Equação 5) .

$$\frac{1}{T_{g1,2}} = \frac{1-\alpha}{T_{g1}} + \frac{\alpha}{T_{g2}} \quad \text{Equação 5}$$

Onde $T_{g1,2}$, T_{g1} e T_{g2} correspondem às temperaturas de transição vítrea do copolímero AM/MMA e dos homopolímeros PMMA e PAM respectivamente. De acordo com a equação, a fração mássica de ácido metacrílico no copolímero (α) corresponde a 0,39. O valor difere da composição teórica, baseada nas massas dos monômeros na alimentação (Ver tabela 7), no entanto, considerando que a conversão da reação não foi total e que o ácido metacrílico apresenta maior razão de reatividade que o metacrilato de metila, o resultado é aceitável.

O copolímero contendo OE – AM/MMA.C.O.(3) – apresentou T_g igual a 137 °C, uma diferença de 10 °C entre os dois materiais, o que sugere que o OE age como um plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e reduzindo a T_g do copolímero.

Avaliação da estabilidade térmica por termogravimetria

A análise termogravimétrica pode ser utilizada para avaliar a estabilidade térmica do material polimérico, uma vez que, essa técnica monitora a perda de massa do material em função da variação da temperatura. Na Figura 24 são apresentadas as curvas termogravimétricas dos copolímeros AM/MMA(a) e AM/MMA_C.O.(3).

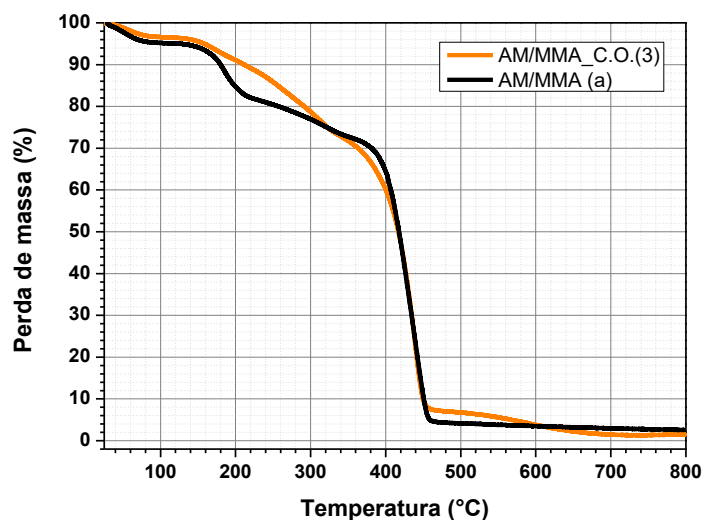


Figura 24: Curvas termogravimétricas dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de *Calendula officinalis* AM/MMA_C.O.(3) e AM/MMA(a)

No início da análise, na faixa de temperatura entre 25 °C e 100 °C, é observada uma perda de massa para ambos os materiais de aproximadamente 5%, referente à perda de água livre na amostra. A partir de 120 °C, são observados estágios de perda de massa diferentes para os dois materiais.

O copolímero AM/MMA(a) apresenta uma perda de massa de aproximadamente 12% entre 120 °C e 210 °C. Mansur *et al.*¹⁰ observaram perdas de massa semelhantes para os copolímeros de ácido metacrílico/metacrilato de metila estudados pelo grupo. Os pesquisadores associaram o que foi observado à perda de água e metanol produzidos em reações entre as cadeias poliméricas. O copolímero apresenta também outros dois estágios de perda de massa, um entre 210°C e 360°C e o outro entre 360 °C e 460 °C, sendo o primeiro relacionado à perda de cadeias de baixa massa molar e insaturadas e o segundo referente à degradação da cadeia polimérica.

O copolímero AM/MMA_C.O.(3) não apresenta uma perda de massa acentuada na faixa de temperatura entre 120 °C e 210 °C, como o outro copolímero, mas é observada uma perda de massa de aproximadamente 22% na faixa de temperatura entre 120 e 340 °C, relacionada à degradação de cadeias de baixa massa molar e insaturadas. Não foi observada uma variação significativa na temperatura de degradação da cadeia polimérica entre os dois copolímeros analisados.¹⁰

Espectroscopia UV/Vis do óleo de *Calendula officinalis*

Após a reação de polimerização, a fim de avaliar a eficiência do encapsulamento, uma amostra de 1 mL do material encapsulado foi colocado em 3 mL de hexano. Após 24 horas, o hexano foi separado do polímero e analisado por espectroscopia de UV/Vis, cujo espectro é apresentado na Figura 25.

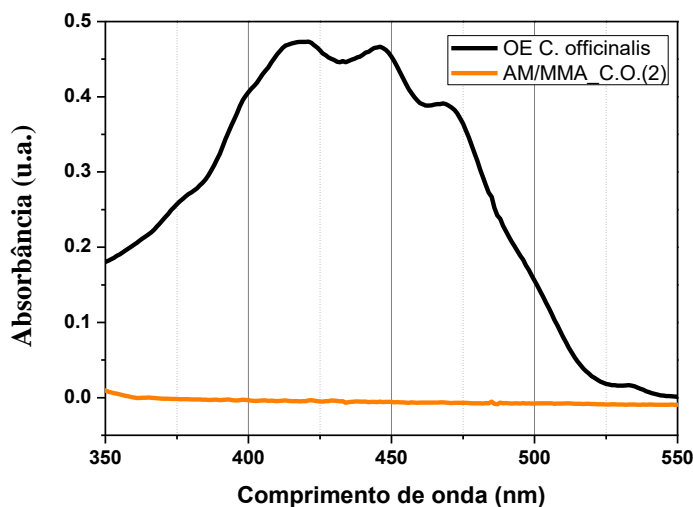


Figura 25: Espectro de UV/Vis do óleo essencial de *Calendulas officinalis* e da alíquota retirado do material encapsulado.

No espectro do OE é observado um pico entre os comprimentos de onda 390 e 505 nm. Este sinal é característico dos compostos carotenoides presentes no OE estudado. Após a reação de polimerização, foi observado o desaparecimento deste sinal no espectro, indicando, a princípio, 100% de eficiência do processo de encapsulamento.

No entanto, para confirmar se o desaparecimento do sinal estava mesmo relacionado ao processo de encapsulamento, foi realizado um experimento sem os monômeros, contendo apenas água, iniciador (PBO), agente de suspensão (PVA) e o OE. A reação foi acompanhada por espectroscopia de UV/Vis durante 4 horas. Os espectros obtidos são mostrados na Figura 26.

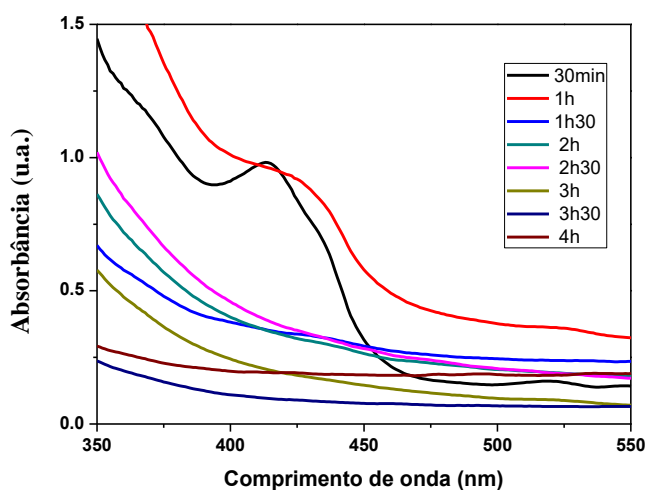


Figura 26: Espectro de UV/Vis das alíquotas tiradas a cada 30 min da reação do óleo essencial de *Calendula officinalis* com peróxido de benzoíla.

Foi observado que no decorrer da reação, o sinal referente aos carotenoides desapareceu, indicando que o resultado apresentado na Figura 25 não era referente ao encapsulamento, mas à oxidação dos desses compostos ao longo da reação. Sendo assim, a espectroscopia de UV/Vis não foi uma técnica adequada para avaliar a eficiência do processo de encapsulamento.

IV.3.2 – Reações de polimerização com óleo essencial de *Romarinus officinalis*

Nesta etapa do trabalho, foi realizado o encapsulamento do OE de *Romarinus officinalis* via copolimerização e terpolimerizações dos monômeros ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno em processo de polimerização em suspensão, utilizando as composições apresentadas na Tabela 7, códigos de entrada de 9 a 24.

Conversão

O procedimento experimental para obtenção das nanocapsulas do OE de *R. officinalis* foi planejado a partir dos dados obtidos das reações de encapsulamento do OE de *C. officinalis*, apresentados na seção IV.4.1. Dessa forma, para as reações de copolimerização foi usada uma proporção em massa de 70% de metacrilato de metila e 30% de ácido metacrílico, 5% em massa do iniciador PBO e 2% de OE. O perfil de temperatura do sistema reacional foi variado da mesma forma, 75 °C nos primeiros 60 minutos de reação e 85 °C pelos 180 minutos restantes, totalizando 240 min de reação.

Os resultados iniciais – AM/MMA_R.O., AM/MMA_R.O.(1), AM/MMA_R.O.(2) – apresentaram instabilidade do meio reacional, com a formação de aglomerados dentro do reator, o que dificultou a amostragem durante a polimerização.

Em sistemas de polimerização em suspensão, a instabilidade do meio é indesejável, pois leva à formação de aglomerados, que depositam nas paredes do reator, dificultando a troca de calor durante o processo de polimerização que, conseqüente, dificulta o controle de temperatura.

Por ser um monômero mais hidrofílico o ácido metacrílico influencia a estabilidade da suspensão. Por esse motivo, para essas reações de polimerização, a concentração do agente de suspensão (PVA) foi reduzida em 25% em relação à inicial, sendo dessa forma, observada uma melhora na estabilidade do meio reacional, sem a formação de aglomerados no reator.

Na Figura 27 são mostradas as curvas de conversão dos copolímeros AM/MMA(a) e AM/MMA_R.O.(3a), em que é possível observar uma diferença nas conversões dos dois materiais nos minutos iniciais das reações. O material que contém OE tem uma conversão menor nos 80 minutos iniciais, o que pode ser explicado devido à auto-oxidação do γ -terpineno e α -pineno presentes no óleo essencial de *Romarinus officinalis*. Estes compostos reagem com os radicais do iniciador, peróxido de benzoíla, presentes no meio reacional reduzindo a taxa de polimerização.

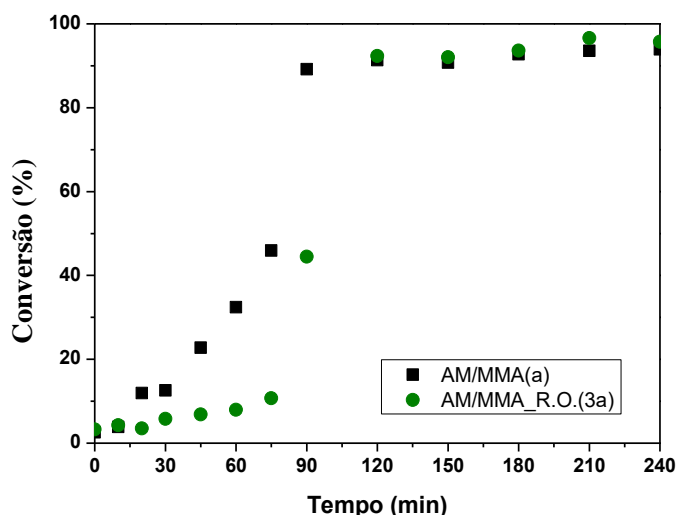


Figura 27: Perfis de conversão ao longo do tempo das reações do copolimerização utilizando ácido metacrílico e metacrilato de metila.

A fim de avaliar as propriedades do material com o uso de diferentes monômeros o ácido metacrílico foi substituído pelo estireno e um novo copolímero foi sintetizado e a curva de conversão é apresentada na Figura 28.

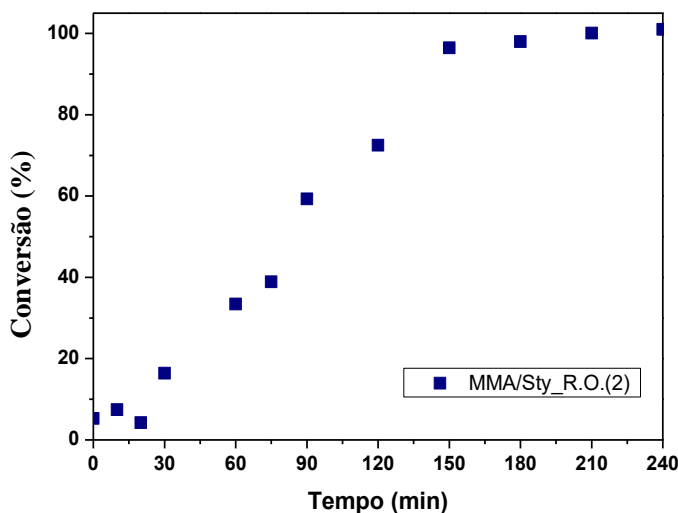


Figura 28: Perfil de conversão ao longo do tempo da reação de copolimerização do metacrilato de metila e estireno contendo óleo essencial de *Romarinus officinalis*.

Mantendo o procedimento experimental anterior, o sistema se manteve instável com a formação de aglomerados no reator. Uma vez que o estireno é um monômero menos hidrofílico que o ácido metacrílico, observou-se a necessidade aumentar a concentração de PVA em 25% para tentar estabilizar a suspensão. No entanto, a tentativa de aumentar a concentração de PVA não teve êxito, ainda sendo observada a formação de aglomerados.

Para melhorar a estabilidade o meio, adicionou-se então ácido metacrílico à composição, sendo assim obtido um terpolímero com as frações em massa de monômeros na alimentação de 70% de metacrilato de metila, 25% de estireno e 5% de ácido metacrílico. Essa foi a composição mais estável para esse sistema. Todavia, foi observada a formação de partículas poliméricas maiores, que dificultou a amostragem do material a partir de 120 minutos

de reação, sendo observada na curva de conversão apresentada na Figura 29, uma irregularidade dos pontos a partir de 120 minutos. A curva de conversão do terpolímero, bem como a curva de conversão do copolímero, mostra a influência do OE na conversão nos primeiros minutos de reação.

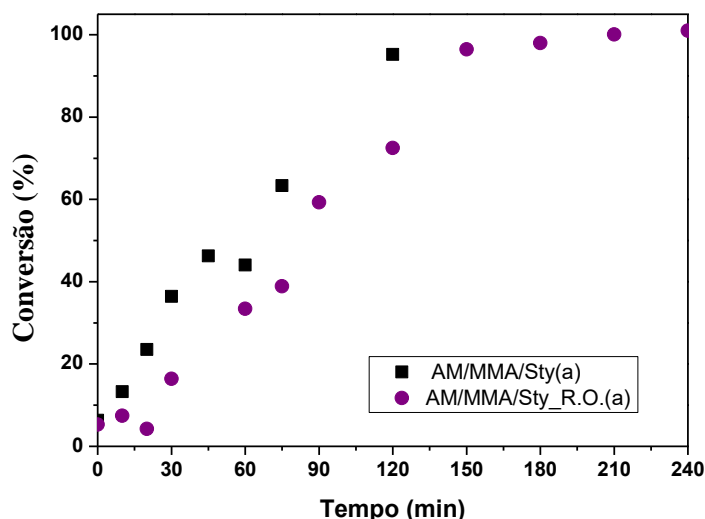


Figura 29: Curva de conversão ao longo do tempo de reação de terpolimerização contendo ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.

Morfologia e distribuição de tamanho

Na Figura 30 são apresentadas as imagens de MEV dos materiais poliméricos AM/MMA_R.O.(3a), AM/MMA(a), AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty(a), onde é possível observar a formação de partículas com morfologia esférica e com distribuição de tamanho unimodal, como mostram os histogramas da Figura 31, com exceção da amostra AM/MMA/Sty(a), que apresenta diâmetro médio de partícula igual a 192 nm. Os diâmetros médios destes materiais são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 : Dimâmetro médio de partículas dos materiais poliméricos.

Polímeros	Diâmetro médio	
AM/MMA_R.O.(3a)	2,4 µm	285 nm
AM/MMA(a)	3,5 µm	266 nm
AM/MMA/Sty_R.O.(a)	20 µm	150 nm
AM/MMA/Sty(a)	192 nm	

Nas imagens de MEV dos materiais contendo estireno na composição, Figuras 30iii e 30iv, é possível notar que a composição do material influencia no tamanho das partículas poliméricas. O material AM/MMA/Sty_R.O.(a) diâmetros médios diferentes dos copolímeros Ácido Metacrílico/Metacrilato de Metila (Tabela 8).

O material AM/MMA/Sty(a), terpolímero que não contém OE de *R. officinalis*, observamos na Figura 30iv a formação de aglomerados com morfologia irregular. No entanto, ao observar o material com maior aproximação, observa-se que estes aglomerados são

formados de partículas esféricas e distribuição de tamanho larga, em que o diâmetro varia entre 50 e 900 nm.

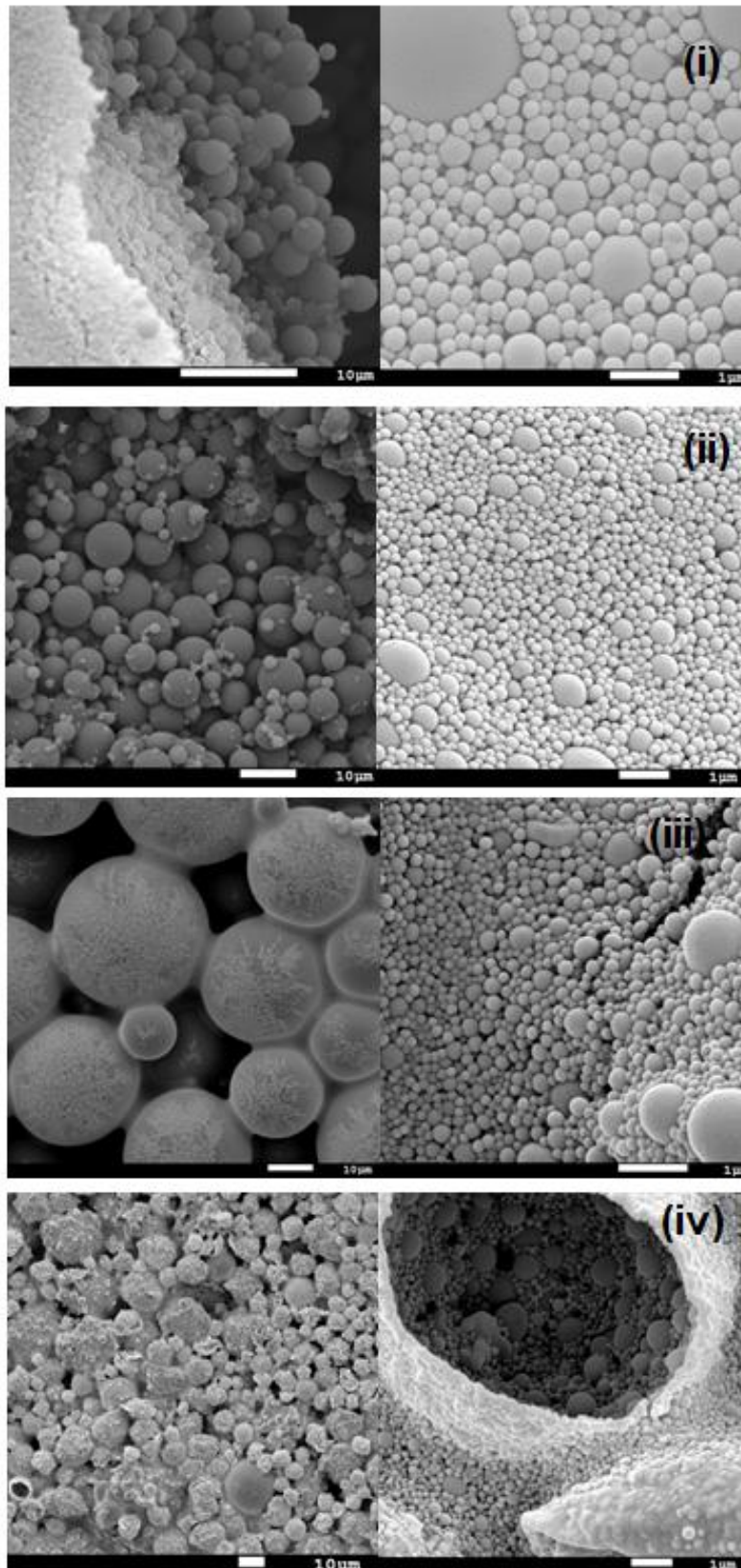


Figura 30: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos polímeros (i) AM/MMA_R.O.(3a), (ii) AM/MMA(a), (iii) AM/MMA/Sty_R.O.(a) e (iv) AM/MMA/Sty(a).

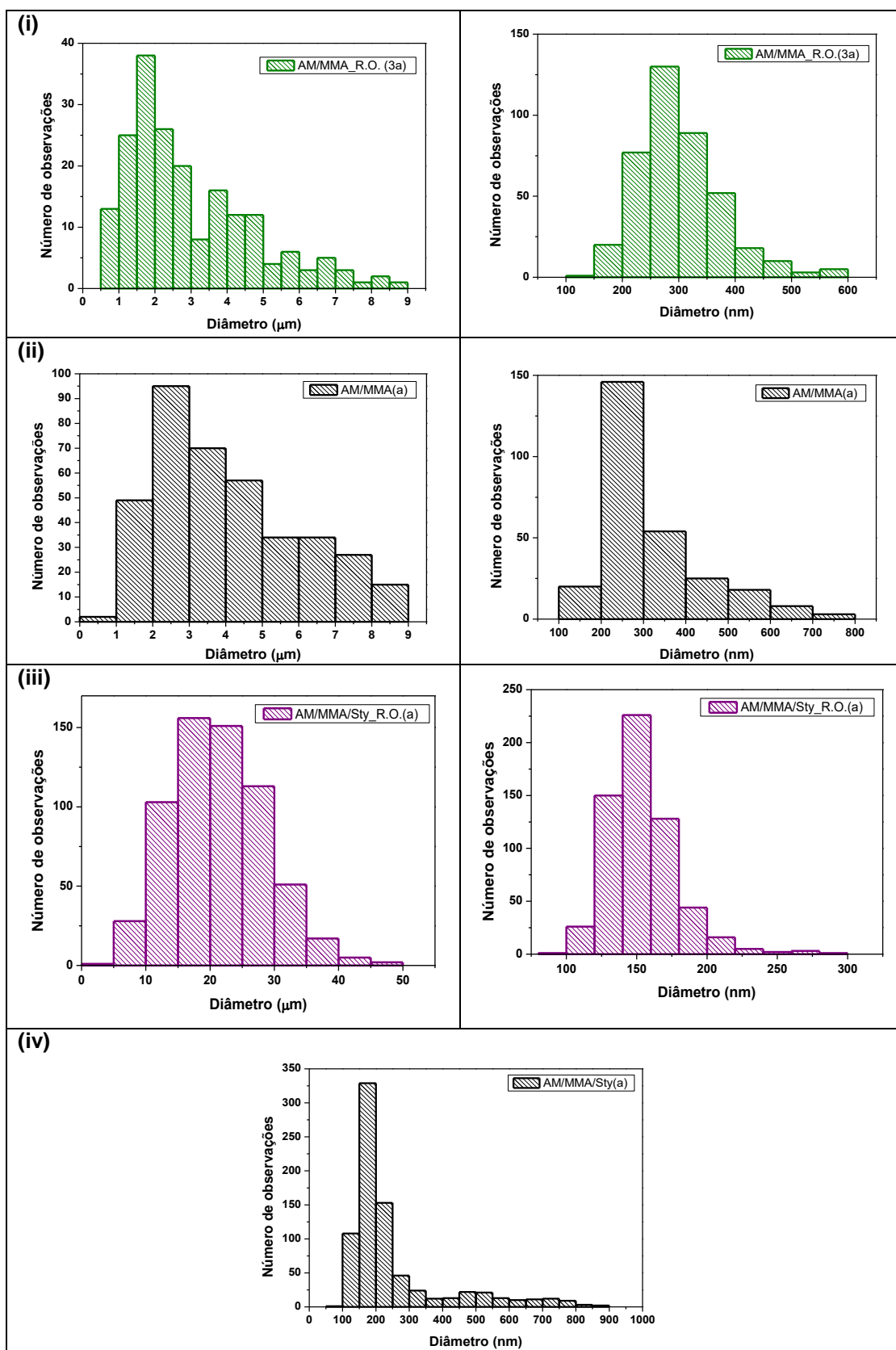


Figura 31: Histogramas de distribuição de tamanho dos polímeros (i) AM/MMA_R.O.(3a), (ii) AM/MMA(a), (iii) AM/MMA/Sty_R.O.(a) e (iv) AM/MMA/Sty(a).

Determinação da temperatura de transição vítrea por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As temperaturas de transição vítrea (T_g) dos materiais foram determinadas por DSC e são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 : Temperatura de transição vítrea dos polímeros

Polímero	MMA (%)	AM (%)	Sty (%)	T_g (°C)
AM/MMA(a)	70	30	0	148
AM/MMA_R.O.(3a)	70	30	0	135
AM/MMA/Sty(a)	70	5	25	103
AM/MMA/Sty_R.O.(a)	70	5	25	90

Foi observado que os polímeros contendo maior concentração de ácido metacrílico apresentaram maiores T_g , este efeito está relacionado à natureza química dos monômeros utilizados. A T_g de um material polimérico depende, entre outros fatores, da força de interação entre as cadeias, quanto maior a força de interação maior a T_g do material.

O ácido metacrílico apresenta na sua estrutura química (Figura 32) grupo hidroxila que promove a interação entre as cadeias poliméricas através de ligações de hidrogênio, interações fortes que aumentam a T_g do polímero.

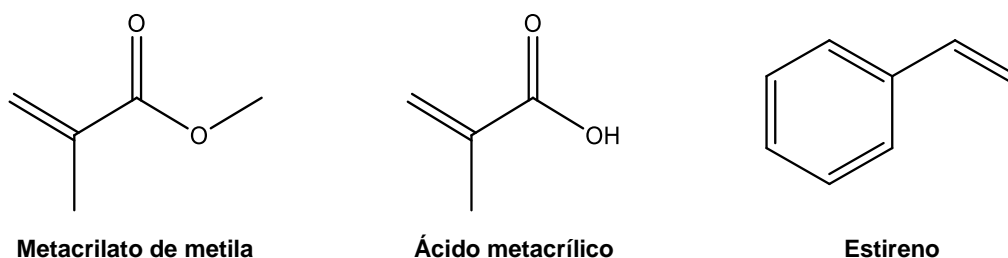


Figura 32: Estruturas químicas do metacrilato de metila, ácido metacrílico e estireno.

Analisando os valores de T_g apresentados na Tabela 9 é observada a diminuição da temperatura de transição vítrea dos materiais devido à adição do OE. Além da natureza química dos monômeros, a T_g também é influenciada pela massa molar do polímero. Materiais com baixa massa molar apresentam cadeias poliméricas com maior mobilidade, por essa razão, a diminuição da massa molar resulta na diminuição da T_g . Apesar disso, efeitos composicionais tendem a ser mais importantes em copolímeros, além da ação plastificante do OE, que tende a ser preponderante.

A massa molar destes polímeros foi determinada por cromatografia de permeação em gel (GPC) e a distribuição de massa molar dos materiais é apresentada na Figura 33 e os valores de massa molar média em massa (M_w), massa molar média em número (M_n) e dispersão de massa molar (\mathcal{D}_M) são apresentados na Tabela 10. Não foram observadas variações significativas na distribuição de massa molar e no tamanho médio das cadeias

poliméricas entre os polímeros sintetizados com e sem OE, indicando que o crescimento das cadeias poliméricas não é influenciado pela presença do OE. No entanto, como a temperatura de transição vítrea é alterada, entende-se que o OE atua como plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e reduzindo a T_g .

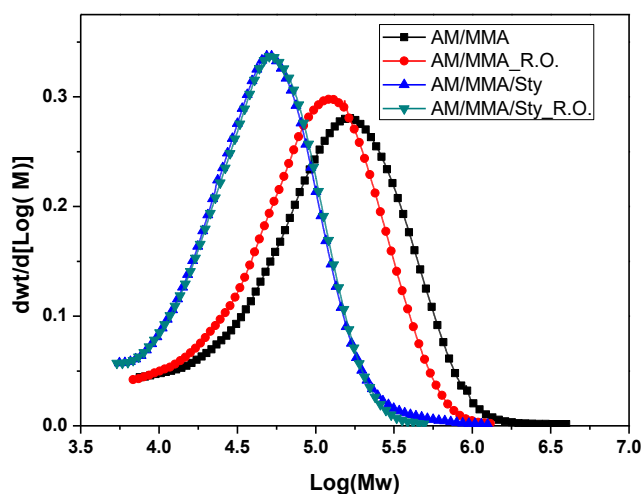


Figura 33: Distribuição de massa molar da fração solúvel dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de *Romarinus officinalis* e dos terpolímeros ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno com e sem óleo essencial de *Romarinus Officinalis*.

Tabela 10 : Distribuição de massa molar dos materiais poliméricos.

Polímero	M_n (kg·Mol ⁻¹)	M_w (kg·Mol ⁻¹)	\bar{D}_M
AM/MMA(a)	61	188	3,0
AM/MMA_R.O.(3a)	52	134	2,5
AM/MMA/Sty(a)	30	61	2,0
AM/MMA/Sty_R.O.(a)	29	57	1,9

Avaliação da estabilidade térmica por termogravimetria

A estabilidade térmica dos materiais foi determinado por análise de termogravimetria e, na Figura 34, são apresentadas as curvas termogravimétricas dos polímeros AM/MMA(a), AM/MMA_R.O.(3a), AM/MMA/Sty(a) e AM/MMA/Sty_R.O.(a), em que é possível observar que a adição do OE não altera significativamente a estabilidade térmica do polímero.

Os copolímeros AM/MMA(a) e AM/MMA_R.O.(3a) apresentam quatro estágios de perda de massa. Na faixa de temperatura entre 25 °C e 100 °C é observada a perda de massa da água residual na amostra. Entre 120 °C e 210 °C a perda de massa observada está associada à perda de água e metanol produzidos por reações entre as cadeias poliméricas.¹⁰

Mansur *et al.*¹⁰ afirmam que essas reações ocorrem devido à presença de grupos ácidos na cadeia polimérica e os resultados obtidos pelo grupo mostram que quanto maior a quantidade de grupos ácidos na cadeia polimérica maior é a perda de massa observada nessa

faixa de temperatura, o que pode justificar os terpolímeros de AM/MMA/Sty não apresentarem uma perda acentuada nessa faixa de temperaturas.

Os copolímeros apresentam ainda uma perda de massa entre 210°C e 360°C, associada à degradação de cadeias insaturadas e de baixa massa molar e uma última perda entre 360 °C e 460 °C referente à degradação da cadeia polimérica.

Os terpolímeros AM/E/MMA(a) e AM/E/MMA_R.O.(a) apresentam dois estágios de perda de massa, o primeiro entre 120 °C e 300 °C associada à perda de cadeias insaturadas e o segundo entre 300 °C e 450 °C associada à degradação da cadeia polimérica.

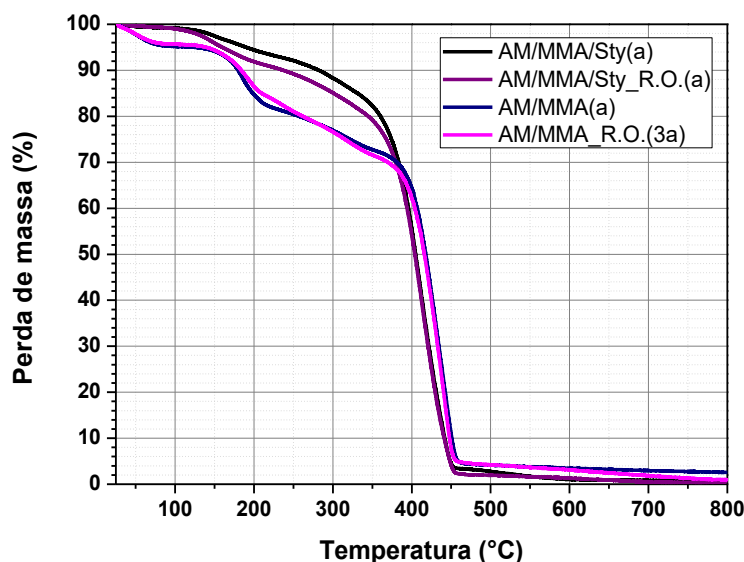


Figura 34: Curvas termogravimétricas dos copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila com e sem óleo essencial de *Romarinus officinalis* e dos terpolímeros a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno com e sem óleo essencial de *Romarinus officinalis*.

Determinação de eficiência do encapsulamento

A eficiência de encapsulamento do OE foi determinada por análise quantitativa por cromatografia gasosa. A quantidade de óleo não encapsulado foi determinada baseada na área dos sinais dos cromatogramas referentes aos dois compostos majoritários do OE: 1,8-cineol e cânfora.

Os resultados obtidos sugerem que a composição do polímero influencia na eficiência de encapsulamento, uma vez que, o terpolímero contendo AM/MMA/Sty apresentou maior eficiência de encapsulamento do que o copolímeros contendo AM/MMA. Para o terpolímero, a eficiência de encapsulamento foi de 92% para cânfora e 95% para 1,8-cineol. Para o copolímero, foi observada uma eficiência de 84% para cânfora e 91% para 1,8-cineol.

A eficiência de encapsulamento pode estar ligada à diferença de hidrofobicidade dos monômeros usados. Como discutido anteriormente, o estireno é um monômero mais hidrofóbico que o ácido metacrílico e o metacrilato de metila, assim, quando o estireno é adicionado à composição, a solubilidade do OE nas gotas de monômero aumenta. Como na polimerização em suspensão a reação ocorre no interior das gotas, o aumento da solubilidade do OE resulta na no aumento da eficiência de encapsulamento.

Avaliação da atividade antifúngica dos polímeros

A atividade antifúngica dos polímeros obtidos foi avaliada pela técnica de microdiluição, a mesma metodologia utilizada para avaliar a atividade do OE. Na tabela 11 são apresentados os valores de CIM e CFM obtidos para os fungos *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*. Foi observado que o fungo *C. parapsilosis* apresentou maior sensibilidade aos materiais poliméricos que os demais fungos testados.

Tabela 11 : Resultados dos testes de atividade antifúngica dos polímeros obtidos.

	<i>Candida albicans</i> ATCC SC5324		<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	
	CIM (%)	CFM (%)	CIM (%)	CFM (%)	CIM (%)	CFM (%)
AM/MMA(a)	0,03	0,06	0,06	0,13	<0,03	0,03
AM/MMA_R.O.(3a)	0,03	0,06	0,06	0,13	<0,03	0,03
AM/MMA/Sty(a)	0,25	0,50	0,13	0,25	0,06	0,13
AM/MMA/Sty_R.O.(a)	0,13	0,25	0,13	0,25	0,03	0,06
Óleo essencial	0,25	0,50	0,25	0,50	0,50	1,00

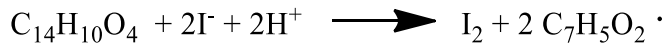
Os copolímeros a base de ácido metacrílico e metacrilato de metila apresentaram maior atividade que os terpolímeros. Mesmo os polímeros sem o OE apresentaram atividade antifúngica, indicando que além do OE há algum outro componente na formulação do polímero que apresenta tal atividade.

Para facilitar a formação da suspensão óleo-água é adicionado ao meio Tween 80, um tensoativo que auxilia na formação da suspensão. *Griffin et al.* observaram que os resultados dos testes em microdiluição são influenciados pela concentração de Tween utilizado. Ao aumentar a concentração de Tween verificaram CIM e CFM menores.¹¹

O Tween é um tensoativo que pode interagir com as membranas das células fúngicas, o PVA é um agente de suspensão utilizado nas reações de polimerização e não é retirado ao final do processo, a presença deste material no polímero poderia estar influenciando os resultados de atividade antifúngica justificando os valores de CIM e CFM encontrados mesmo para os polímeros sem o OE.

Outro fator que poderia estar influenciando os resultados, é a presença de PBO residual no polímero, este composto tem ação antimicrobiana, sendo utilizado na indústria farmacêutica na formulação de medicamentos no tratamento de acne.¹²⁻¹⁴

Por esta razão, foi realizado um teste de identificação de peróxido, utilizando iodeto de potássio como indicador, com o objetivo de verificar a presença de peróxido nos materiais poliméricos estudados. Os íons de iodeto são incolores em solução aquosa, mas na presença de peróxidos oxidam formando iodo molecular, que apresenta uma coloração amarelada, reação apresentada no Esquema 3.

*incolor**amarelo*

Esquema 3

Como é possível observar na Figura 35, os materiais poliméricos testados apresentaram resultado positivo para presença de peróxido, pois ao adicionar a solução ácida contendo iodeto de potássio mudaram de cor (Figura 35b).

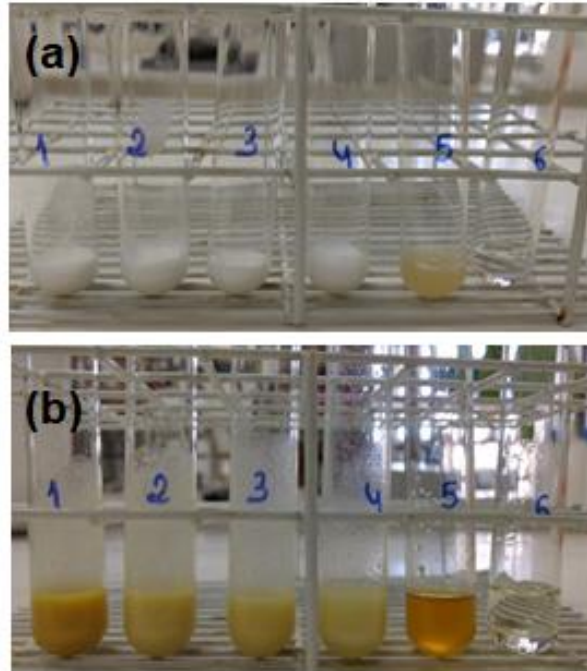


Figura 35 : Imagens do teste de identificação de peróxido (a) materiais antes da adição da solução ácida de iodeto de potássio e (b) materiais após a adição da solução ácida de iodeto de potássio. (1) AM/MMA_R.O.(3a); (2) AM/MMA(a); (3) AM/MMA/Sty_R.O.(a); (4) AM/MMA/Sty (a) (5) Óleo essencial de *Romarinus officinalis* após a reação de oxidação; (6) água destilada.

Para certificar que a mudança de cor observada no teste de identificação de peróxido era devido a presença de peróxido de benzoíla, foi determinado o índice de peróxido durante a reação de polimerização do terpolímero de AM/MMA/Sty.

As alíquotas retiradas ao longo da reação foram tituladas com uma solução 0,01 N de tiossulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) e em seguida o índice de peróxido foi calculado pela Equação 6.

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{M} \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

A = volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gasto na titulação

B = volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gasto na titulação do branco

N = normalidade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

f = fator de correção da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

M = massa da amostra

Na Figura 36 é possível observar a variação do índice de peróxido ao longo da reação. Como era esperado, o índice é maior no início da reação, quando o iniciador começa a ser consumido para a formação dos radicais primários. Ao longo da reação o iniciador é consumido e o índice de peróxido decai. No entanto, mesmo ao final da reação, após 240 minutos, é observada a presença de peróxido no material, que pode estar influenciando o resultado de atividade fungicida dos polímeros avaliados.

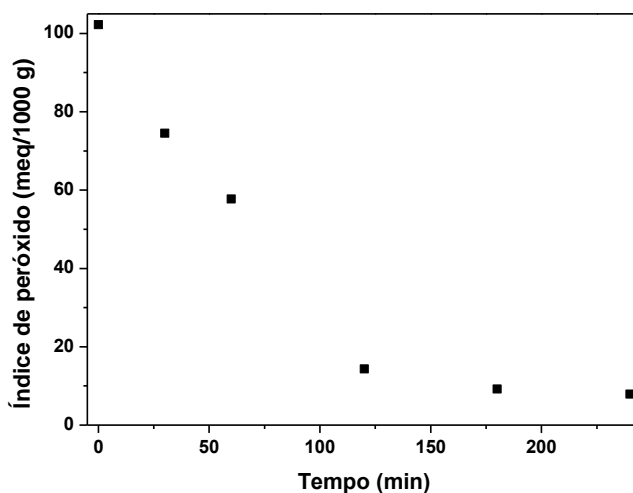


Figura 36: Curva de Índice de peróxido em função do tempo de reação do terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.

No entanto, na Figura 37, comparando as placas de cultura do fungo *C. albicans* tratadas com a mesma concentração de OE de *R. officinalis* (Figura 37a), terpolímero a base de AM/MMA/Sty (Figura 78b) e OE encapsulado pelo terpolímero a base de AM/MMA/Sty (Figura 37 c) é possível observar a diferença no crescimento do fungo, evidenciando que o material encapsulado apresenta melhor atividade antifúngica em relação aos demais. Quando o material encapsulado foi utilizado, não foi observado o crescimento dos fungos.

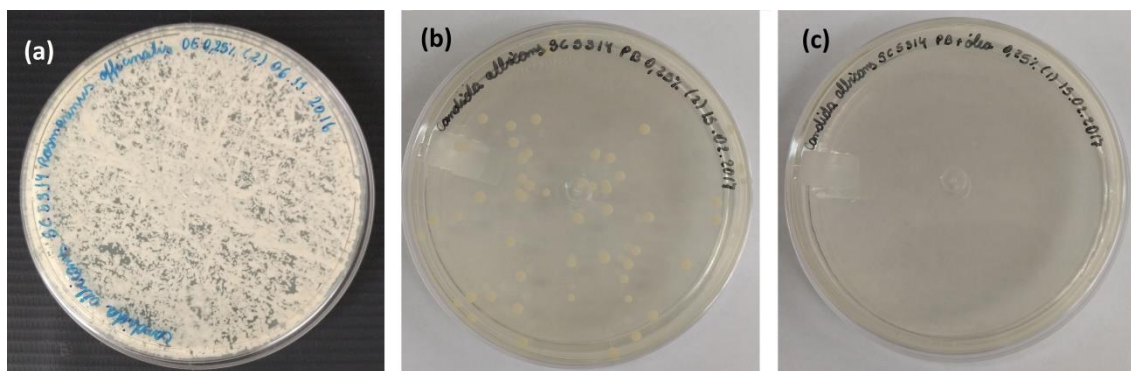


Figura 37: Placas de cultura do fungo *Candida albicans* tratadas com 0,25% de (a) óleo essencial de *Romarinus officinalis*, (b) terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno (c) óleo essencial de *Romarinus officinalis* encapsulado pelo terpolímero a base de ácido metacrílico, metacrilato de metila e estireno.

Avaliação da citotoxicidade dos polímeros

Para aplicação destes materiais na formulação de cosméticos é importante avaliar a toxicidade dos polímeros para células eucarióticas, dessa forma, foram realizados ensaios *in vitro* para determinação da viabilidade celular para linhagens fibroblasto e queratinocitos humanos (FIBRO e HaCat) para os materiais AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a); AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty (a).

Com base nos dados obtidos e apresentados na Figura 38, não foi observada uma significativa redução da viabilidade celular para a linhagem de fibroblasto após 24 h de exposição ($p < 0,05$), quando comparadas com o controle, exceto para a amostra AM/MMA_R.O.(3a), nas concentrações 0,01 e 0,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, e a amostra AM/MMA/Sty (a), em todas as concentrações, apresentando diminuição da viabilidade celular de quase 50%.

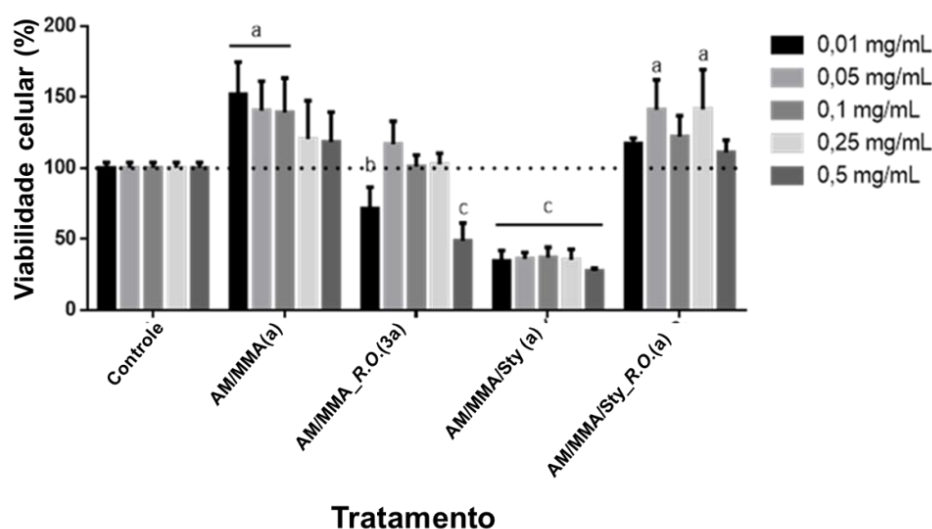


Figura 38 : Avaliação da atividade citotóxica dos materiais AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a); AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty (a) em células de fibroblasto humano (FIBRO) após 24h de exposição nas concentrações de 0,01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,05 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,25 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos para a linhagem de HaCat, um queratinocito normal, são apresentados na Figura 39. Esta linhagem celular foi inserida no contexto deste estudo com o intuito comparativo com a linhagem anterior para avaliar toxicidade, uma vez que, a análise associada dos resultados corrobora para a avaliação mais detalhada de citotoxicidade em ensaio *in vitro*.

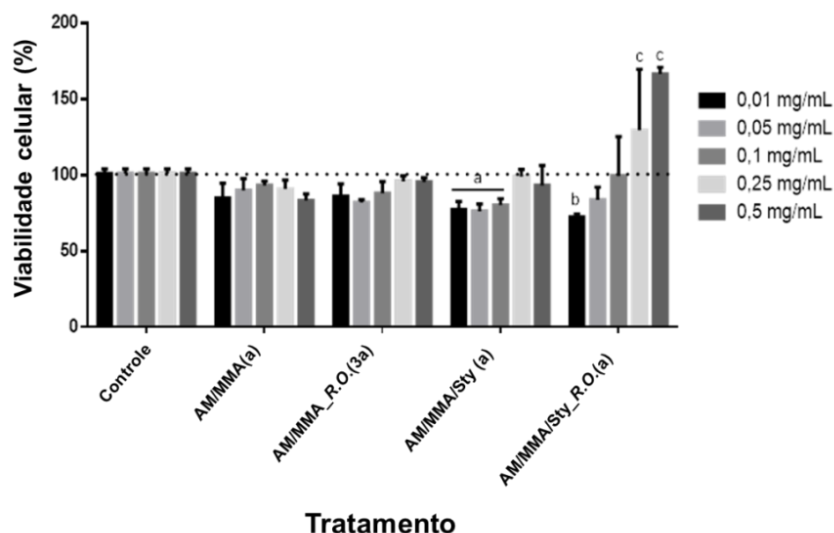


Figura 39 : Avaliação da atividade citotóxica dos materiais AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a); AM/MMA/Sty_R.O.(a) e AM/MMA/Sty (a) em células de queratinócitos (HaCat) após 24h de exposição $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($p < 0,05$).

Após 24 horas de exposição, foi possível observar diminuição significativa da viabilidade celular entre 10 e 20 % em comparação com o controle ($p < 0,05$). Entretanto, essa diminuição não é considerada biologicamente relevante, podendo considerar que as amostras AM/MMA_R.O.(3a); AM/MMA(a) e AM/MMA/Sty_R.O.(a), para concentrações acima de $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, não apresentam citotoxicidade. No entanto, a amostra AM/MMA/Sty (a) apresentou uma viabilidade celular diminuída de 20 a 30% nas três primeiras concentrações analisadas.

Diante dos resultados obtidos com o estudo, é possível considerar que as amostras não apresentam toxicidade representativa para células não tumorais, sendo consideradas como materiais potenciais a serem utilizadas associadas a outras substâncias sem dano ao organismo humano.

Apenas a amostra AM/MMA/Sty (a) apresentou relevante citotoxicidade, que pode estar associada à presença de estireno residual, tendo em vista que a conversão deste material não foi total. O estireno ainda presente na amostra corrobora para a toxicidade significativa, pois ensaios realizados por outros grupos evidenciam a toxicidade do estireno. Em estudos *in vivo* foi observado que a exposição por via inalatória é capaz de degeneração ou alterações em órgãos como o fígado.^{15 16 17}

IV. 4 – Conclusão

Por apresentar propriedades antioxidante e anti-inflamatória o OE de *C. officinalis* desperta grande interesse da indústria de cosméticos para a formulação de cremes, sabonetes, entre outros. No entanto, foi observado que este OE é oxidado durante a reação de polimerização devido à presença de radicais no meio reacional. Dessa forma, o método de polimerização em suspensão iniciada por um iniciador radicalar não é o método mais adequado para encapsulamento do OE de *C. officinalis*, pois ao final da reação OE perde as propriedades de maior interesse para a indústria.

Considerando a perda das propriedades do OE de *C. officinalis* e que o OE de *R. officinalis* apresentou CIM e CFM inferiores ao obtidos para o primeiro OE, optou-se por não dar continuidade aos estudos de encapsulamento do *C. officinalis*.

A concentração de agente de suspensão, PVA, necessária para estabilizar a suspensão depende da solubilidade dos monômeros em água. Quando a concentração de ácido metacrílico, monômero hidrofílico, na composição do polímero foi maior, a concentração de PVA necessária para estabilizar foi menor. Ao adicionar estireno, foi necessário aumentar a concentração de PVA.

A adição do OE não tem influência na massa molar e nem na estabilidade térmica dos polímeros, apenas na temperatura de transição vítrea. Quando o OE é utilizado a diminuição da T_g é observada, efeito que sugere que o OE atua como plastificante.

O encapsulamento via polimerização em suspensão apresenta eficiência acima de 80% e os resultados mostram que a natureza dos monômeros influencia na eficiência de encapsulamento. Quando é adicionado estireno à composição, a eficiência de encapsulamento aumenta.

Os resultados da avaliação da atividade antifúngica revelam que os materiais testados apresentam atividade antifúngica, mesmo os polímeros que não contêm OE. No entanto, as imagens das placas de crescimentos do fungo *C. albicans* sugerem que o material encapsulado apresenta atividade antifúngica maior que os materiais não encapsulado.

Os resultados da avaliação de citotoxicidade indicam que, com exceção do material AM/MMA/Sty (a), os demais materiais não apresentam toxicidade significativa para células não tumorais de fibroblasto e queratinócitos. A citotoxicidade apresentada pelo material AM/MMA/Sty (a) pode estar associada à presença de estireno residual resultante da conversão incompleta da reação de polimerização.

IV. 5 – Referência Bibliográfica

- (1) Tomazelli, O.; Kuhn, F.; Padilha, P. J. M.; Vicente, L. R. M.; Costa, S. W.; Boligon, A. A.; Scapinello, J.; Nesi, C. N.; Dal Magro, J.; Castellvi, S. L. *Brazilian Journal of Biology* **2018**, *78*, 311.
- (2) Hofmeister, I.; Landfester, K.; Taden, A. *Macromolecules* **2014**, *47*, 5768.
- (3) Gunay, K. A.; Benczedi, D.; Herrmann, A.; Klok, H. A. *Advanced Functional Materials* **2017**, *27*.
- (4) Pena, B.; Panisello, C.; Areste, G.; Garcia-Valls, R.; Gumi, T. *Chemical Engineering Journal* **2012**, *179*, 394.
- (5) Zhao, D.; Jiao, X.; Zhang, M. M.; Ye, K.; Shi, X. D.; Lu, X. H.; Qiu, G.; Shea, K. J. *Rsc Advances* **2016**, *6*, 80924.
- (6) Granata, G.; Stracquadanio, S.; Leonardi, M.; Napoli, E.; Consoli, G. M. L.; Cafiso, V.; Stefani, S.; Geraci, C. *Food Chemistry* **2018**, *269*, 286.
- (7) Romio, A. P.; Sayer, C.; Araujo, P. H. H.; Al-Haydari, M.; Wu, L. B.; da Rocha, S. R. P. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2009**, *210*, 747.
- (8) Teeka, P.; Chaiyasat, A.; Chaiyasat, P. In *11th Eco-Energy and Materials Science and Engineering*; Yupapin, P. P., PivsaArt, S., Ohgaki, H., Eds. 2014; Vol. 56, p 181.
- (9) Brandrup, J.; Immergut, E. H.; Grulke, E. A. *Polymer Handbook*, 4th ed.; Wiley-Interscience, 1998; Vol. New York.
- (10) Mansur, C. R. E.; Tavares, M. I. B.; Monteiro, E. E. C. *Journal of Applied Polymer Science* **2000**, *75*, 495.
- (11) Griffin, S. G.; Wyllie, S. G.; Markham, J. L.; Leach, D. N. *Flavour and Fragrance Journal* **1999**, *14*, 322.

- (12) Kawashima, M.; Hashimoto, H.; Alio Saenz, A. B.; Ono, M.; Yamada, M. *Journal of Dermatology* **2014**, *41*, 795.
- (13) Mays, R. M.; Gordon, R. A.; Wilson, J. M.; Silapunt, S. *Dermatologic Therapy* **2012**, *25*, 23.
- (14) Kircik, L. H. *Journal of Drugs in Dermatology* **2014**, *13*, S57.
- (15) Parkki, M. G.; Marniemi, J.; Vainio, H. *Toxicology and Applied Pharmacology* **1976**, *38*, 59.
- (16) de Luna, L. A. V.; de Moraes, A. C. M.; Consonni, S. R.; Pereira, C. D.; Cadore, S.; Giorgio, S.; Alves, O. L. *Journal of Nanobiotechnology* **2016**, *14*, 12.
- (17) Sumner, S. C. J.; Cattley, R. C.; Asgharian, B.; Janszen, D. B.; Fennell, T. R. *Chemico-Biological Interactions* **1997**, *106*, 47.

Capítulo V: Látex com elevado teor de sólido

V. 1 - Introdução

O termo látex é usado neste trabalho para se referir a uma dispersão homogênea estável de partículas polimérica de tamanho submicron em uma fase contínua aquosa obtida via polimerização em emulsão. A polimerização em emulsão apresenta algumas vantagens tais como: controle do tamanho de partícula, obtenção de polímero com elevada massa molar, elevada conversão e, portanto, baixo teor de monômero residual e, por utilizar a água como fase contínua (meio reacional não tóxico), facilita a troca de calor durante a reação de polimerização. Por isso, a polimerização em emulsão é a mais usada para a produção de materiais de revestimento como tintas e esmaltes.

Para estas aplicações, o aumento do teor de sólidos apresenta algumas vantagens como a diminuição de tempo de secagem e aumento da qualidade do filme, e na indústria há um ganho na produção e redução de custos com transporte e estocagem do material.

Porém, a viscosidade de um látex aumenta com o aumento do teor de sólidos e, para materiais de revestimento, a alta viscosidade além de dificultar a aplicação do material também dificulta a homogeneização do meio reacional no reator durante a síntese e o transporte do látex do reator para outras partes da planta.

O teor de sólido máximo de um látex depende da geometria de empacotamento das partículas e se limita entre 64% para a geometria de empacotamento fechado aleatório e 74% para a geometria cúbico de face centrada. Para partículas monodispersas a geometria de empacotamento independe do diâmetro de partícula, porém, o diâmetro de partícula influencia na viscosidade do látex.

A distância entre as partículas diminui com o aumento do teor e sólido e, por consequência, a força de atração entre as partículas aumenta resultando no aumento da viscosidade. A força de atração entre as partículas depende da espessura da dupla camada eletrônica que envolve a superfície das partículas, a espessura da camada não depende do diâmetro de partícula, mas tem maior impacto nas partículas pequenas. Por esse motivo, a diminuição do tamanho de partícula provoca o aumento da viscosidade.

Sendo assim, este capítulo foca na síntese de látices monomodais para aplicação como material de revestimento que devem apresentar como características: teor de sólido próximo de 60%, diâmetro médio de partícula próximo de 300 nm e viscosidade abaixo de 1,5 Pa.s a uma taxa de cisalhamento de 20 s^{-1} .

Os látices serão obtidos via polimerização em emulsão em processo batelada e semi-batelada. Inicialmente em modo batelada serão obtidos látices com teor de sólido de 10 e 20% que serão utilizados como carga inicial do reator. Em seguida, a fim de se evitar a nucleação homogênea, os látices serão concentrados até atingirem o teor de sólido de interesse.

V.2 – Materiais e métodos

V.2.1– Reagentes utilizados

Para a síntese dos látices foram utilizados os seguintes reagentes: metacrilato de metila (MMA, Aldrich, 99%), ácido acrílico (AA, Acros, 99.5%), estireno (Sty, Acros, 99%), sulfato de sódio (Na_2SO_4 , Aldrich, 99%), tensoativo aniônico (TA, Disponil FES3IS: ácido graxo ethoxylato com grupo sulfonato), tensoativo não-iônico (TN, Disponil A3065: ácido graxo ethoxylato com grupo álcool), persulfato de amônio (APS, Aldrich, 98%) como iniciador e água destilada.

V.2.2 – Método

Modo batelada

Para a síntese dos látices em modo batelada foi usado um reator de vidro encamisado de 1 litro. Ao reator foram adicionados água, TA (Disponil FES32), TN (Disponil A3065) e os monômeros nas quantidades apresentadas na Tabela 12. A mistura foi então aquecida e após homogeneização e desoxigenação por borbulhamento de nitrogênio durante 30 min, a solução de iniciador foi adicionada ao meio dando início à reação de polimerização. O sistema foi mantido sob agitação de 200 rpm e aquecimento durante 150 min. Ao longo do tempo de reação foram retiradas alíquotas para avaliar a conversão e o tamanho de partícula em função do tempo.

Tabela 12: Condições experimentais das reações de polimerização em batelada.

Ensaio	Monômeros (g)			Surfactantes (g)		APS	Na_2SO_4	Teor de sólido (%)	Temperatura (°C)
	MMA	Sty	AA	TA*	TN*				
Massa (g)									
Batelada 3	15,46	13,90	1,54	0,28	0,20	0,31	1,07	5	70
Batelada 4	15,49	14,10	1,54	0,19	0,20	0,31	1,06	5	70
Batelada 7	15,49	13,90	1,55	0,19	0,20	0,15	2,12	5	70
Batelada 8	15,49	13,90	1,56	0,19	0,20	0,15	1,07	5	70
Batelada 9	29,27	26,49	-	0,34	0,36	0,28	-	10	70
Batelada 11	29,17	26,44	-	0,33	0,37	0,56	-	10	70
Batelada 12	29,28	26,40	-	0,17	0,36	0,56	-	10	80
Batelada 13	29,24	26,45	-	0,00	0,36	0,56	-	10	80
Batelada 14	29,38	26,55	-	0,08	0,36	0,56	-	10	80
Batelada 16	85,31	77,17	-	0,14	2,06	1,63	-	20	80
Batelada 17	85,31	77,18	-	0,14	2,07	1,63	-	20	80
Batelada 18	85,59	77,22	-	0,12	2,06	1,63	-	20	80
Batelada 19	85,33	77,22	-	0,28	4,13	1,63	-	20	80

*Massa ativa de tensoativos.

Modo semi-batelada

Para a síntese dos látexes em modo semi-batelada foi usado um reator de vidro encamisado de 1 litro. Ao reator foi adicionado como carga inicial o látex obtido na etapa em batelada, em seguida, com o auxílio de duas bombas seringas, foram adicionadas ao reator uma solução de APS e uma pré-emulsão contendo uma mistura de água, TA, TN e os monômeros estireno e metacrilato de metila. A composição utilizada em cada experimento é apresentada nas Tabelas 13 e 14.

Ao longo da reação foram retiradas alíquotas para avaliar a evolução da conversão, teor de sólidos, viscosidade e o tamanho de partícula em função do tempo.

Tabela 13: Receitas das reações de polimerização em semi-batelada utilizando como carga inicial do reator os látexes Batelada 16 e Batelada 17.

	B17exp1	B17exp2	B17exp3	B17 exp4	B16exp1	B16exp2
Batelada						
Látex	B17	B17	B17	B17	B16	B16
m_{látex} (g)	200	200	200	200	200	160
Semi-batelada						
Composição da pré-emulsão						
Água	113,16	113,30	112,99	112,92	112,95	112,97
MMA	188,47	188,48	188,47	188,47	188,47	188,48
E	170,19	170,19	170,19	170,18	170,13	170,21
TA*	0,72	1,43	2,15	2,76	3,23	3,05
TN*	6,44	5,71	5,01	4,37	7,58	7,55
Fluxo de adição da pré-emulsão (g/h)						
0 a 30 min	17	46	59	37	60	61
30 a 90 min	62	60	54	62	78	77
90 a 150 min	-	76	71	72	93	89
150 a 210 min	-	111	138	135	175	177
210 a 270 min	-	-	172	144	160	159
Total adicionado	433	465	71	270	470	466
Solução de iniciador						
Água	17,45	17,41	17,54	17,66	19,38	19,16
APS	2,61	2,61	2,61	2,60	2,86	2,86
Fluxo de adição da solução de iniciador (g/h)						
0 a 30 min	4	4	3	4	5	4
30 a 90 min	2	1	2	2	2	2
90 a 150 min	-	2	2	2	2	2
150 a 210 min	-	1	2	1	2	2
210 a 270 min	-	-	2	2	2	2
Total adicionado	8	9	4	6	10	12

* Massa ativa de tensoativos.

Tabela 14: Receitas das reações de polimerização em semi-batelada utilizando como carga inicial do reator os látices Batelada 18 e Batelada 19.

	B 18exp1	B18exp3	B18 exp4	B19 exp1	B19 exp2
Batelada					
Látex	B18	B18	B18	B19	B19
m_{látex} (g)	160	160	160	160	230
m_{TN*} adicionada (g)	-	1,37	1,30	-	-
Semi-batelada					
Composição da pré-emulsão					
Água (g)	90,43	113,01	203,44	171,69	114,51
MMA (g)	150,85	188,47	339,53	286,53	191,10
Sty (g)	136,17	170,19	306,35	258,85	172,63
TA* (g)	2,58	3,23	5,81	4,91	3,28
TN* (g)	6,00	7,56	13,56	11,47	7,66
m_{TN*} adicionada 180 min	-	-	0,98	-	-
Fluxo de adição da pré-emulsão (g/h)					
0 a 30 min	59	61	57	58	83
30 a 90 min	76	73	74	71	109
90 a 150 min	91	92	74	87	125
150 a 210 min	186	176	169	146	170
210 a 270 min	-	70	134	-	-
Total adicionado	383	412	478	350	446
Solução de iniciador					
Água (g)	19,41	19,25	23,22	24,04	24,22
APS (g)	2,86	2,86	3,58	3,59	3,59
Fluxo de adição da solução de iniciador (g/h)					
0 a 30 min	5	5	6	5	7
30 a 90 min	2	2	2	2	3
90 a 150 min	1	2	2	2	3
150 a 210 min	1	2	3	2	3
210 a 270 min	-	4	3	-	-
Total adicionado	7	11	12	9	13

* Massa ativa de tensoativos.

V.3 – Resultados e discussões

V.3.1 – Síntese de látices em modo batelada

O objetivo desta etapa é identificar os parâmetros experimentais adequados para sintetizar látices com teor de sólidos entre 10 e 20% para compor a carga inicial do reator na síntese de látices com elevado teor de sólidos em modo semi-batelada.

Após as primeiras reações em batelada foi observada a formação de uma grande quantidade de coágulos nas paredes do reator e sobre o impelidor, como pode ser observado na Figura 40. Tal comportamento é indesejável, pois o depósito de material dificulta a troca de calor no interior do reator alterando as propriedades do material final.



Figura 40: Imagem da âncora de agitação mostrando o depósito de coágulos.

Em uma dispersão coloidal as partículas estão sob influência de forças de atração e repulsão, que quando não contrabalanceadas, podem causar a desestabilização do látex, com a formação dos coágulos. Para estabilizar um látex são adicionados ao meio tensoativos que por impedimento estérico (tensoativo não-iônico) ou eletrostático (tensoativo aniônico) impedem a floculação das partículas durante a polimerização.

Sendo assim, para obtenção dos látexes foram utilizados os tensoativos TA (Disponil FES32), TN (Disponil A3065), para indentificar qual seria a melhor composição de tensoativos, dois experimentos testes foram realizados (Bateada 3 e Batelada 4). Foi observado que ao variar a massa de TA o diâmetro médio das partículas também variou, 71 nm e 82 nm respectivamente para os experimentos Batelada 3 e Batelada 4. No entanto, em ambos os experimentos foi observado a formação de coágulos na parede do reator e no impelidor indicando que o meio não estava estável.

Látexes que contêm monômeros hidrossolúveis como o ácido acrílico são difíceis de estabilizar, pois favorecem nucleação homogênea, resultando no crescimento de cadeias poliméricas na fase aquosa até excederem o limite de solubilidade, quando precipitam dando origem às partículas, normalmente de morfologia irregular.

A nucleação homogênea afeta a estabilidade da emulsão, pois as partículas formadas na fase contínua aumentam a área superficial, sendo necessária uma concentração maior de tensoativo para estabilizá-las, e se a concentração não for alterada, as partículas floculam formando coágulos macroscópicos que incrustam na parede do reator.

A nucleação homogênea não pode ser totalmente evitada, mas pode ser controlada de algumas formas, como, por exemplo, pela variação da força iônica do meio, pela adição de um sal na composição. Dessa forma, para avaliar a influência da adição de um sal na estabilização das partículas na nucleação homogênea, foram realizados os experimentos Batelada 7 e

Batelada 8 em que foram utilizados respectivamente 2,12 e 1,07 gramas de sulfato de sódio na formulação. Ao comparar os resultados apresentados na Figura 41 é possível observar que quando a concentração de sal foi maior o número de partículas no reator diminuiu ao mesmo tempo em que o diâmetro médio de partícula aumentou.

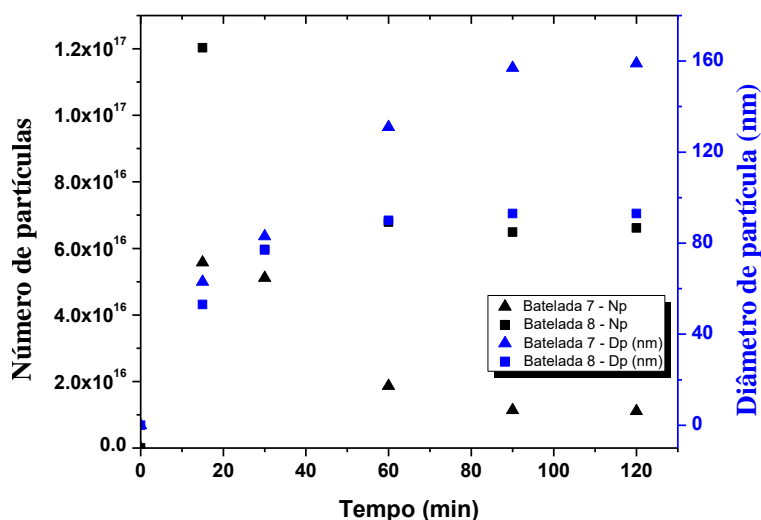


Figura 41: Efeito da concentração de sulfato de sódio na evolução do número de partículas e diâmetro de partícula com o tempo de reação dos experimentos Batelada 7 e Batelada 8.

A adição do sulfato de sódio resulta na modificação da força iônica do meio criando um defeito de estabilização que induz a desestabilização das partículas primárias favorecendo a floculação, por isso, a variação no número de partículas no reator é observada.

No entanto, em ambos os experimentos foi observada ainda formação de coágulos no reator, as estratégias adotadas não foram eficientes para estabilizar o sistema. Então para dar continuidade ao trabalho se decidiu por remover o sulfato de sódio e o ácido acrílico da composição. A ausência do ácido acrílico não iria comprometer o andamento do trabalho, visto que o objetivo principal é a obtenção de látex estável e elevado teor de sólido, e a retirada do monômero melhora a estabilidade da emulsão, pois reduz a nucleação homogênea.

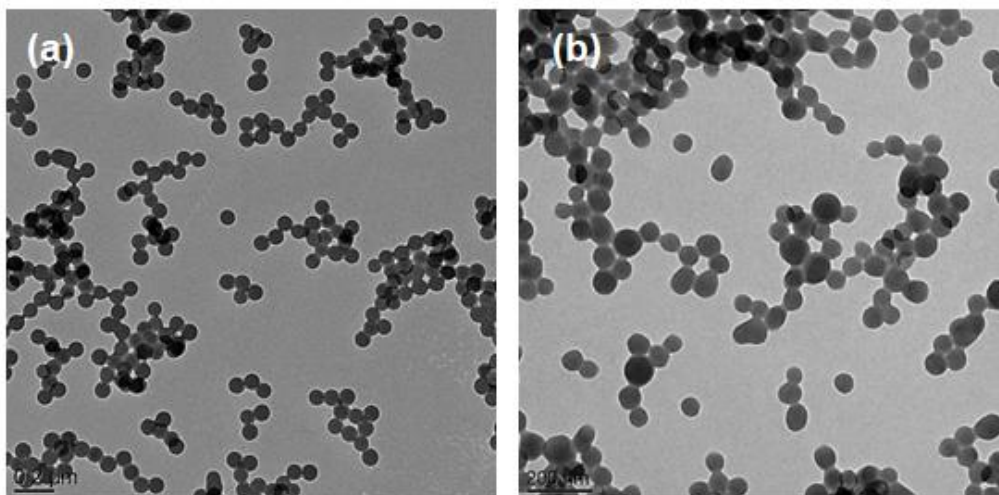


Figura 42: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos látices (a) Batelada 7 e (b) Batelada 8.

Para determinar a melhor concentração de iniciador para as reações seguintes foram realizados os experimentos Batelada 9 e Batelada 11 utilizando respectivamente as concentrações de $0,55 \text{ g.L}^{-1}$ e $1,12 \text{ g.L}^{-1}$ de APS (iniciador). Ao comparar as curvas de conversão destes experimentos, apresentadas na Figura 43, observa-se que mesmo com o aumento da concentração de iniciador a conversão no final das reações foram 86 e 88%.

Nas reações de polimerização radicalar a conversão da reação ao longo do tempo depende da concentração de radicais disponíveis no meio reacional, que depende da decomposição do iniciador que varia com a temperatura da reação. Por esse motivo, a estratégia usada para aumentar a conversão final foi o aumento da temperatura do meio reacional de $70 \text{ }^\circ\text{C}$ para $80 \text{ }^\circ\text{C}$, dessa forma, após 150 min de reação foi observada conversão de 97% para o experimento Batelada 12 que foi preparado com a mesma concentração de iniciador do experimento Batelada 11. Neste caso, o aumento da temperatura em $10 \text{ }^\circ\text{C}$ levou ao aumento da conversão em 10 %.

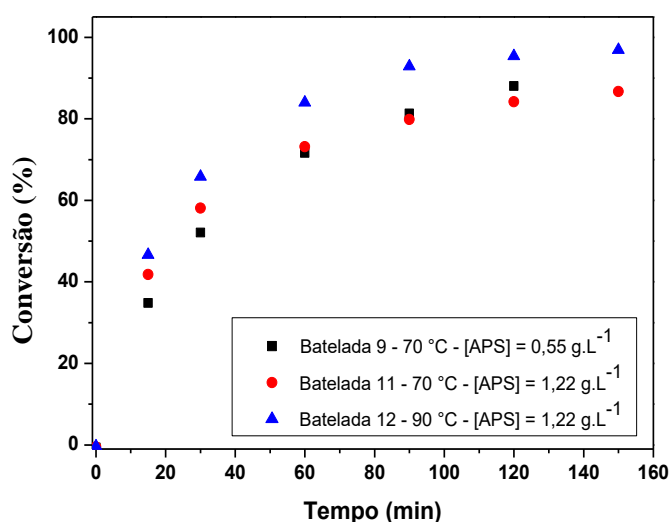


Figura 43: Efeito da concentração de persulfato de potássio e da temperatura de reação nos perfis de conversão dos experimentos Batelada 9, Batelada 11 e Batelada 12.

Uma vez determinados os monômeros a serem usados (estireno e metacrilato de metila), concentração de iniciador e temperatura de reação, era preciso encontrar a melhor concentração de tensoativos para ser usada.

Por esse motivo, para os experimentos Batelada 11, Batelada 12, Batelada 14 e Batelada 13 a massa de TN foi mantida constante, enquanto a massa de TA foi variada, a fim de se avaliar a influência da concentração dos tensoativos no tamanho de partícula e na estabilidade do látex.

Ao analisar a Figura 44, que apresenta a evolução do diâmetro de partícula ao longo da polimerização, fica evidente a influência do TA sobre o tamanho de partícula, pois quando retirado da composição, o diâmetro de partícula aumenta significativamente.

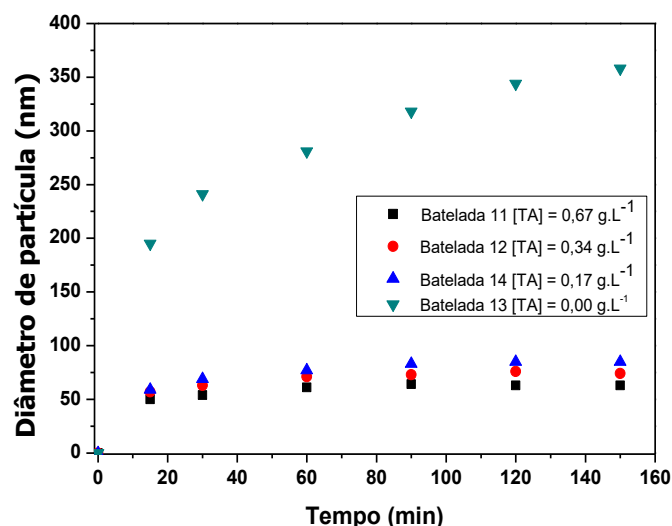


Figura 44: Efeito da concentração de tensoativo aniônico na evolução do diâmetro de partícula dos experimentos Batelada 11, Batelada 12, Batelada 14 e Batelada 13 ao longo da reação de polimerização.

Os dados apresentados na Tabela 15 mostram uma relação inversa entre a concentração de TA e o diâmetro de partícula. Quando a concentração de TA aumenta de 0,34 g.L⁻¹ para 0,67 g.L⁻¹ (experimentos Batelada 12 e Batelada 11) é observado que o diâmetro de partícula diminui de 73 nm para 62 nm. Quando TA é retirado da composição (Batelada 13) o diâmetro de partícula aumenta para 357 nm.

Tabela 15: Influência da concentração de tensoativo aniônico no diâmetro de partícula e PDI.

	Concentração (g.L ⁻¹)		Dp (nm)	PDI
	TA	TN		
Batelada 11	0,67	0,74	62	0,04
Batelada 12	0,34	0,72	73	0,04
Batelada 14	0,17	0,72	85	0,05
Batelada 13	0,00	0,72	357	0,10

A influência do TA na nucleação de partículas pequenas já foi relatada em trabalhos apresentados na literatura, como Boutti¹ e Schneider², e pode ser observada na Figura 45, onde a variação do número de partículas é apresentada para as concentrações de TA utilizadas.

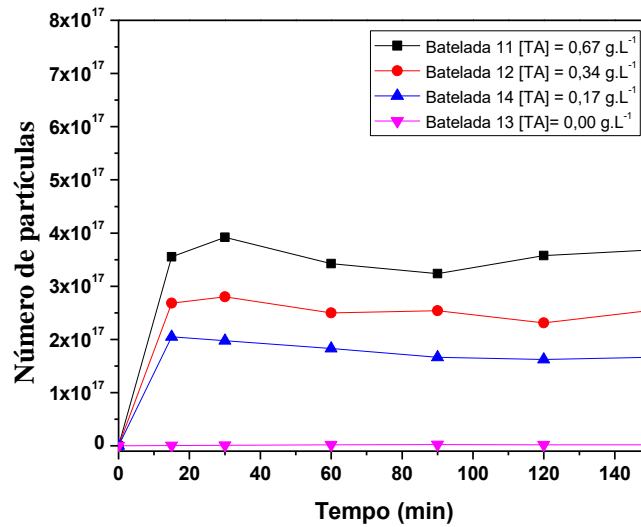


Figura 45: A influência da concentração de tensoativo aniônico na variação do número de partículas ao longo do tempo da reação de polimerização.

Mesmo quando uma pequena quantidade de TA é usada, as partículas, observadas nas imagens de microscopia apresentadas na Figura 46, exibem morfologia esférica e monodispersas com Pdl próximo de 0,05. No entanto, na ausência de TA, o Pdl aumenta para 0,1 e nas imagens de microscopia são observadas partículas esféricas com tamanhos diferentes.

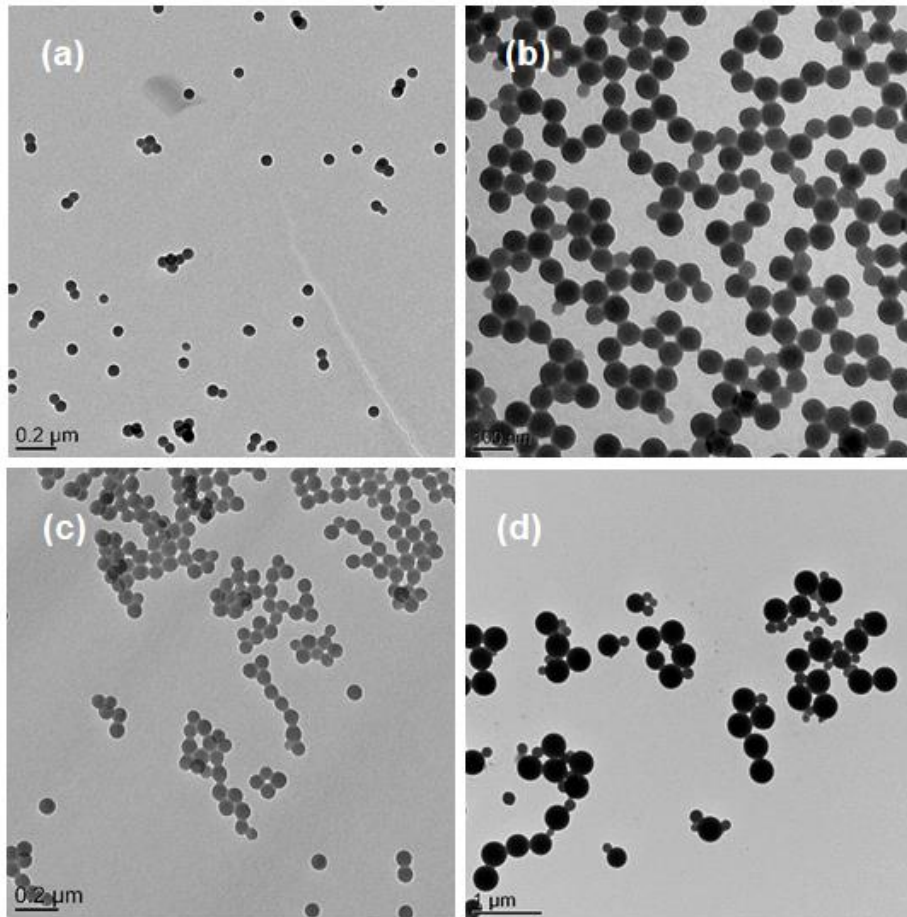


Figura 46: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos látices (a) Batelada 11, (b) Batelada 2, (c) Batelada 14 e (d) Batelada 13.

Síntese de látices com 20% de teor de sólidos

Foram preparados três experimentos em batelada para obtenção de látices com 20% de teor de sólidos, a receita para ambos os experimentos foi a mesma (ver Batelada 16, Batelada 17 e Batelada 18 na Tabela 12). Ao analisar a Figura 47 que relaciona o diâmetro de partícula e número de partículas ao longo do tempo de reação é observada uma similaridade entre os resultados indicando que a metodologia adotada para síntese destes materiais é reprodutiva.

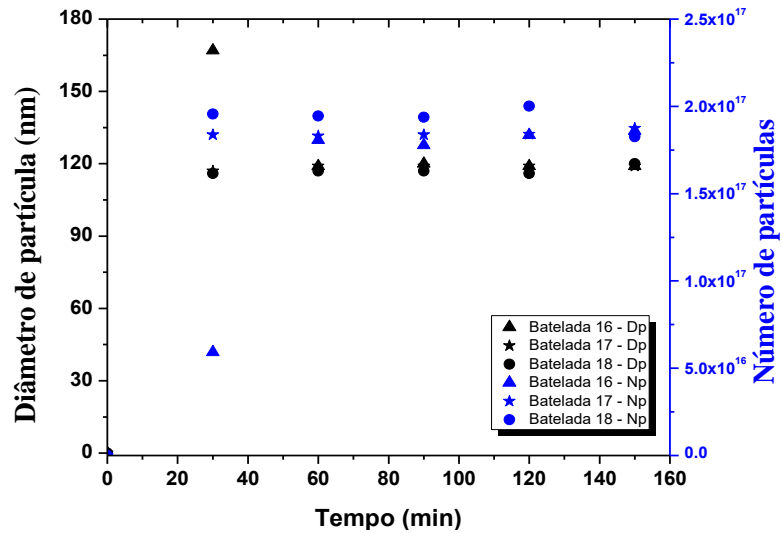


Figura 47: Reprodutibilidade dos experimentos mostrando a evolução do diâmetro de partícula e o número de partículas ao longo do tempo de reação.

A concentração de iniciador e a temperatura de reação utilizada foram adequadas para alcançar conversão de 100% após 150 min de reação como é observado na Figura 48 que apresenta as curvas de conversão ao longo do tempo de reação.

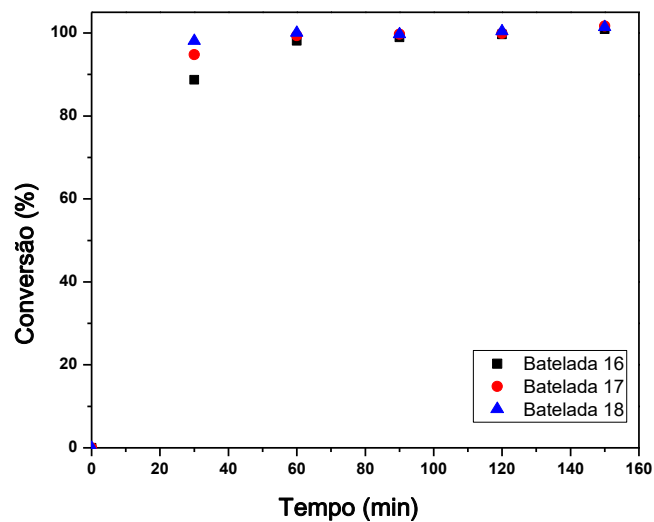


Figura 48: Perfis de conversão dos experimentos Batelada 16, Batelada 17 e Batelada 18.

Não foi observada a formação de coágulos no reator, indicando que as quantidades de tensioativos utilizadas foram suficientes para estabilizar a emulsão. No entanto, na etapa seguinte o teor de sólidos do látex será aumentado por meio do processo de polimerização em modo semi-batelada e à medida que o teor de sólido aumenta maior deve ser o teor de cobertura das partículas, em vista disso, foi preparado o látex Batelada 19 que foi utilizado na composição quantidades de tensioativos duas vezes maior que para os experimentos anteriores. Como observado na Figura 49, o aumento na concentração de tensioativos, aumentou a superfície de cobertura de 14% para 28%.

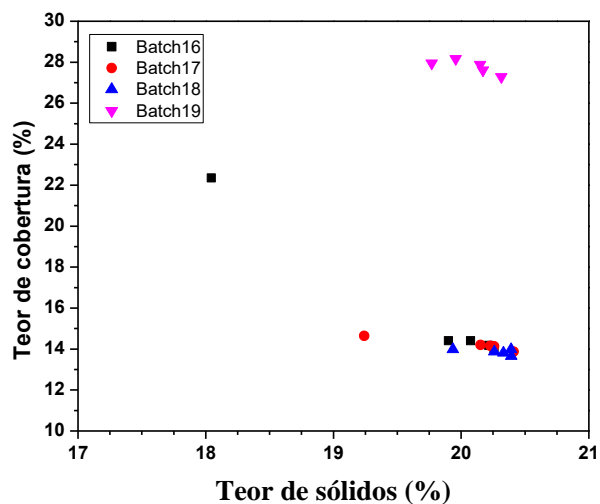


Figura 49 : Efeito da concentração de tensioativo na superfície de cobertura das partículas em função do aumento do teor de sólido dos látices.

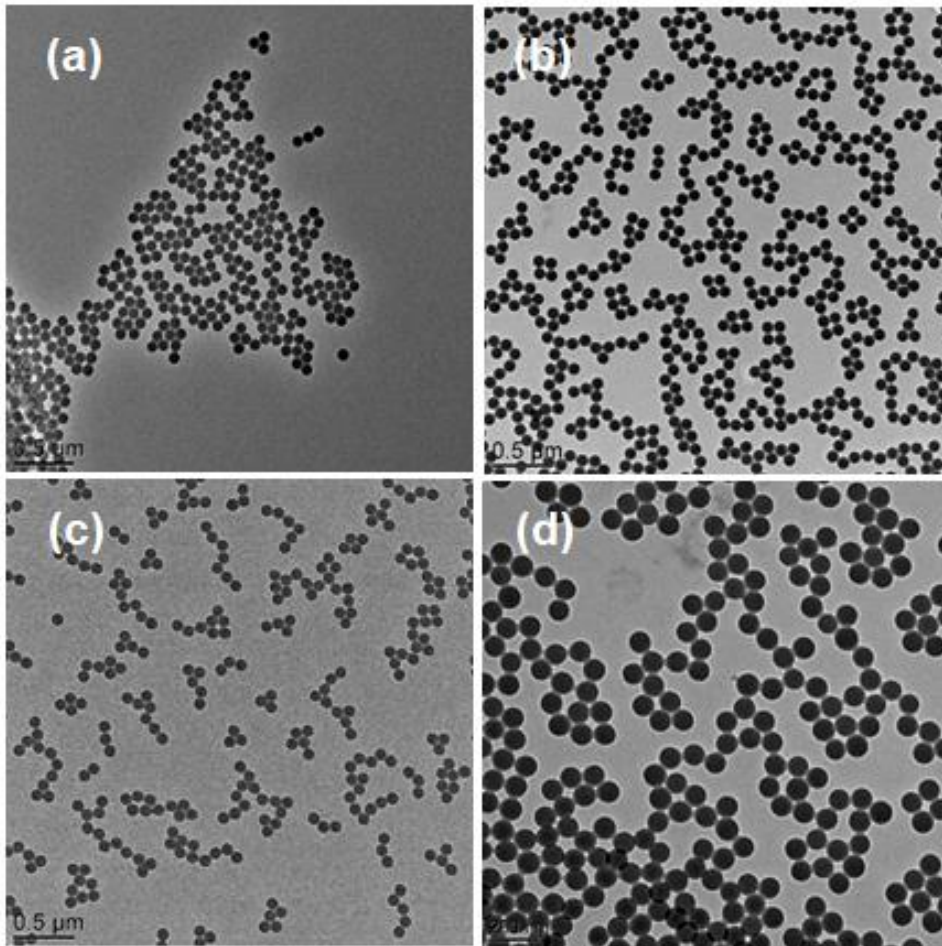


Figura 50: Imagens de microscopia dos látices (a) Batelada16; (b) Batelada 17; (c) Batelada18 e (d) Batelada19.

Ao plotar o diâmetro e o número de partículas em função do tempo para o experimento Batelada 19 não são observadas mudanças significativas comparando com os experimentos anteriores (Figura 51).

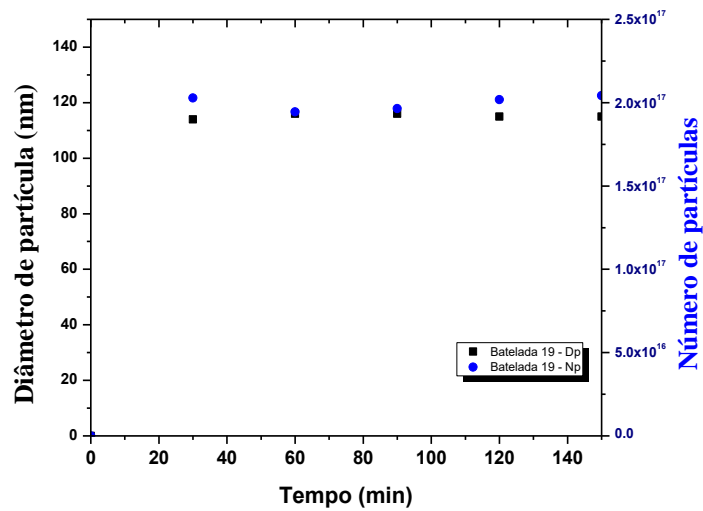


Figura 51: Evolução do número de partículas e diâmetro de partícula ao longo da reação do látex Batelada 19.

V.3.2 – Crescimento das partículas em modo semi-batelada

O objetivo desta etapa é identificar os parâmetros experimentais adequados para, em modo semi-batelada, aumentar o teor de sólidos dos látices obtidos na etapa anterior e identificar o teor máximo de sólidos que pode ser obtido de modo que os látices continuem estáveis, sem a formação de coágulos.

Inicialmente, a fim de identificar a melhor relação entre TA e TN para obter um látex estável com partículas esféricas, monomodal e diâmetro médio de 300 nm foram realizados os experimentos B17 exp1, B17 exp2, B17 exp3 e B17 exp4, em que a fração de TA foi variada entre 10 e 40% em relação à a massa total de tensioativo usada. As composições utilizadas nestes experimentos são apresentadas na Tabela 13.

Foi observada a formação de coágulos nos experimentos B17 exp1, B17 exp2 e B17 exp4 cujas frações de TA foram respectivamente 10, 20 e 40%. A formação dos coágulos impediu a movimentação da âncora de agitação e os experimentos foram interrompidos.

Apesar da massa final de tensioativos ter sido mantida a mesma para os quatro experimentos, a natureza química dos tensioativos influencia a estabilização das partículas no meio, uma vez que a área específica ocupada pela cabeça polar do TA é maior que a ocupada pelo TN, então reduzindo a fração de TA, o teor de cobertura das partículas é menor, o que justifica a instabilidade observada nos experimentos B17 exp1 e B17 exp2.

No entanto, a fração de TA precisa ser controlada, pois este tensioativo favorece a nucleação de novas partículas, aumentando a área superficial total das partículas e desestabilizando o meio, como foi observado no experimento B17 exp4.

Dessa forma, a melhor condição foi quando a fração de TA foi de 30% (experimento B17 exp3). Na Figura 52 é apresentada a imagem de microscopia do experimento B17exp3 onde é observado a formação de partículas esféricas com distribuição estreita de tamanho, um Pdl de 0,03e diâmetro médio de partícula de 271 nm.

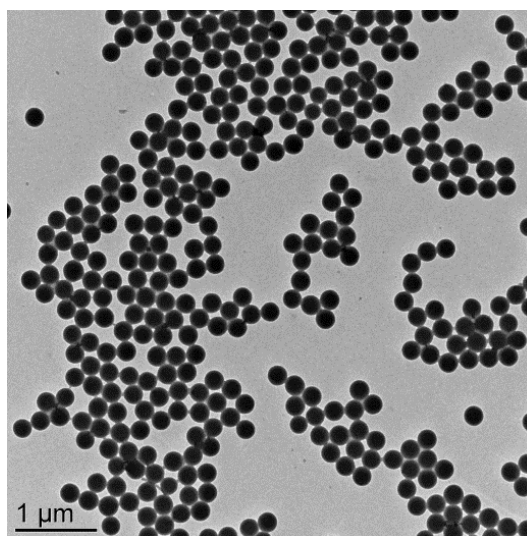


Figura 52: Imagem de microscopia eletrônica de transmissão do látex B17 exp3.

Como o objetivo desta etapa é obter partículas de 300 nm, sabendo que não seria possível variar a concentração de tensioativos, dois experimentos adicionais foram pensados.

Para o primeiro experimento (B16exp1), o fluxo de adição da pré-emulsão foi aumentado em 25%, esperando que o aumento de monômero no meio reacional favorecesse o aumento do tamanho de partícula. Para o segundo experimento (B16exp2), além de aumentar o fluxo de adição da pré-emulsão a massa inicial de látex no reator foi reduzida, esperando que ao diminuir o número de partículas no meio, ao alimentar o reator com a pré-emulsão o tamanho de partícula iria aumentar.

Como observado nas imagens de microscopia Figura 53, em ambos os experimentos foram obtidas partículas esféricas e com baixo PDI, ambos 0,04. Todavia, ao analisar o gráfico da evolução do diâmetro de partícula ao longo do tempo de reação, apresentado na Figura 54, não é observado um aumento significativo do diâmetro de partícula, logo as modificações propostas no procedimento experimental não foram eficientes para o aumento significativo do tamanho médio de partícula.

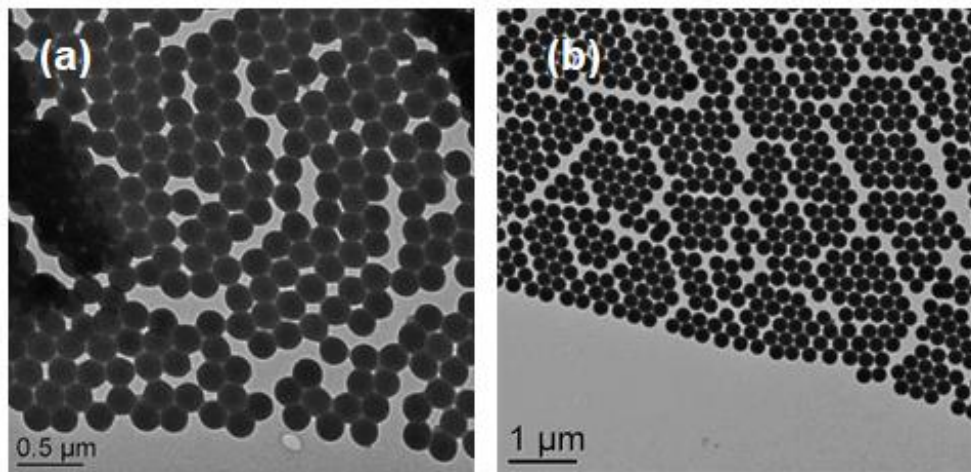


Figura 53: Imagens de microscopia dos látexes (a) B16 exp1 e (b) B16 exp2.

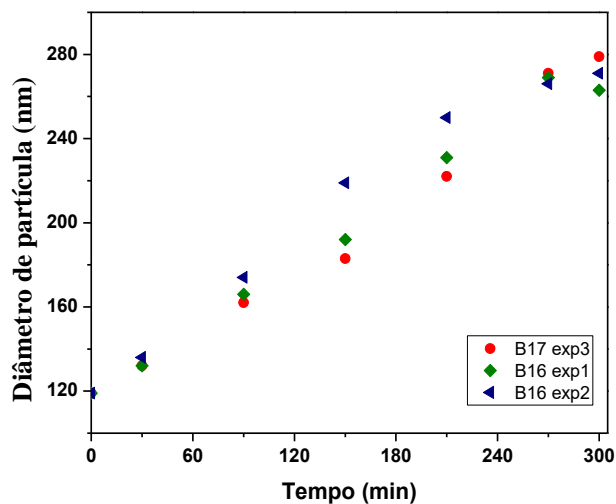


Figura 54: Evolução do diâmetro de partícula ao longo da reação de polimerização em modo semi-batelada.

Os resultados dos testes de viscosidade para os látexes B17exp3, B16exp1 e B16 exp2 são apresentados na Figura 55, onde é possível observar o aumento da viscosidade do látex em função do aumento do teor de sólido. Acima de 50% à medida que o látex é concentrado, o

aumento da viscosidade é mais significativo. Este efeito é evidente quando as viscosidades do látex B16 exp2 a 60% e 61% de teor de sólidos são comparadas, cujos valores são respectivamente 0,35 e 0,55 Pa.s.

Os dados de viscosidade obtidos são importantes, pois revelam que os látices sintetizados possuem viscosidade abaixo do limite estipulado pela indústria de 1,5 Pa.s. Entretanto, o látex com teor de sólido acima de 60% apresentou um problema de estabilidade, sendo observados alguns coágulos no reator..

Por estas razões, o látex B18exp1 foi preparado com a mesma receita do látex B16exp 2, no entanto, a adição da pré-emulsão foi interrompida quando o teor de sólido atingiu 58%. Tal látex será usado posteriormente no capítulo VI para obtenção de látices com duas populações.

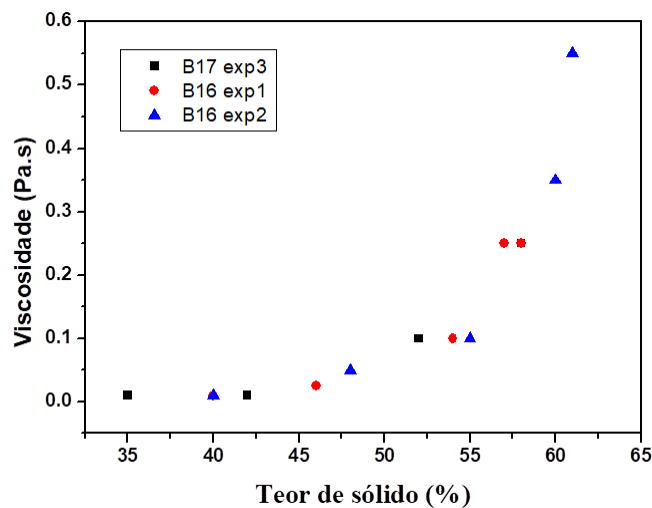


Figura 55: Variação da viscosidade do látex com o aumento do teor de sólidos para os látices B17 exp3; B16 exp1 e B16 exp2.

Na Figura 56 é observada a imagem de MET das partículas do látex B18exp1, em que partículas esféricas com diâmetro médio de 242 nm foram obtidas.

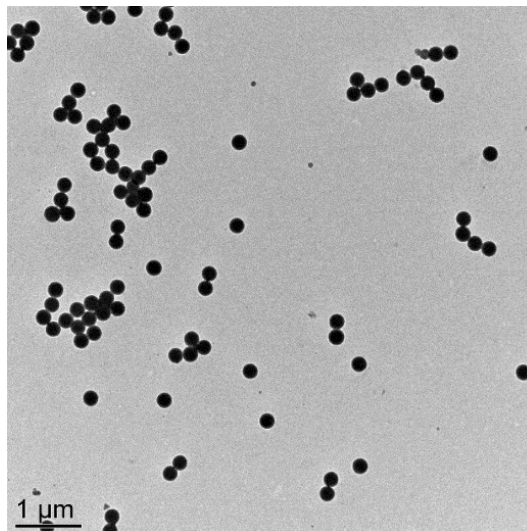


Figura 56: Imagem de microscopia do látex B18 exp1.

A estabilidade de um látex com elevado teor de sólido depende do teor de cobertura das partículas, e, se o teor de cobertura for baixo, significa que não há tensoativo suficiente no meio para estabilizar as partículas, então estas coagulam. Mas se o teor de cobertura é maior que 100%, significa que há tensoativo livre no meio que irá favorecer a nucleação homogênea, que como foi discutido anteriormente, também contribui para a desestabilização do látex.

Analisando a Figura 57, em que o teor de cobertura é apresentado em função do teor de sólido no látex, observa-se que para os experimentos realizados até o momento, o teor de cobertura de início da etapa em modo semi-batelada é próximo de 15% o que justifica o fato de ser observada a formação de coágulos no reator nos minutos iniciais desta etapa que contribuem para perda de estabilidade do látex conforme o teor de sólido aumenta.

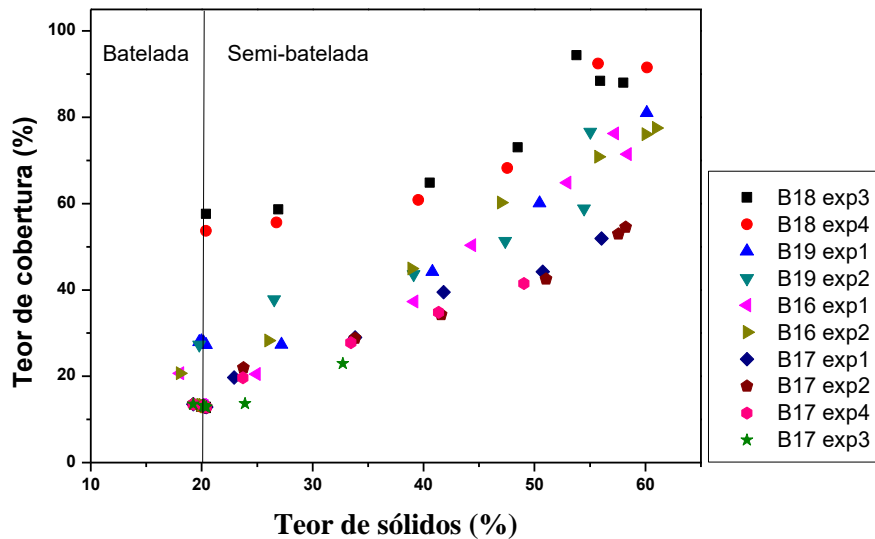


Figura 57: Variação do teor de cobertura das partículas em função do teor de sólidos.

No intuito de obter látices com teor de sólido acima de 60% foram pensadas três diferentes estratégias para os experimentos B18exp3, B18 exp4 e B19exp1. Para o experimento B18exp3 foi usada a mesma receita do experimento B16exp2, porém, foi adicionado TN ao látex no reator antes de iniciar a adição da pré-emulsão, assim o teor de cobertura no início da etapa semi-batelada passou de 15% para aproximadamente 60%. Para o experimento B18exp4, além de adicionar TN ao látex antes da adição da pré-emulsão, foi adicionado mais TN após 3 h de reação na etapa semi-batelada. Já para o experimento B19exp1 não foi adicionado TN, no entanto, usou-se como carga inicial do reator o látex Batelada 19 que já foi preparado com uma concentração de tensoativos maior. Todavia, nenhuma das estratégias adotadas foi eficiente para aumentar o teor de sólido do látex, ao atingir 60% os coágulos formados no reator impediam a movimentação da âncora de agitação, sendo necessário parar a reação.

Em vista dos resultados obtidos e considerando principalmente que após 57% de teor de sólido a viscosidade do látex aumenta bruscamente, foi sintetizado um látex contendo 55% de teor de sólidos a partir da receita do experimento B19exp1. Tal látex (B19exp2) também

será utilizado posteriormente no capítulo VI para síntese de látices com duas populações de partículas.

A imagem de microscopia do látex B19exp2 apresentada na Figura 58 mostra que foi obtido um látex composto de partículas esféricas com tamanho médio igual a 296 nm e PDI 0,17.

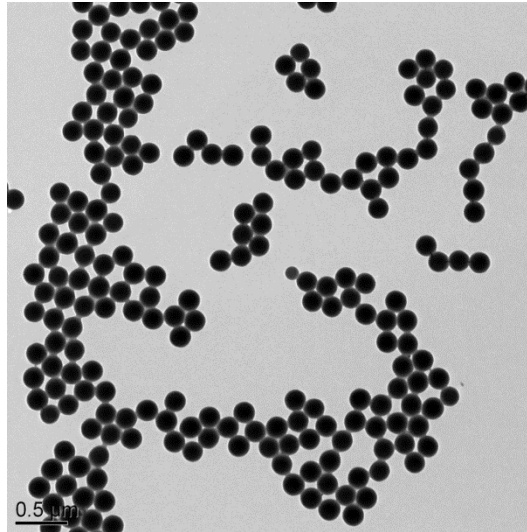


Figura 58: Imagem de microscopia do látex B19exp2.

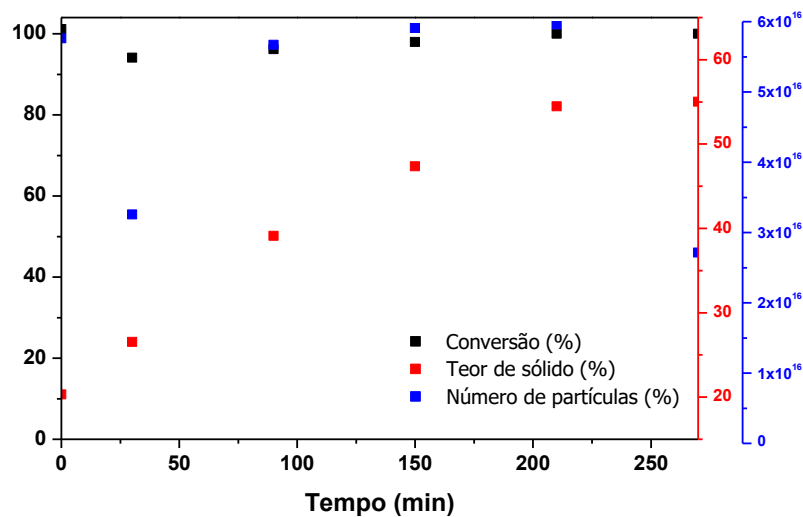


Figura 59: Evolução do número de partículas, conversão e teor de sólidos ao longo do tempo de reação do látex B19 exp2.

V. 4 – Conclusão

Monômeros solúveis em água como o ácido acrílico favorecem a nucleação homogênea, por isso, foi difícil estabilizar o látex durante reação de polimerização em emulsão quando este monômero foi utilizado. Ao retirar o ácido acrílico da composição, foi possível estabilizar o látex, não sendo observada a formação de coágulos.

A adição do sulfato de sódio ao meio de reação aumenta a força iônica do meio que induz o fenômeno de coagulação das partículas. Ao controlar a concentração de sal adicionado é possível controlar tal fenômeno podendo controlar a estabilização do látex. No entanto, as

concentrações de sulfato de sódio testadas não apresentaram nenhuma melhora para a estabilidade do látex.

O tensoativo aniônico favorece a nucleação de partículas pequenas, e assim, influencia o tamanho de partícula. Foi observado que mantendo a concentração de tensoativo não iônico constante, ao aumentar a concentração de tensoativo aniônico o tamanho de partícula diminuiu. Ao retirá-lo da composição houve o aumento significativo do diâmetro de partícula de 85 nm para 357 nm.

Em modo batelada foram obtidos látices estáveis de 10 e 20% de teor de sólido, estes látex foram concentrados em modo semi-batelada a partir da adição de uma pré-emulsão composta de uma mistura de tensoativos e monômeros.

A variação da concentração de tensoativos bem como do fluxo de adição da pré-emulsão não tiveram impactos significativos no aumento do tamanho de partícula.

Os resultados dos testes de viscosidade mostram que a viscosidade dos látex aumenta conforme o mesmo é concentrado, sendo observado um aumento brusco na viscosidade com o teor de sólidos passa de 57% para 60%.

Foi possível obter um látex estável com partículas de morfologia esférica e distribuição de tamanho estreita, com 60% de teor de sólidos e viscosidade abaixo de 1,5 Pa.s a uma taxa de cisalhamento de 20 s⁻¹. No entanto, as tentativas de aumentar a teor acima de 60% foram falhas.

Considerando as informações contidas na revisão bibliográfica, uma alternativa para aumentar o teor de sólidos de um látex, controlando o aumento da viscosidade, é a síntese de látex com duas populações de partículas com diâmetros diferentes. Estudos experimentais e teóricos mostram que a distribuição de tamanho de partícula influencia a viscosidade do látex, por isso, o capítulo seguinte trata da síntese da população de partículas pequenas que irão compor o látex bimodal com elevado teor de sólidos.

V. 5 – Referências Bibliográficas

- (1) Boutti, S.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Polymer* **2005**, *46*, 1189.
- (2) Schneider, M.; Graillat, C.; Guyot, A.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1897.

Capítulo VI: Síntese da população de partículas pequenas

VI. 1 - Introdução

Um dos principais objetivos deste trabalho é sintetizar um látex com teor de sólido acima de 60% e viscosidade abaixo de 1,5 Pa.s com taxa de cisalhamento de 20 s⁻¹. Estudos apresentados na literatura mostram que o aumento do teor de sólido de um látex contribui para o aumento da viscosidade. Uma alternativa para o controle do aumento da viscosidade é a síntese de látex bi- ou trimodal cuja fração de partículas pequenas seja entre 10 e 15% (v/v), de partículas médias entre 0 e 10% (v/v) e partículas grandes entre 75 e 80% (v/v).^{1,2}

Portanto, com o objetivo final de obter um látex bimodal com elevado teor de sólido, este capítulo foca na síntese da população de partículas pequenas, que será obtida via polimerização controlada de acordo com o mecanismo de Transferência Reversível de Cadeia por Adição-Fragmentação (RAFT), que combinada com a técnica polimerização por auto-organização induzida (PISA, do Inglês *Polymerization-Induced Self-Assembly*) possibilita a obtenção de partículas com diâmetro entre 30 e 50 nm.

As nanopartículas são obtidas a partir da síntese de um polímero em bloco realizada em duas etapas. Na primeira etapa a reação de polimerização RAFT do ácido metacrílico é conduzida na presença de ácido 4-ciano-4-thiothiopropylsulfanylpentanoico (CTPPA) como agente RAFT e de ácido 4,4-azobis(4-cianopentanoico) (ACPA) como iniciador, e ao final é obtido um homopolímero de ácido metacrílico (bloco hidrofílico) com massa molar bem definida. Na etapa seguinte, são adicionados ao meio reacional estireno e iniciador (ACPA), para a formação do bloco hidrofóbico. Quando o bloco em crescimento de poliestireno atinge um tamanho crítico, as partículas são nucleadas devido à auto-organização das cadeias do copolímero em bloco sem a necessidade de adicionar tensoativos ao meio reacional. O processo de síntese das partículas é ilustrado na Figura 60.

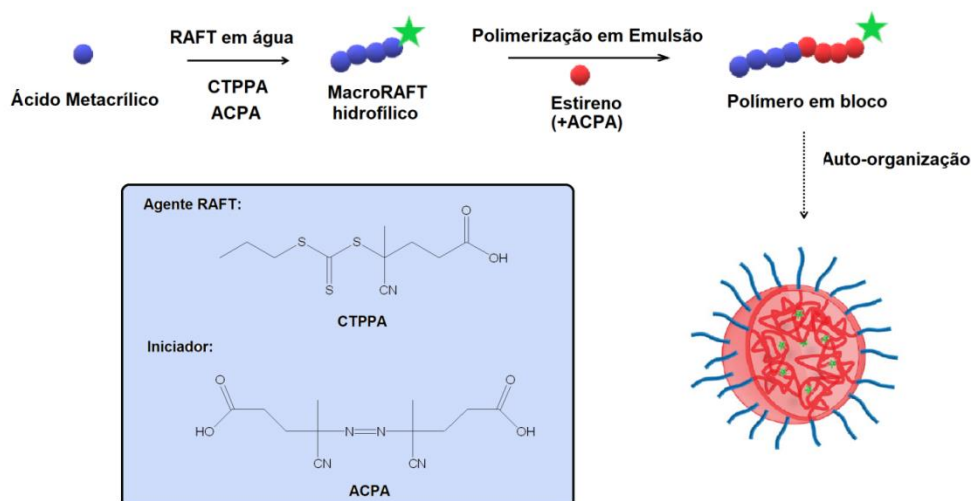


Figura 60: Síntese da população de partículas pequenas por auto-ordenamento das cadeias poliméricas anfifílicas obtidas via polimerização RAFT. Figura adaptada de Chaduc et al.³

VI.2 – Materiais e métodos

VI.2.1 – Reagentes utilizados

Síntese do macroRAFT

Nas reações de síntese do macroRAFT PAM-CTPPA foram usados os seguintes reagentes: ácido metacrílico (AM, Acros, 99.5%), ácido 4,4-azobis(4-cianopentanoico) (ACPA, Aldrich, 98%), ácido 4-ciano-4-thiothiopropylsulfanylpentanoico (CTPPA), 1,3,5-trioxano (Sigma-Aldrich, 99.5%) e água destilada.

Polymerization-Induced Self-Assembly (PISA)

Nas reações em emulsão foram usados os seguintes reagentes: estireno (E, Acros, 99%), 4,4-azobis(ácido 4-cyanopentanoico) (ACPA, Aldrich, >98%), bicarbonato de sódio (NaHCO_3 , Acros, 99%), dimetacrilato etileno glicol (EGD, Aldrich, 98%), e água destilada.

VI.2.2 – Método

Síntese do macroRAFT

Para a síntese do macroRAFT PAM-CTPPA, em balão de três bocas de 50 mL foram adicionados 254 mg do CTPPA ($2,5 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) agente RAFT, 25 mg do ACPA ($2,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) iniciador, numa razão entre o agente RAFT e o iniciador igual a 10, 3,13 g de AM ($0,99 \text{ mol.L}^{-1}$), razão entre o monômero e o agente RAFT foi mantida igual a 40, 36,84 mL de água destilada e 546 mg de 1,3,5-trioxano ($1,65 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$) foi adicionado como uma referência interna para cálculo da conversão por análises de RMN.

Após a desoxigenação por “freeze pump”, procedimento em que o balão contendo o meio reacional é congelado em banho de nitrogênio líquido, em seguida é feito vácuo no interior do balão e depois adicionado argônio, para garantir a formação de uma atmosfera inerte, o balão foi equipado com um condensador e a mistura resultante foi imersa em um banho de óleo aquecido a 80 °C, que corresponde ao tempo zero da reação de polimerização. Ao longo da reação foram retiradas alíquotas de 0,5 mL para avaliar a conversão da reação em função do tempo e a evolução da massa molar e da distribuição de massa molar em função da conversão. O tempo de reação foi de 4,5 horas.

Polimerização por auto-ordenamento induzido (PISA)

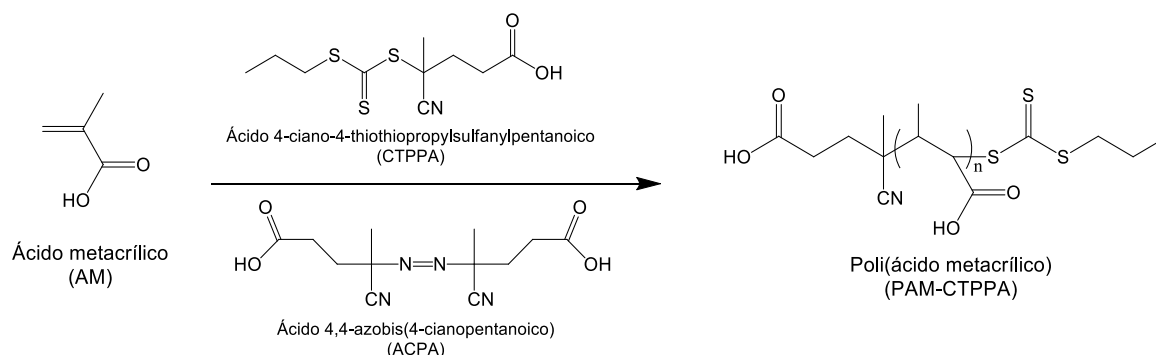
Para as reações PISA em um balão de duas bocas de 100 mL equipado com condensador foram adicionados 30 g de estireno, 33 g da solução de PAM-CTPPA (90 g.mL^{-1}) preparada anteriormente, 90,5 g de água destilada e diferentes massas do reticulante dimetacrilato etileno glicol (EGD), como é mostrado na Tabela 17. A mistura foi desoxigenada borbulhando nitrogênio durante 30 min com o balão imerso em um banho de óleo aquecido a 80 °C. Em seguida 12 g da solução aquosa de ACPA ($2,54 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ neutralizada com 3,5 mol equiv de NaHCO_3) foi adicionada ao meio de reação, correspondendo ao tempo zero de reação. Durante a reação foram retiradas alíquotas para avaliar a conversão e o tamanho de partícula em função do tempo. O tempo de reação foi de 2,5 horas (150 min).

Tabela 16: Receitas das reações de crescimento do bloco hidrofóbico para formação das partículas via PISA.

	PISA 6	PISA 7	PISA 8	PISA 9	PISA 10	PISA 11
Massa (g)						
Estireno	30,19	30,00	30,00	30,02	30,00	30,16
Solução de PAM-CTPPA	33,53	33,13	32,99	33,29	33,03	22,99
Água	90,34	90,36	90,36	90,46	90,35	90,36
EGD	1,17	2,33	1,70	1,16	2,91	1,12
Solução de iniciador	12,14	12,23	11,98	12,05	12,22	12,07
Solução de iniciador (g)						
Água	13,16	13,24	13,17	13,21	13,23	13,19
ACPA	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
NaHCO ₃	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

VI.3 – Resultados e discussões

Para todos os experimentos de síntese do poli(ácido metacrílico) por polimerização RAFT foram utilizadas as mesmas razões entre monômero e agente RAFT, $[AM] / [CTPPA] = 40$, e agente RAFT e iniciador $[CTPPA] / [ACPA] = 10$, pois o objetivo dessas reações foi a obtenção do homopolímero hidrofílico com massa molar definida para a síntese das nanopartículas por PISA na etapa seguinte. Não havendo, portanto, variação nas condições experimentais. No Esquema 4 é apresentada a reação de síntese do MacroRAFT PAM-CTPPA via polimerização RAFT.



Esquema 4: Síntese do MacroRAFT PAM-CTPPA via polimerização RAFT do ácido metacrílico em presença de do agente RAFT CTPPA e do iniciador ACPA.

As conversões molares do monômero na síntese do PAM-CTPPA foram determinadas por análise de RMN ¹H das amostras coletadas ao longo da reação. A conversão foi obtida comparando a diminuição das integrais dos hidrogênios vinílicos do ácido metacrílico (5,65 ppm e 6,05 ppm) em relação aos hidrogênios do trioxano (usado como padrão interno) (5,15 ppm).

Os espectros de RMN ¹H do PAM-CTPPA obtidos ao logo da reação são apresentados na Figura 61, onde é observado a diminuição das integrais dos sinais referentes aos hidrogênios vinílicos do ácido metacrílico ao longo do tempo, indicando que o monômero é consumido durante a reação de polimerização até conversão total de 100%.

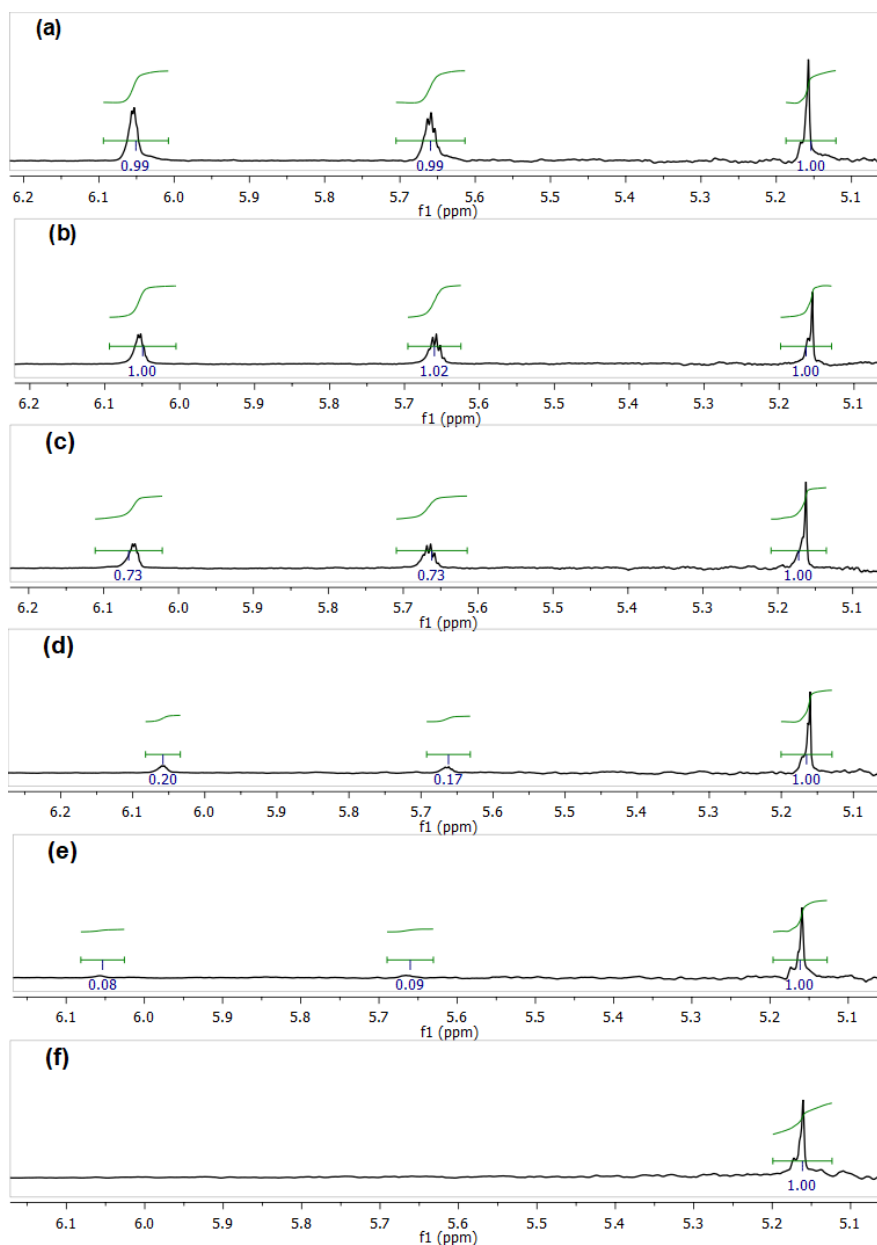


Figura 61: Espectros de RMN ^1H das amostras coletadas nos tempos (a) 0 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min (e) 180 min e (f) 270 min da reação de polimerização RAFT do PAM-CTPPA 6, mostrando a diminuição dos sinais referentes aos hidrogênios vinílicos do ácido metacrílico, que indica o consumo o monômero durante a reação.

A partir dos dados de RMN ^1H foram construídas as curvas de conversão dos macroRAFTs sintetizados apresentadas na Figura 62, onde é possível observar que para todos os experimentos realizados foi obtida conversão total, podendo ser observada a reprodutibilidade do perfil de conversão.

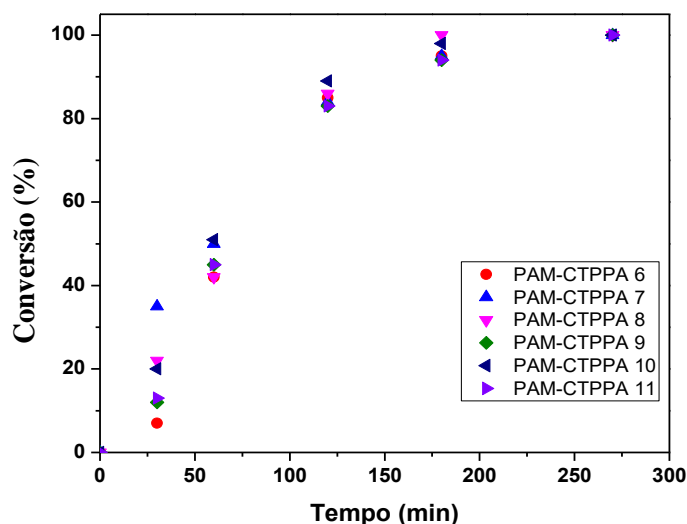


Figura 62 : Perfis de conversão das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs indicando conversão total.

A reação de polimerização RAFT possibilita a obtenção de cadeias poliméricas com massa molar bem definida e baixa dispersão (abaixo de 1,20), e dessa forma os experimentos foram pensados com o objetivo de obter ao final homopolímero com massa molar próximas de 4000 g.mol^{-1} .

Ao comparar os resultados de massas molares obtidos ao longo do tempo com as massas teóricas esperadas para cada experimento (Figura 63) é observado o crescimento linear e bem próximo do teórico para todos os experimentos com dispersão abaixo de 1,2 (Tabela 17), mais uma vez mostrando que os resultados são reproduzíveis.

Tabela 17: Resultados de massas molares e dispersões das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs.

Expt	M_n (teor) (g.mol^{-1})	M_n (exp) (g.mol^{-1})	M_w (exp) (g.mol^{-1})	M_w/M_n
PAM-CTPPA6	4294	4615	5353	1.16
PAM-CTPPA7	4300	3671	4295	1.17
PAM-CTPPA8	4300	4615	5353	1.16
PAM-CTPPA9	4240	4296	5105	1.19
PAM-CTPPA10	4314	4368	5074	1.16
PAM-CTPPA11	4311	4004	4744	1.19

* M_n (teor) – Valor teórico de massa molar média em número, calculado pela equação 7

$$M_{n,teor} = x \cdot \frac{[m]_0}{[RAFT]_0} \cdot M_m + M_{RAFT} \quad \text{Equação 7}$$

onde: x é a conversão em monômero, $[m]_0$ a concentração inicial de monômero, $[RAFT]_0$ concentração inicial de agente RAFT, M_m massa molar do monômero e M_{RAFT} massa molar do agente RAFT.

** M_n exp – Valor de massa molar média em número obtido experimentalmente

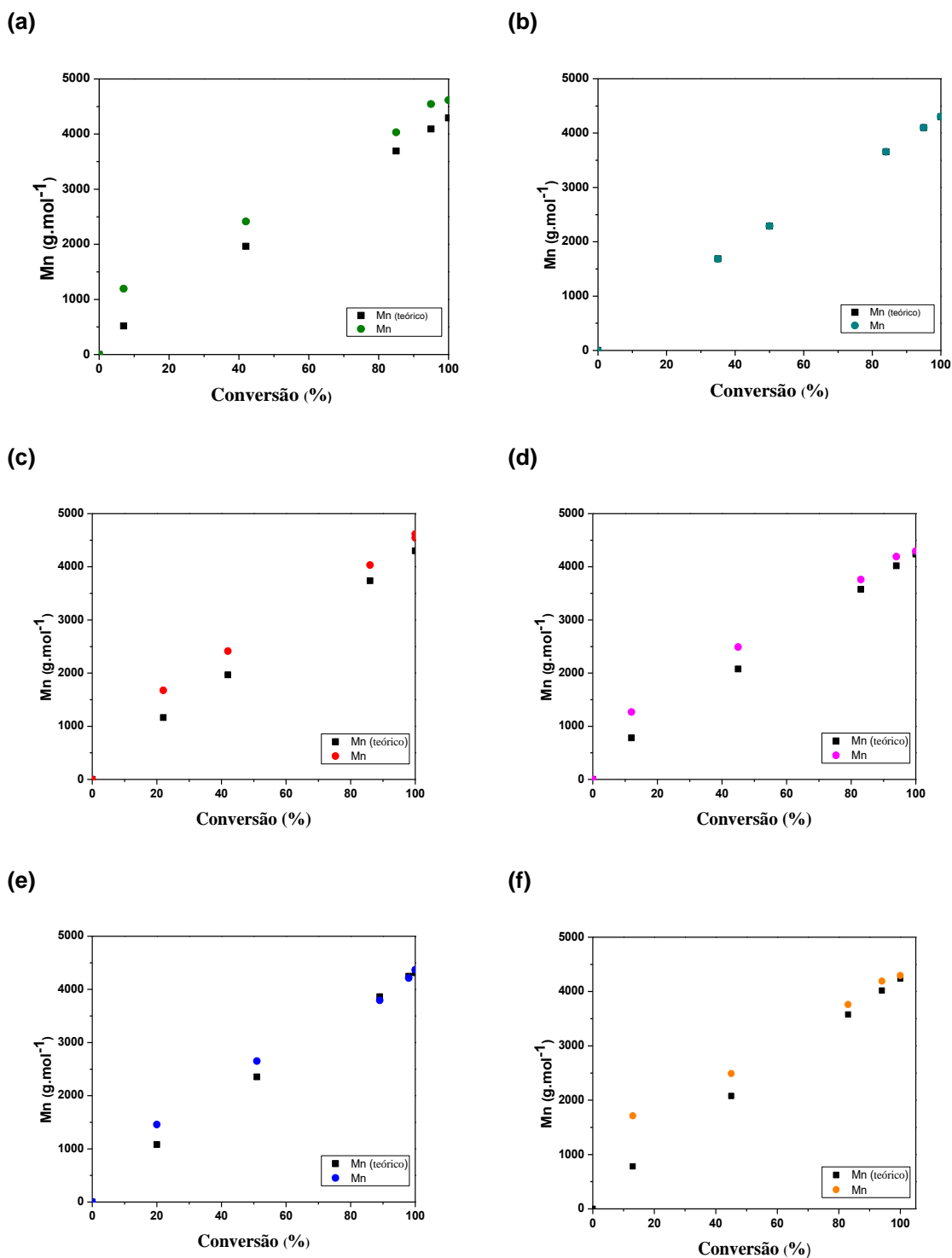


Figura 63: Evolução da massa molar experimental e teórica em função da conversão das reações de polimerização controlada por RAFT do ácido metacrílico para síntese dos macroRAFTs : (a) PAM-CTPPA6, (b) PAM-CTPPA7, (c) PAM-CTPPA8, (d) PAM-CTPPA9, (e) PAM-CTPPA10 e (f) PAM-CTPPA11.

Uma vez que o PAM-CTPPA foi sintetizado e caracterizado deu-se continuidade aos experimentos com o objetivo de obter nanopartículas com diâmetro médio entre 30 e 50 nm via

polimerização em emulsão pelo auto-ordenamento das cadeias poliméricas de copolímeros de blocos anfífilicos bem definidos baseados em ácido metacrílico e estireno.

Para o crescimento do bloco hidrofóbico foram adicionados ao meio reacional contendo o macroRAFT PAM-CTPPA, sintetizado previamente, estireno, ACPA e o agente de reticulação EGD. As proporções entre estireno e ACPA foram mantidas as mesmas para todos os experimentos, sendo variadas apenas as concentrações de EGD.

Ao analisar a Figura 64 que apresenta os resultados de conversão medidos por termogravimetria, é possível observar que as reações apresentam um tempo de indução de 30 min a partir do qual a velocidade de reação aumenta bruscamente atingindo conversão total após 90 min de reação.

O período de indução corresponde ao tempo necessário para que bloco de poliestireno atinja um tamanho de cadeia crítica que conduz ao auto-ordenamento das cadeias formando as partículas. Após a nucleação, as partículas são inchadas com o estireno residual e a polimerização passa a acontecer agora no interior destas partículas, o que resulta o aumento brusco da velocidade de reação.

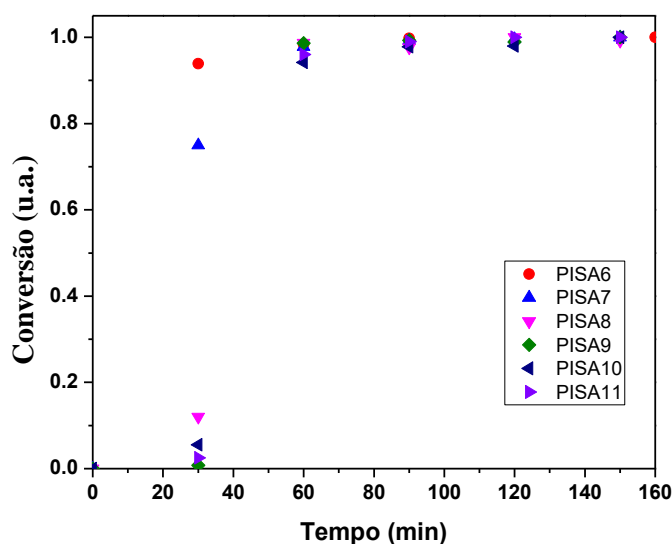


Figura 64: Perfis de conversão das reações de polimerização em emulsão auto-ordenadas pelo copolímero anfífilico formado a partir do ácido metacrílico e do estireno.

Como as partículas sintetizadas nesta etapa serão usadas na síntese do látex com alto teor de sólido era importante que estas fossem reticuladas para não sofrerem alteração na morfologia e tamanho de partícula nas etapas seguintes, por esse motivo, a fim de avaliar qual seria a melhor concentração de reticulante, foi realizada uma série de experimentos com diferentes concentrações de dimetacrilato etileno glicol (EGD), conforme mostrado na Tabela 18.

Tabela 18: Composição do agente reticulante dimetacrilato etileno glicol (EGD) nas reações *Polymerization-Induced Self-Assembly*.

Expt	EGD		(mol Sty) / (mol EGD)
	(g)	(mol)	
PISA6	1,17	$5,89 \times 10^{-3}$	49,2
PISA9	1,16	$5,87 \times 10^{-3}$	49,1
PISA8	1,70	$8,59 \times 10^{-3}$	33,5
PISA7	2,33	$1,18 \times 10^{-2}$	24,5
PISA10	2,91	$1,47 \times 10^{-2}$	19,6
PISA11	1,12	$5,65 \times 10^{-3}$	51,27

Ao observar as imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras PISA 10 (Figura 65e), PISA 7 (Figura 65b), PISA 8 (Figura 65c) e PISA 9 (Figura 65d) é possível perceber a influência da concentração do EGD na morfologia e no tamanho das partículas. Conforme a razão do número de mol de estireno pelo número de mol do EGD diminui, ou seja, a concentração de reticulante aumenta, a instabilidade do meio também aumenta, resultando na formação de partículas com morfologia irregular e um aumento significativo do diâmetro de partícula.

Na Tabela 19 são apresentados os dados de tamanho de partícula medidos pela técnica de Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS). Para PISA 9, material com menor concentração de EGD foi observado um diâmetro médio de 33 nm, conforme a concentração de reticulante aumenta, o diâmetro também aumenta, 53 nm para PISA 8, 78 nm para PISA 7 e 97 nm para PISA 10, material com maior concentração de EGD.

Por outro lado, o aumento da concentração de reticulante influencia a habilidade de inchamento das partículas poliméricas, quanto maior a concentração, menor é a razão entre o diâmetro da partícula em THF e em água. Por se tratar de uma material reticulado, não foi possível realizar as análises de GPC para avaliar as massas molares destes polímeros.

Tabela 19: Resultados da polimerização por auto-ordenamento induzido.

	Diâmetro em água (nm)	Diâmetro em THF (nm)	THF/água	(mol Sty)/(mol EGD)
PISA6	34	87	2.6	49.2
PISA9	33	94	2.8	49.1
PISA8	53	108	2.0	33.5
PISA7	78	127	1.6	24.5
PISA10	97	149	1.5	19.6

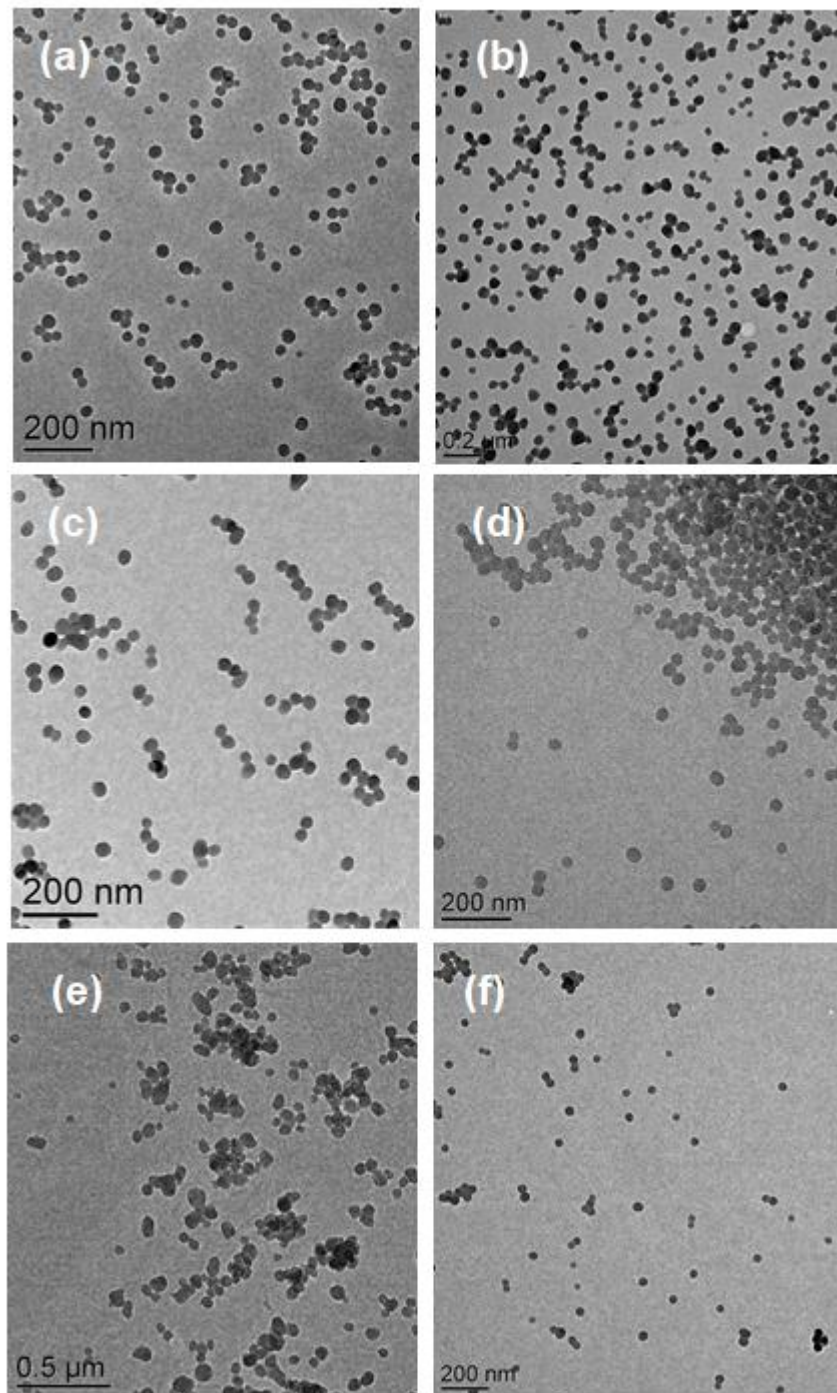


Figura 65 : Imagens de microscopia eletrônica dos látexes (a) PISA6, (b) PISA7, (c) PISA8, (d) PISA9, (e) PISA10.

VI. 4 – Conclusão

Neste capítulo a população de partículas pequenas, que posteriormente será utilizada para a síntese de látex bimodal com elevado teor de sólido, foi obtida via polimerização controlada por RAFT em duas etapas.

Na primeira etapa, foi sintetizado um homopolímero de ácido metacrílico, que foi chamado de macroRAFT PAM-CTPPA. As cadeias poliméricas apresentaram massa molar próxima de 4000 g.mol^{-1} e dispersão abaixo de 1,2. O valor baixo de dispersão e o crescimento

linear das cadeias poliméricas indicam que a reação de polimerização ocorreu de forma controlada. Os resultados obtidos durante as reações de síntese sugerem que a metodologia utilizada é reprodutiva.

Na segunda etapa, foi adicionado ao meio reacional estireno que induziu o crescimento de um bloco hidrofóbico, obtendo-se assim polímero em blocos com característica anfifílica. Devido à característica anfifílica da cadeia polimérica, as partículas foram nucleadas a partir da auto-organização das cadeias sem a necessidade de adicionar tensioativos.

Foi observado que a morfologia e o tamanho das partículas são influenciados pela concentração de agente reticulante adicionada à formulação. Aumentando a concentração de agente de reticulação foram observados os aumentos do tamanho de partícula e da irregularidade da morfologia.

A morfologia e tamanho de partícula são característica importantes para a síntese de látex com elevado teor de sólido, partículas irregulares sugerem instabilidade do meio reacional, que é indesejável, e para que a viscosidade de látex concentrado seja mantida baixa, a população de partículas pequenas deve ser de 4 a 8 vezes menos que a população de partículas grandes.

Uma vez que, o objetivo do capítulo seguinte é obter um látex bimodal com elevado teor de sólido, cujas partículas grandes apresentem diâmetro médio de 300 nm, os látices PISA 6 e PISA 9 serão usados nas reações de polimerização em semi-batelada para compor a fração referente à população de partículas pequenas. Estes látices foram preparados utilizando a menor concentração de reticulante testada – $(\text{mol Sty})/(\text{mol EGD}) = 49$ – pois foi a receita que permitiu obter partículas mais estáveis, com morfologia esférica e diâmetro próximos de 30 nm.

VI. 5 – Referências Bibliográficas

- (1) Schneider, M.; Claverie, J.; Graillat, C.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1878.
- (2) Pishvaei, M.; Graillat, C.; McKenna, T. F.; Cassagnau, P. *Journal of Rheology* **2007**, *51*, 51.
- (3) Chaduc, I.; Girod, M.; Antoine, R.; Charleux, B.; D'Agosto, F.; Lansalot, M. *Macromolecules* **2012**, *45*, 5881.

Capítulo VII: Látex com duas populações de partículas

VII.1 – Introdução

Para látex com teor de sólido de até 20 vol%, a viscosidade é calculada pela equação de Einstein, onde a principal contribuição é a viscosidade da fase contínua. No entanto, conforme o teor de sólido do látex aumenta, a distância entre as partículas é reduzida e a atração entre elas aumenta e passa a contribuir para o aumento da viscosidade.¹

Além do teor de sólidos a distribuição de tamanho de partícula também influencia a viscosidade, quanto o diâmetro diminui, a área superficial efetiva é maior e a atração entre as partículas também será maior.²

A alternativa para obter látex com teor de sólido acima de 60 vol% é a adição de uma segunda população de partículas cuja razão dos diâmetros das partículas grandes e partículas pequenas deve estar entre 4 e 8. Nesta faixa, as partículas pequenas ocupam os interstícios vazios entre as partículas grandes e aumentam o teor de sólido.

Assim, este capítulo tem o foco na síntese de látex bimodal com teor de sólido acima de 60 vol% com o diâmetro médio das partículas grandes próximo de 300 nm e das partículas pequenas próximo de 50 nm, garantindo que a razão entre eles seja 6, no intuito de manter a viscosidade abaixo de 1,5 Pa.s a uma taxa de cisalhamento de 20 s⁻¹.

O látex é obtido em processo semi-batelada adicionando-se uma pré-emulsão – preparada a partir do látex de partículas pequenas sintetizadas no Capítulo 5, dos monômeros metacrilato de metila e estireno e uma mistura dos tensoativos não-iônico e iônico – ao látex concentrado obtido no Capítulo 4.

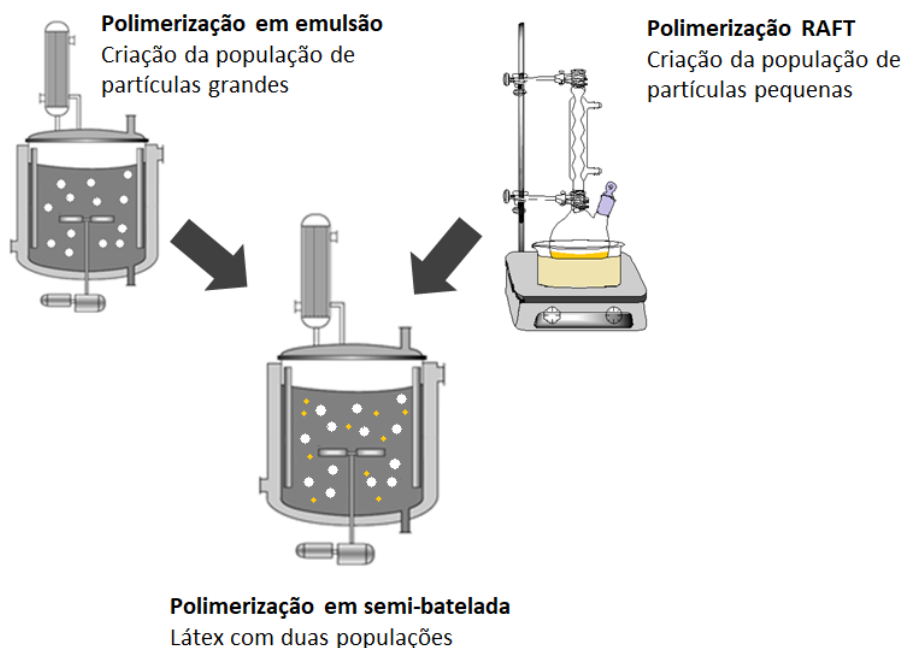


Figura 66: Ilustração do modo preparo do látex com duas populações via polimerização em emulsão em modo batelada a partir dos látexes de partículas grandes e partículas pequenas.

VII.2 – Materiais e métodos

VII.2.1 – Reagentes utilizados

Para a síntese dos látices com duas populações foram utilizados os seguintes reagentes: metacrilato de metila (MMA, Aldrich, 99%), estireno (Sty, Acros, 99%), tensoativo aniônico (TA, Disponil FES3IS: ácido graxo ethoxylato com grupo sulfonato), tensoativo não-iônico (TN, Disponil A3065: ácido graxo ethoxylato com grupo álcool), persulfato de amônio (APS, Aldrich, 98%) como iniciador e água destilada.

VII.2.2 – Método

Para síntese dos látices com duas populações de partículas em modo semi-batelada foi utilizado um reator de vidro encamisado de 500 mL, onde foi adicionado o látex obtido na etapa de crescimento das partículas com teor de sólido entre 55 e 57%. Com o auxílio de duas bombas seringas, foram adicionadas ao reator uma solução de APS e uma pré-emulsão formada pela mistura de monômeros (MMA e Sty), TA, TN e o látex de partículas pequenas obtido no Capítulo V. A composição da pré-emulsão e da solução de iniciador é apresentada na Tabela 20.

Ao longo da reação foram retiradas alíquotas para avaliar a evolução da conversão, teor de sólidos, viscosidade e o tamanho de partícula em função do tempo.

Tabela 20: Receitas das reações de polimerização em semi-batelada para obtenção de látex com duas populações utilizando como carga inicial do reator o látex B18 exp1.

	B18exp1- R1	B18exp1- R2	B18exp1- R3	B18exp1- R4	B18exp1- R5
Semi-batela primeira população					
Latex	B18exp1	B18exp1	B18exp1	B18exp1	B18exp1
m_{latex} (g)	72,88	72,54	72,46	72,46	72,84
Semi-batela segunda população					
Composição da pré-emulsão					
PISA (g)	P9	P9	P9	P9	P9
m_{PISA} (g)	29,43	29,43	32,95	29,41	23,56
Água (g)	-	1,77	4,54	7,08	4,52
MMA (g)	24,27	24,27	27,16	24,28	19,43
Sty (g)	22,08	22,08	24,72	22,06	17,64
TA* (g)	0,92	0,92	1,05	0,93	0,75
TN* (g)	0,88	0,88	0,98	0,88	0,71
Fluxo de adição da pré-emulsão (g/h)	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Massa adicionada	11,05	22,55	38,94	56,13	45,39
Solução de iniciador					
Água (g)	8,90	8,90	8,90	8,86	6,76
APS (g)	1,32	1,32	1,32	1,31	1,04
Fluxo de adição do iniciador (g/h)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30

*Massa ativa

VII.3 – Resultados e discussões

Para avaliar a influência da adição da segunda população de partículas nas propriedades de látex foram realizados os experimentos de B18exp1-R1 à B18exp1-R5, cujas condições experimentais foram apresentadas na Tabela 21. O reator foi alimentado inicialmente com o látex B18exp1, obtido em etapa anterior, cuja síntese é apresentada no Capítulo IV deste trabalho. O látex era constituído por partículas monodispersas com diâmetro médio de 242 nm e teor de sólido de 57%.

Diferentes massas de uma pré-emulsão preparada a partir da mistura do látex de partículas pequenas sintetizadas via PISA – dados experimentais apresentados no capítulo V deste trabalho – monômeros e tensioativos foram adicionadas com o objetivo de obter látices com frações diferentes das populações de partículas grande e pequenas.

As imagens de microscopia eletrônica dos látices contendo duas populações são apresentadas na Figura 67, onde são observadas nitidamente as duas populações. A imagem do látex B18exp1-R4 não foi apresentada, pois o látex não era estável e coagulou ao final da adição da pré-emulsão.

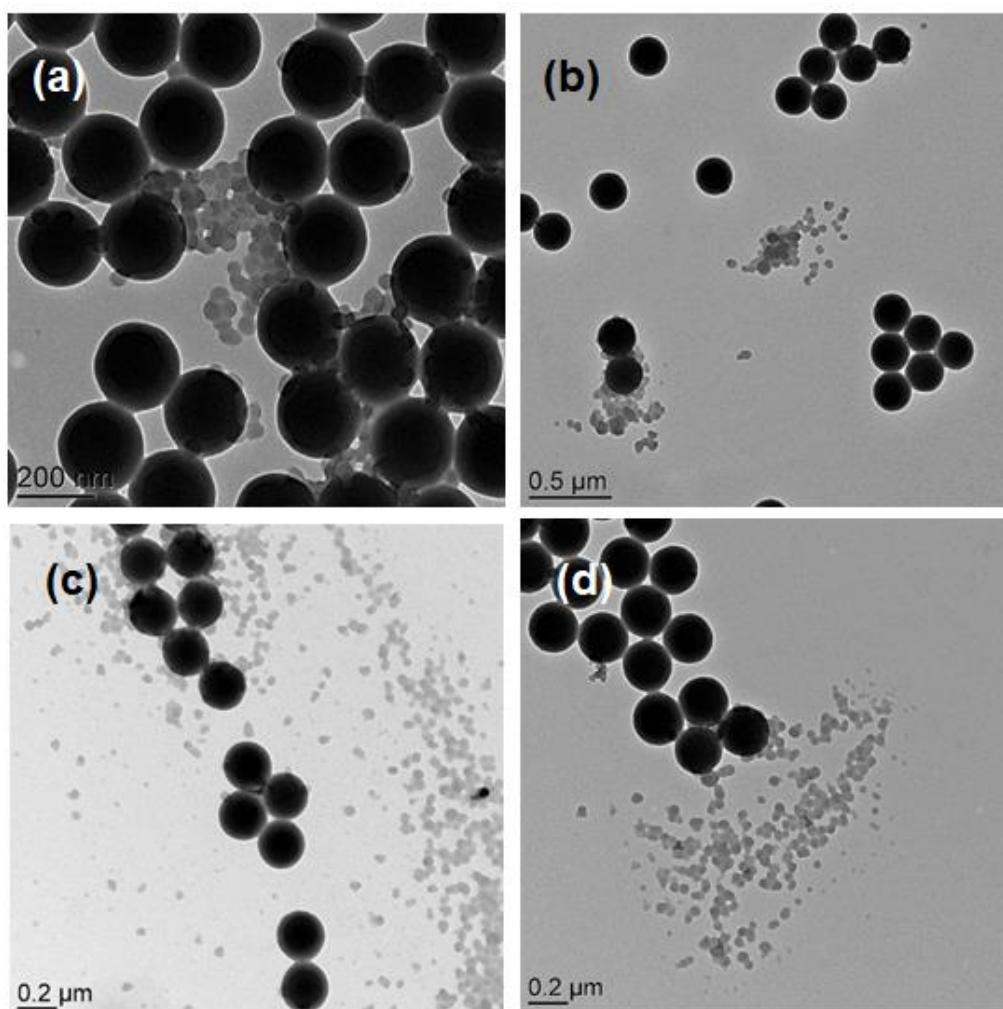


Figura 67: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos látices com duas populações de partículas: (a) B18 exp1-R1 ; (b) B18 exp1-R2; (c) B18 exp1-R3 e (d) B18 exp1-R5.

A viscosidade de um látex com duas populações de partículas é influenciada pela proporção entre a população de partículas pequenas e partículas grandes, como relatado na literatura, sendo ideal que a fração de partículas pequenas seja de 15% em volume.

A distribuição de tamanho de partícula, que determina a fração das duas populações é determinada por análise de espalhamento de luz com limites de detecção entre 0.01 μm e 3500 μm . Dessa forma, teoricamente não seria um problema analisar as amostras obtidas, uma vez que os diâmetros das partículas estão entre 38 e 258 nm como é observado na Tabela 21.

Tabela 21: Diâmetros médios das partículas dos látices bipolares sintetizados.

	Látex	Diâmetro médio (nm)	
		População pequena	População grande
Partículas pequenas	PISA 9	38	
Partículas grandes	B18 exp1		242
Látex com duas populações	B18 exp1-R1	48	242
	B18 exp1-R2	49	241
	B18 exp1-R3	47	258
	B18 exp1-R5	46	247

No entanto, na prática, não foi possível determinar a distribuição de tamanho das partículas pelos resultados obtidos. O equipamento não foi capaz de detectar e diferenciar as duas populações, por esse motivo, não foi possível determinar as frações de cada população.

Na Figura 68 são apresentados os resultados de viscosidade dos látices sintetizados, onde percebe-se a variação da viscosidade de acordo com a adição da segunda população de partículas. Entretanto, como o teor de sólidos não é o mesmo para todos os látices não se pode fazer uma análise direta entre a composição e a viscosidade destes materiais.

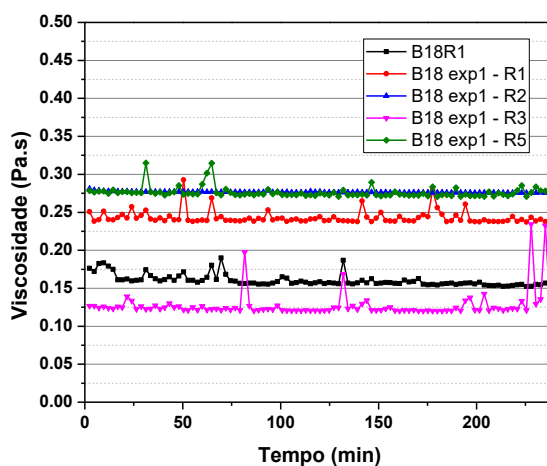


Figura 68: Resultados das análises de viscosidade dos látices com duas populações de partículas.

Porém, ao analisar apenas os látices que apresentam o mesmo teor de sólido, como é o caso dos resultados apresentados na Figura 69, em que todos os látices possuem 60% de teor de sólidos, é possível observar que a adição da segunda população reduz a viscosidade do látex.

O látex B16exp2 – sintetizado no Capítulo V – formado por uma população de partículas monodispersas com diâmetro médio de 266 nm possui viscosidade de aproximadamente 0,35 Pa.s, já os látices B18exp1-R1 e B18exp2-R5 são formados por duas populações de partículas, uma população com diâmetro médio próximo de 240 nm e outra população com o diâmetro médio próximo de 40 nm, e ambos apresentam um valor de viscosidade mais baixo, igual a 0,27 Pa.s.

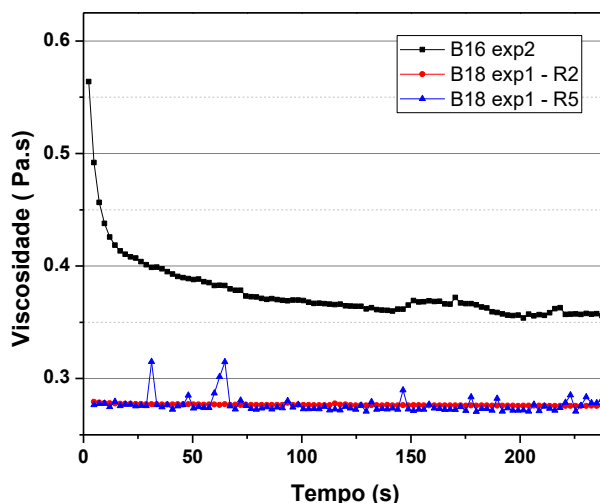


Figura 69: Resultados das análises de viscosidade dos látices contendo 60% de teor de sólido mostrando que a viscosidade dos látices contendo duas populações de partículas com tamanhos diferentes é menor que a viscosidade do látex monodisperso de mesmo teor de sólido.

Com o objetivo de obter latex com teor de sólido acima de 60% foram preparados os experimentos B18exp3-R1 e B18exp3-R3. O procedimento foi o mesmo utilizado nos experimentos anteriores, porém, o reator foi alimentado inicialmente com o látex contendo 60% de teor de sólido, o látex B18exp3 que foi preparado no capítulo IV. No entanto, o meio desestabilizou formando coágulos dentro do reator que impediram a continuidade da reação.

No preparo dos experimentos, foi observado que mesmo fora do meio reacional, ao misturar a solução de APS e o látex das partículas pequenas – preparadas por PISA – o látex coagulava.

As partículas pequenas foram preparadas sem a adição de tensoativos (Capítulo V), por esse motivo, a estabilização do látex ocorre por ação das cadeias anfífilas formada na polimerização RAFT em bloco do ácido metacrílico e do estireno. O pH dos látices e do meio de reação foi medido com o auxílio de um pHmetro e foi observado um pH ácido igual a 2,2.

Neste pH, as cadeias de poli(ácido metacrílico) estão protonadas e enoveladas reduzindo a sua capacidade de estabilização das partículas. Ao adicionar o iniciador persulfato de amônio, que é um sal, a força iônica do meio aumenta gerando um defeito de estabilização e induzindo a coagulação das partículas.

Dessa forma, como estratégia para aumentar a estabilidade os látices, os látices foram neutralizados por meio da adição de uma solução de hidróxido de sódio. Ao neutralizar o meio as cadeias de poli(ácido metacrílico) desprotonam e assumem uma conformação estendida melhorando a estabilidade do látex.

Assim, foi preparado o experimento B19exp2-R1 utilizando como carga inicial o látex B19exp2 com teor de sólido de 55%, cujo pH foi ajustado de 2,2 para 7,7 adicionando uma solução 1N de hidróxido de sódio. O pH do látex contendo as partículas pequenas também foi ajustado de 4,8 para 7,7.

Ao final da reação, foi obtido um látex com 57% de teor de sólido, por isso, um segunda pré-emulsão foi preparada e adicionada, a fim de elevar o teor de sólido, que ficou em 58% após a adição. Não foi um acréscimo significativo e, por isso, a metodologia foi revista.

Reavaliando as composições das pré-emulsões preparadas percebeu-se que da forma que estas foram formuladas o teor de sólido não poderia ser maior que 58% e, por esse motivo, precisavam ser corrigidas.

O experimento B18 exp3-R3 foi preparado a partir do látex B18 exp3 que foi preparado com um teor de sólidos de 60%. O procedimento de neutralização dos látices foi o mesmo adotado no experimento anterior e ao final da adição da pré-emulsão foi obtido um látex com teor de sólido de 63%.

VII. 4 – Conclusão

Látices com duas populações de partículas foram sintetizados via polimerização em emulsão em processo de semi-batelada, onde o reator contendo o látex de partículas grandes foi alimentado com uma pré-emulsão contendo as partículas pequenas obtidas via polimerização RAFT.

Para um mesmo teor de sólido, a viscosidade do látex monomodal é maior que a dos látices bimodais, dessa forma, a distribuição de tamanho das partículas influencia a viscosidade do látex.

A força iônica do meio reacional influencia a estabilidade do látex e pode induzir a coagulação das partículas, principalmente se o látex for obtido sem adição de tensoativos.

A estabilidade do látex obtido a partir do ácido metacrílico depende do pH do meio e é favorecida pelo aumento do pH.

A partir de 60%vol o principal desafio para aumentar o teor de sólido é manter o látex estável, sem a formação de coágulos.

Foi possível sintetizar um látex bimodal com teor de sólidos de 63%vol a partir de um látex de partículas grandes com teor de sólido de 60%vol e um látex de partículas pequenas com teor de sólido de 20%vol ajustando o pH dos látex para 7,7, valor acima do pKa do ácido metacrílico.

VII. 5 – Referências Bibliográficas

(1) Schneider, M.; Graillat, C.; Guyot, A.; Betremieux, I.; McKenna, T. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2002**, *84*, 1935.

(2) Udagama, R.; McKenna, T. F. L. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, 115, 2668.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Capítulo III foram avaliadas as atividades fungicidas dos OEs de *C. officinalis* e *R. officinalis* para espécies do fungo *Candida* e os resultados mostraram que estes fungos são mais sensíveis ao OE de *R. officinalis* do que ao OE de *C. officinalis*, sendo que as CIMs do OE de *R. officinalis* ficaram entre 2,25 mg.mL⁻¹ e 4,50 mg.mL⁻¹ dependendo do fungo testado. Por esse motivo o OE de *R. officinalis* apresentou maior potencial para inibir a proliferação de fungos em formulações de tintas e esmaltes.

O estudo de encapsulamento dos OEs apresentado no Capítulo IV revela que o encapsulamento do OE de *C. officinalis* utilizando um iniciador radicalar não é a metodologia mais adequada, pois o OE oxida perdendo a sua atividade antioxidante, a principal atividade de interesse da indústria de cosmético que utiliza este OE na formulação de cremes. Porém, o encapsulamento do OE de *R. officinalis* via polimerização em suspensão apresentou eficiência acima de 80% e os testes com fungos da espécie *Candida* revelam que o material encapsulado apresenta atividade fungicida.

Apesar da possibilidade de controlar o tamanho de partícula por meio da velocidade de agitação e concentração de PVA, como discutido na revisão bibliográfica apresentada no Capítulo I, o processo de polimerização mais indicado para a produção de materiais de cobertura à base de água, como tintas, é o processo de polimerização em emulsão.

No Capítulo V foi estudado o processo de polimerização em emulsão para a síntese de látex com elevado teor de sólido. Ajustando as concentrações de tensioativos aniônico e não iônico e o processo em batelada e semi-batelada foi obtido látex com teor de sólido de 60%vol, diâmetro médio próximo de 300 nm e viscosidade de 0,4 Pa.s à uma taxa de cisalhamento de 20 s⁻¹.

Sintetizando látex monomodal não foi possível aumentar o teor de sólido acima de 60%vol devido à formação de coágulos que impediam a continuidade da reação. Baseando nos trabalhos apresentados na revisão bibliográfica a síntese de látices bipolares foi uma alternativa para elevar o teor de sólido do látex.

No Capítulo VI foram apresentados os experimentos para síntese da população de partículas pequenas. Via polimerização RAFT, polímeros em blocos anfífilos foram sintetizados e dividido o auto-ordenamento das cadeias poliméricas, nanopartículas foram obtidas sem a necessidade de adicionar tensioativos ao meio reacional.

A síntese dos látices com duas populações foi apresentada no Capítulo VII. A síntese dos látices com duas populações é confirmada pelas imagens de microscopia que mostram partículas com diâmetros diferentes. Foi observado que para o mesmo teor de sólido os látices bipolares apresentaram viscosidade menor que o látex monomodal. A variação da força iônica do meio de reação devido a adição do iniciador levou à desestabilização do látex de partículas pequenas, com a formação de coágulos no reator que interrompiam a reação. Entretanto, o aumento do pH dos látices contribuiu para a estabilização e possibilitou a obtenção de látex com duas populações com teor de sólido de 63%vol.

Como perspectiva para trabalhos futuros pretende-se encapsular o OE de *R. officinalis* via polimerização RAFT, devido ao auto-ordenamento das cadeias poliméricas anfífilas. Dessa forma o OE seria encapsulado pela população de partículas pequenas, a ser utilizada na síntese do látex bipopular com elevado teor de sólidos.

Essa estratégia de encapsulamento dispensa o uso de agente de suspensão, como o PVA, ou outros tensoativos, o iniciador utilizado não é o PBO e por se tratar de uma polimerização viva o estireno é totalmente consumido ao final da reação, fatores que possibilitam a avaliação da atividade antifúngica dos materiais encapsulados sem a interferência destes compostos na análise.