

## APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA NA PRODUÇÃO DE ESPUMAS DE PLA E IMPREGNAÇÃO DE CETOPROFENO VISANDO À LIBERAÇÃO CONTROLADA DO FÁRMACO

Vitor Massami Barroso Hirashima<sup>1</sup>, Gabriel Assis de Azevedo<sup>1</sup>, Paulo de Tarso Vieira e Rosa<sup>2</sup>, Ana Rita Morales<sup>1\*</sup>

1) Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos (DEMBio), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Av. Albert Einstein 500, Campinas, SP, 13083-852, Brasil

2) Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Rua Josué de Castro, s/n – Cidade Universitária, Campinas – SP, 13083-970, Brasil

[\\*morales@unicamp.br](mailto:*morales@unicamp.br)

**Recibido: Enero de 2024 Aceptado: Marzo de 2024**

### RESUMO

O processo de expansão pela utilização do dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>) foi estudado para a produção de espumas de poli(ácido láctico) (PLA) e para a impregnação do fármaco cetoprofeno. A influência das condições do processo de expansão nas características das estruturas produzidas foi investigada. O estudo foi suportado por análise estatística. As variáveis de processo – temperatura e pressão nas condições supercríticas do CO<sub>2</sub> – foram consideradas e como resposta foram avaliadas a densidade e porosidade da espuma, bem como seus efeitos na cristalinidade do PLA. O teste de liberação controlada do cetoprofeno apresentou curvas de liberação em três fases, sendo a primeira correspondente a uma rápida liberação, a segunda mais lenta e a terceira apresentando um novo pico de liberação fortemente influenciado pela hidrólise do PLA. As condições de pressão mais elevadas causaram maior porcentagem de cetoprofeno impregnado devido ao aumento da solubilidade do cetoprofeno em scCO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, as taxas de liberação foram mais altas. O presente estudo possibilitou encontrar condições favoráveis para produção de espumas de PLA por meio do scCO<sub>2</sub> e permitiu investigar o comportamento das espumas de PLA submetidas a impregnação de cetoprofeno, obtendo dados sobre a carga de fármaco resultante e o perfil de liberação.

**Palavras-chave:** poli(ácido láctico); cetoprofeno; produção de espumas; scaffolds; impregnação com fármacos;

### ABSTRACT

Supercritical carbon dioxide (scCO<sub>2</sub>) PLA foaming and scCO<sub>2</sub> drug (ketoprofen) impregnation were studied in this work. The influence of the process conditions on the characteristics of the produced structures were investigated. The study was supported by statistical analysis. The process variables – temperature and pressure in supercritical conditions – were considered, evaluating its response on PLA foam porosity, density and crystallinity. The controlled drug release test for ketoprofen presented a three-phased release profile, which the first phase corresponds to a burst release, with a slower release in the second phase and another fast release in the third phase, strongly influenced by PLA hydrolysis. Higher pressure conditions caused a higher percentage of impregnated ketoprofen due to the increased solubility of ketoprofen in scCO<sub>2</sub> and, consequently, the release rates were higher. The present study provided information for achieving suitable conditions for PLA foaming by scCO<sub>2</sub> and allowed the investigation of PLA foam behavior undergone by ketoprofen impregnation, obtaining drug loading and release profile data.

**Keywords:** polylactic acid; ketoprofen; foaming; scaffolds; drug impregnation.

## 1. INTRODUÇÃO

As espumas poliméricas são materiais de considerável relevância, devido principalmente às suas propriedades mecânicas e térmicas, e baixa densidade que viabilizam seu emprego para isolamento térmico e sonoro, embalagem de materiais, peças automotivas, materiais esportivos e aplicações biomédicas no transporte de fármacos e engenharia tecidual) [1–3].

O emprego de fluidos supercríticos, em especial o dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>), tem adquirido um crescente interesse diante da busca por alternativas mais sustentáveis de produção. O scCO<sub>2</sub> se tornou uma opção relevante para os processos poliméricos em geral, decorrente de suas vantagens que favorecem tanto ambientalmente, quanto ao próprio processo. O CO<sub>2</sub> é um componente quimicamente inerte, cuja temperatura crítica é 31,1 °C e pressão crítica igual a 7,38 MPa, com alta taxa de difusão, desprovido de toxicidade e sem inflamabilidade [4]. A literatura apresenta uma diversidade de trabalhos relacionados com o emprego de polímeros biodegradáveis para a produção de espumas utilizando a técnica em meio ao scCO<sub>2</sub>. Corre et al. (2011) [5] realizaram o estudo de espumas de poli(ácido láctico) (PLA) modificado com agentes extensores de cadeia empregando o scCO<sub>2</sub> visando alterar as propriedades reológicas do PLA de forma a ampliar a faixa de temperatura para o processo. Como resultado, o trabalho sucedeu na produção de espumas em diferentes escalas ao modificar as condições de temperatura e pressão e adicionalmente, coletou informações relevantes sobre os impactos resultantes destas condições em outras propriedades, como por exemplo, a cristalização do polímero. A variação da pressão resultou em comportamentos diferentes da cristalinidade do material para as amostras de PLA testada. O aumento do tempo de estabilização do processo demonstrou aumento da cristalinidade do material e as imagens observadas pela microscopia eletrônica de varredura indicaram que a estrutura celular encontrada foi se tornando cada vez mais fina com aumento da cristalinidade. Gong et al. (2018) [6] produziram espumas de PLA empregando scCO<sub>2</sub> visando à sua aplicação na área de materiais para isolamento térmico. O estudo relatou a importância do fenômeno de cristalização na formação da matriz polimérica, de modo a relacionar esta propriedade com as condições de pressão do scCO<sub>2</sub> estabelecido, que afeta consequentemente a taxa de expansão durante o processo de formação da espuma. Os autores apontam que a taxa de expansão está fortemente vinculada com a eficiência de absorção de radiação infravermelho, fator importante para avaliar a capacidade de condutividade térmica do material. Desse modo, o trabalho concluiu que a produção de espumas de PLA com maiores taxas de expansão resulta na diminuição da condutividade térmica total do material, possuindo uma eficiência equiparável às espumas de poliestireno (PS), composto recorrentemente utilizado para a finalidade de isolamento térmico.

A aplicação dos polímeros biodegradáveis no campo biomédico já é bem estabelecida, utilizando como insumos para produção de suturas, implantes reabsorvíveis e sistemas para transporte de fármacos. Além disso, são promissores para aplicação em engenharia tecidual para produção de scaffolds [7–10].

A utilização de scaffolds de polímeros biodegradáveis para engenharia tecidual, em especial, tem gerado bastante interesse, visto os seus benefícios para esta área. Estas estruturas, por serem biodegradáveis e biocompatíveis, evitam a ocorrência de rejeição pelo organismo, que possivelmente

poderiam causar reações inflamatórias ou citotoxicidade, trazendo condições prejudiciais para o indivíduo. Assim, uma possível aplicação deste material estaria destinada ao restabelecimento da funcionalidade de órgãos, proporcionando possivelmente uma alternativa para o transplante de órgãos, que possui uma alta demanda e carece frequentemente de doadores disponíveis [11].

Com relação às espumas poliméricas empregadas como scaffolds, existem propriedades físicas de grande importância a serem consideradas na sua concepção. A área superficial deve ser grande para que possibilite a aderência das células na estrutura, além de que deve possuir alta porosidade e seus poros devem ser grandes e apresentar interconexão entre os poros para garantir o fluxo dos nutrientes que serão fornecidos para as células [11]. Chen et al. (2015) [12] produziram scaffolds constituídos por blendas em diferentes proporções de PLA e Polietileno glicol (PEG) com partículas de NaCl utilizando o  $\text{scCO}_2$  como agente expensor, o que resultou na obtenção de estruturas de células abertas com porosidade de 80% e com alta interconectividade, viáveis para o crescimento de células fibroblásticas. Sartore et al. (2019) [13] produziram espumas poliméricas compostas por uma blenda de poli (ácido láctico) (PLLA) e policaprolactona (PCL), juntamente com um polímero superabsorvente, visando à sua utilização para a área de engenharia tecidual. O estudo revelou que a composição química dessas estruturas permitiu boa adesão celular e evidenciou a importância da interconectividade dos poros na questão da proliferação celular. Sun et al. (2018) [14] realizaram o preparo de espumas com blenda de PLA e PCL empregando  $\text{scCO}_2$ , analisando os efeitos de temperatura, pressão e tempo de processamento na morfologia das espumas resultantes. Os autores obtiveram espumas com alta porosidade (valores maiores que 90%) e observaram que o aumento da temperatura resultou em aumento do tamanho dos poros, ao mesmo tempo em que a uniformidade dos foi gradualmente reduzido. Com o aumento da pressão, o efeito observado foi o oposto.

Uma aplicação de destaque envolvendo polímeros biodegradáveis e a utilização do  $\text{scCO}_2$  é a impregnação de fármacos para sua liberação controlada. Esta ideia de aplicação consiste em utilizar o material polimérico como um meio de transporte para medicamentos, para então serem liberados em determinada região do corpo humano e promover a ação desejada. Uma das vantagens de empregar um polímero biodegradável é o fato do próprio material ser degradado e absorvido a partir da atividade metabólica do organismo quando inserido no local de ação desejado, ao mesmo tempo em que ocorre a liberação do medicamento. Como exemplo, anti-inflamatórios têm sido uma classe de medicamento abordada em alguns estudos, com objetivo de reduzir o processo inflamatório no local inserido e, reduzir sintomas de dor do paciente [15]. Hile et al. (2000) [16] realizaram a produção de espumas microporosas de poli (ácido láctico – co – ácido glicólico) (PLGA), contendo proteínas encapsuladas por  $\text{scCO}_2$ , visando à liberação controlada do fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF). Foi observado que o aumento da proporção de ácido glicólico na blenda resultou em taxas

maiores de liberação de bFGF. Além disso, o estudo foi comparado com outras espumas produzidas pelo processo de lixiviação, apontando que as espumas produzidas por scCO<sub>2</sub> apresentaram uma taxa maior de liberação de proteínas totais em comparação ao outro processo .

Para esta aplicação é necessário realizar o processo de impregnação do material polimérico com o medicamento desejado. O processo de impregnação, assim como na formação de espumas, tem recorrido ao uso do scCO<sub>2</sub> como meio de difundir o fármaco no material empregado. A impregnação pode ser realizada em apenas uma etapa, que consiste na expansão do material polimérico e a formação da espuma, concomitantemente com a impregnação do fármaco na matriz polimérica. Desse modo, o fármaco e o polímero biodegradável são introduzidos em um reator, porém separados fisicamente. Para uma melhor homogeneização, uma barra de agitação magnética pode ser utilizada. Da mesma forma que na produção de espuma, o CO<sub>2</sub> é introduzido, as condições de saturação desejadas são estabelecidas e mantidas constantes por um determinado período. Por fim, o CO<sub>2</sub> em condições supercríticas é removido do recipiente, que pode ser realizado por despressurização rápida, ou de forma controlada e lenta [17–19]. Outro método mais comumente empregado envolve realizar a impregnação após a produção do material adicionando dessa maneira mais etapas no processo. Assim, o material de interesse é moldado na forma desejada (ex. espumas, filmes ou fibras) e posteriormente submetido ao processo de impregnação [20–23].

A associação das espumas poliméricas biodegradáveis com a impregnação de fármacos em estrutura dos scaffolds permitindo sua liberação controlada podem agir sinergicamente em recuperação de tecidos. Champeau et al. (2020) [24] realizaram um estudo abordando a impregnação via scCO<sub>2</sub> de fibras de PLLA com cetoprofeno, um fármaco anti-inflamatório, visando empregá-las como suturas para a área médica. Um dos objetivos foi analisar as condições operacionais de processo, de modo a observar o impacto dos parâmetros estabelecidos em algumas propriedades do material resultante, como também a sua resposta na quantidade de medicamento impregnado e sua liberação a partir de outras técnicas. Primeiramente, foi realizado uma análise da degradação e da resistência à tração *in vitro* das amostras de PLLA após o processo de impregnação com o cetoprofeno e posteriormente, foram exploradas as condições operacionais, de modo a encontrar possíveis parâmetros para o controle da liberação do medicamento no corpo humano. Desse modo, os autores relataram que a degradação do PLLA foi acelerada pela impregnação do cetoprofeno, devido aos grupos carboxílicos presentes no medicamento, que catalisam a hidrólise do grupo éster presente no PLLA. Consequentemente, a resistência à tração das suturas sofreu uma perda significativa o que, segundo os autores, sua aplicação seria mais adequada para tecidos com rápida recuperação. Com relação aos parâmetros estudados de impregnação, foi possível produzir suturas de PLLA com diferentes perfis de liberação com uma extensão de 3 dias até 3 meses. Os autores concluíram que a liberação de

fármaco é dependente de dois parâmetros: o volume livre presente na matriz do polímero, que é influenciado pelas condições de despressurização e a taxa de degradação do material, que aumenta de acordo com a quantidade de fármaco impregnado.

Assim, perante esta visão o presente projeto visa empregar a técnica de scCO<sub>2</sub> para produção de espumas de PLA, de forma a estudar a influência das condições do processo não-contínuo com scCO<sub>2</sub> na formação de estrutura porosas de PLA e na impregnação do cetoprofeno visando às aplicações de liberação controlada de fármacos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

Foram utilizados pellets de PLA (Ingeo 4042D, Natureworks), compostos por 92% de unidades de L-lactídeo e 8% de unidades de D-lactídeo, apresentando densidade de 1,24 g/cm<sup>3</sup>, massa molar ponderada média (Mw) de 201.000 g/mol e massa molar numérica média (Mn) de 101.000 g/mol. O CO<sub>2</sub> empregado foi provido pela Gama Gases, com concentração de 99,5%. O cetoprofeno foi obtido pela Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos e o tablete de solução salina tamponada foi obtida pela Sigma-Aldrich.

### 2.2. Processo de formação de espumas com CO<sub>2</sub> supercrítico

Anteriormente ao processo de expansão as amostras, na forma de grânulos foram submetidas à secagem a uma temperatura constante de 40 °C por 2 h, em estufa a vácuo, modelo EST – 920/300 (SULAB, Brasil) e uma bomba modelo ME2CNT (Vacuumbrand, Alemanha).

Para estudar as condições do processo, foi realizado planejamento experimental do tipo fatorial 2<sup>2</sup>, conforme a Tabela 1 considerando os parâmetros de temperatura de saturação e pressão de saturação. Foram estabelecidas as variáveis temperaturas e pressão em faixas citadas na literatura, além do tempo de contato com scCO<sub>2</sub> e do tipo de despressurização [25–29]. O tempo de contato com scCO<sub>2</sub> foi de 1 h e a despressurização empregada foi do tipo rápido (duração < 5 s).

Tabela 1. Planejamento experimental

Experimentos	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Nomenclatura
1	-	-	110	10	T110P10
2	+	-	140	10	T140P10
3	-	+	110	20	T110P20
4	+	+	140	20	T140P20

5	0	0	125	15	T125P15
6	0	0	125	15	T125P15
7	0	0	125	15	T125P15

O processo de formação de espumas foi conduzido utilizando-se uma célula de equilíbrio manual (SPM20 - Thar Technologies, EUA). As amostras foram introduzidas na célula de equilíbrio e foram submetidas às condições previamente estabelecidas. A pressão foi controlada por uma bomba seringa, modelo 260 HP (Teledyne Isco, EUA) enquanto a temperatura foi controlada por um conjunto de 4 resistências elétricas ao redor da célula de equilíbrio.

O procedimento foi realizado de acordo com as seguintes etapas: (1) As amostras foram introduzidas na célula de equilíbrio; (2) realizou-se a vedação da célula e introdução do CO<sub>2</sub> no recipiente; (3) com emprego do sistema da bomba seringa, a célula foi pressurizada até as condições previamente determinadas; (4) as resistências presentes ao redor da célula foram utilizadas para atingir as temperaturas desejadas; (5) todas as amostras foram mantidas nas condições de saturação pré-determinadas por um período de 1 h; e (6) após este tempo de contato, o sistema foi submetido a uma rápida despressurização ( $t < 5s$ ) por meio da abertura da válvula do sistema.

2.3. Processo de impregnação por CO<sub>2</sub> supercrítico

Para o processo de impregnação foi proposto adotar os parâmetros citados na Tabela 2 tendo como base os trabalhos reportados sobre o tema [17, 23, 26, 30]. Para este processo, foi determinada a variação de apenas um dos parâmetros estudados (pressão) e a fixação dos restantes de modo a facilitar e tornar mais evidente a observação do impacto do parâmetro no processo de impregnação. Selecionou-se, para este procedimento, a amostra de espuma que obteve o maior valor de porosidade na etapa de expansão.

Tabela 2. Condições de impregnação

Parâmetros	Valores estudados
Pressão (MPa)	15, 20, 25
Temperatura (°C)	45
Tempo de contato (h)	2
Taxa de despressurização (MPa/min)	0,2

Para a impregnação de fármaco na amostra de espuma, foi designado o sistema composto por: bomba seringa, célula de equilíbrio, agitador magnético e estufa. A célula de equilíbrio foi inserida na estufa, juntamente com o agitador magnético. Foi realizada uma conexão da célula com a bomba seringa,

localizada na região externa da estufa. Este sistema é representado pela Figura 1a. A Figura 1b representa o esquema estruturado internamente na célula de equilíbrio. Para realizar a impregnação, o fármaco foi adicionado no fundo do recipiente, juntamente com uma barra de agitação magnética. Para manter a amostra de espuma separada do medicamento, foram adicionados anéis de aço e uma grade, possibilitando a amostra permanecer em uma região mais elevada no interior do recipiente.

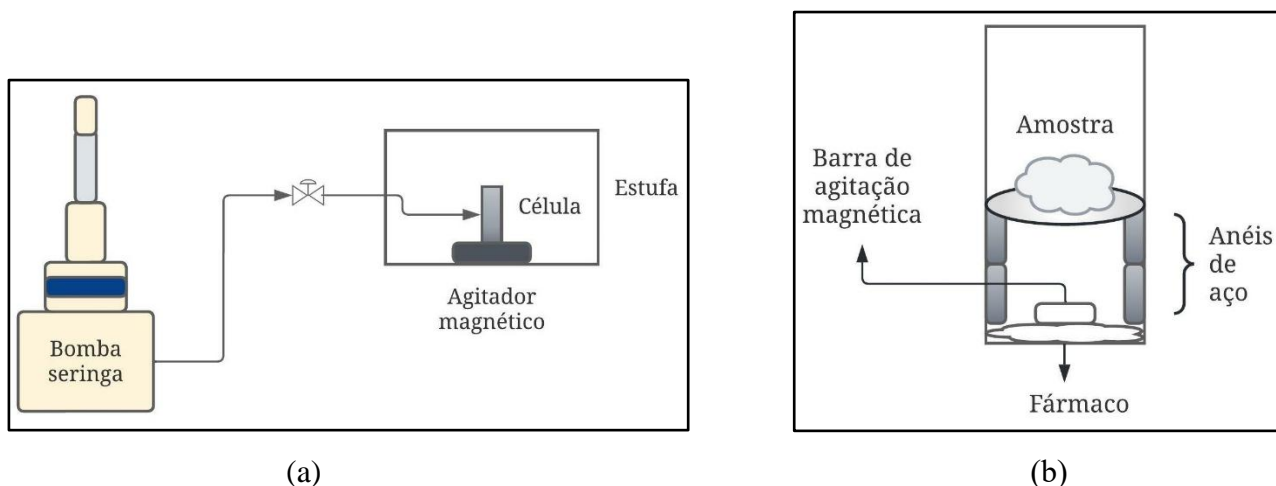


Figura 1.(a) Sistema do processo de impregnação (b) Esquema da região interna da célula de equilíbrio

A impregnação foi realizada conforme as seguintes etapas: (1) Inserção da amostra de espuma na célula; (2) liberação e injeção de CO<sub>2</sub> para dentro da célula; (3) pressurização do sistema até a pressão desejada; (4) elevação da temperatura até o valor desejado; (5) permanência das condições do sistema durante o tempo de contato estabelecido; (6) despressurização. A única variável do processo foi a pressão sendo de 15, 20 e 25 MPa sendo adotadas as respectivas nomenclaturas, I-15, I-20 e I-25.

O cálculo para determinar a quantidade de fármaco impregnado nas amostras é descrito pela Equação 1.

$$F_{imp}(\%) = \left( \frac{M_{após} - M_{antes}}{M_{antes}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde  $F_{imp}$  é a porcentagem de fármaco impregnado na amostra,  $M_{após}$  é a massa da amostra após o processo de impregnação e  $M_{antes}$  é a massa da amostra antes do processo de impregnação.

### 3. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

#### 3.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para estudar a morfologia das estruturas produzidas pelo processo. As amostras foram revestidas com uma camada de ouro estimada em 200 Å, utilizando-se o equipamento Sputter Coater (EMITECH), modelo K450 (Kent, Reino Unido). Foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura com detector de energia dispersiva de raios-x LEO Electron Microscopy/Oxford, modelo Leo 440i (Cambridge, Inglaterra). O programa ImageJ foi utilizado para medir o tamanho médio dos poros observados nas micrografias tomando aproximadamente 100 medições para cada amostra selecionando regiões onde os poros apresentaram estrutura mais preservada [31].

#### 3.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A Calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada em equipamento Mettler Toledo, modelo DSC1 (Schwerzenbach, Suíça), juntamente com a balança micro analítica Mettler Toledo, modelo MX5 (Schwerzenbach, Suíça) para estudar as propriedades térmicas das amostras. Uma pequena porção de material foi inserida em um cadinho de alumínio selado e submetida a aquecimento com temperatura inicial de 25 °C até 200 °C, a uma taxa de 10 °C/min, sob atmosfera inerte de gás nitrogênio, a uma vazão de 50 ml/min. Para o cálculo do grau de cristalinidade ( $X_{dsc}$ ) utilizou-se a Equação 2.

$$X_{dsc}(\%) = \left( \frac{\Delta H_f - \Delta H_c}{\Delta H_f^o} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde  $\Delta H_f$  é a entalpia de fusão,  $\Delta H_c$  é a entalpia de cristalização a frio e  $\Delta H_f^o$  é a entalpia de fusão do PLA com 100% de cristalinidade assumida como 93,1 J/g [32].

#### 3.3. Difração de raios-x (DRX)

O difratômetro (Shimadzu, modelo XRD 7000 – Kyoto, Japão) foi empregado para analisar o comportamento da cristalinidade por difração de Raios-x (DRX) nas condições de operação: corrente de 30 mA e voltagem de 40kV, com ângulo de difração variando entre 5 e 35°, a uma taxa de 0,02°/s. Para realizar o cálculo do grau de cristalinidade ( $X_{drx}$ ) foi realizada a deconvolução das curvas dos difractogramas com software Fityk a partir da Equação 3.

$$X_{drx}(\%) = \left( \frac{I_c}{I_a + I_c} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde  $I_c$  é a área da porção cristalina de curva e  $I_a$  é a área da porção amorfa da curva.

### 3.4. Picnometria

A picnometria foi utilizada para determinar a densidade das espumas produzidas a partir da qual calculou-se a porosidade pela Equação 4.

$$Porosidade (\%) = \left( 1 - \frac{\rho_{espuma}}{\rho_{PLA}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde  $\rho_{espuma}$  é a densidade da amostra de espuma e  $\rho_{PLA}$  é a densidade do PLA.

### 3.5. Ensaio de liberação de fármaco

O ensaio de liberação de fármaco foi realizado com base nos trabalhos de Champeau et al. [24] e Verano Naranjo et al. [33]. Uma solução tampão, PBS – Phosphate-buffered saline, foi empregada para simular o meio onde ocorre a liberação do fármaco. Utilizou-se 1 tablete em 200 ml de água destilada a 37 °C. Todas as amostras que foram submetidas a este procedimento passaram por uma segmentação, sendo cada amostra dividida em três segmentos com massa média variando entre 50 e 65 mg. Cada segmento foi adicionado em 5 ml de solução de PBS e após períodos pré-determinados de tempo, 1 ml de alíquota foi retirado para a análise por espectroscopia UV (Shimadzu – UV 1900, Japão) e a mesma alíquota foi repostada posteriormente na solução. Cada valor obtido foi comparado com uma curva de absorbância previamente realizada para o cetoprofeno (260 nm). Para calcular a porcentagem de fármaco liberado em cada segmento, foi estipulado que houve uma impregnação uniforme na amostra. Para calcular a quantidade de fármaco liberada em determinado tempo, foi utilizada a Equação 5.

$$L(\%) = \left( \frac{m_t}{m_{imp}} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde  $L$  é a porcentagem de fármaco liberada em determinado tempo,  $mt$  é a massa de fármaco liberada em determinado tempo e  $mimp$  é a massa total de fármaco impregnado na amostra.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. MEV

O efeito das condições de processo na morfologia para as amostras que apresentaram expansão foi avaliado pelas imagens obtidas por MEV. As amostras T110P10, T140P10 e T140P20 não resultaram em estrutura porosa sendo que, provavelmente, a condição T110P10 ter a pressão baixa e insuficiente para a difusão efetiva do  $\text{CO}_2$  em toda a massa da amostra e no caso da T140P20 a temperatura do processo estar próxima à temperatura de fusão do PLA ( $153\text{ }^\circ\text{C}$ ) além da ação plastificante do  $\text{scCO}_2$ , que também age flexibilizando as cadeias poliméricas facilitando a fusão. Estas condições muito próximas à temperatura de fusão impedem que, durante o processo de expansão, as paredes das células formadas durante a etapa de nucleação e crescimento de bolhas permaneçam consistentes. Consequentemente, ocorre o colapamento e colapso das paredes, que resultam em uma estrutura sólida pouco porosa. No caso da condição T140P10, os dois efeitos estavam presentes. As amostras que apresentaram expansão foram T125P15 e T110P20 cujas micrografias e distribuição de tamanho de poros estão apresentadas na Figura 2, Figura 3 e Figura 4. O tamanho dos poros observados na amostra T125P15 foi de  $(106,3 \pm 27,0)\text{ }\mu\text{m}$  e na amostra T110P20 de  $(58,2 \pm 15,8)\text{ }\mu\text{m}$ .

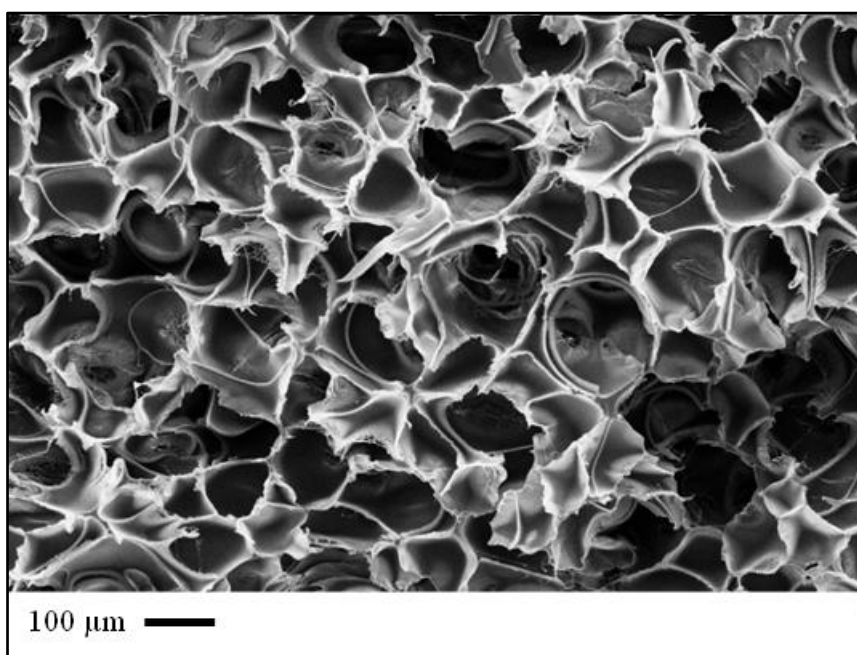


Figura 2. Micrografia da amostra T125P15

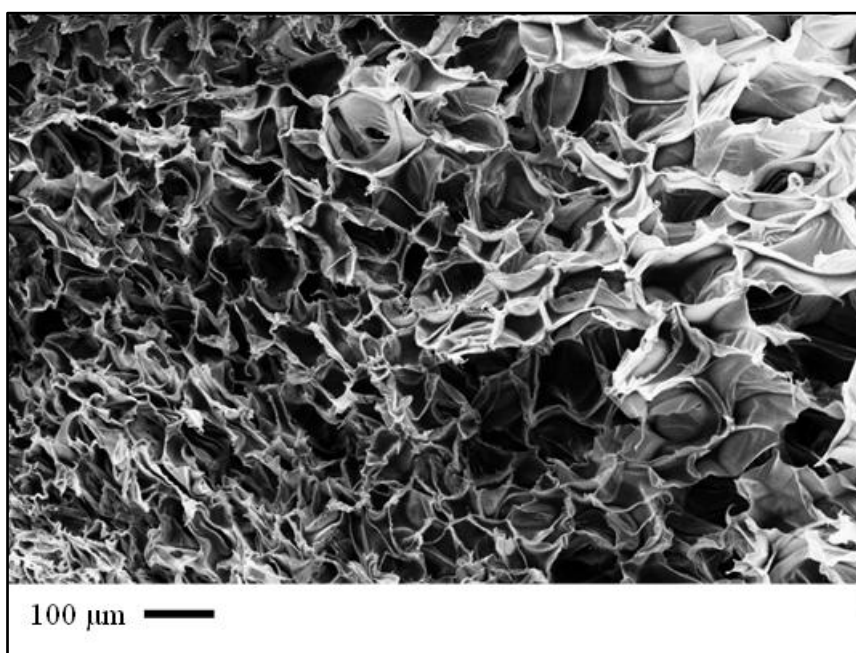
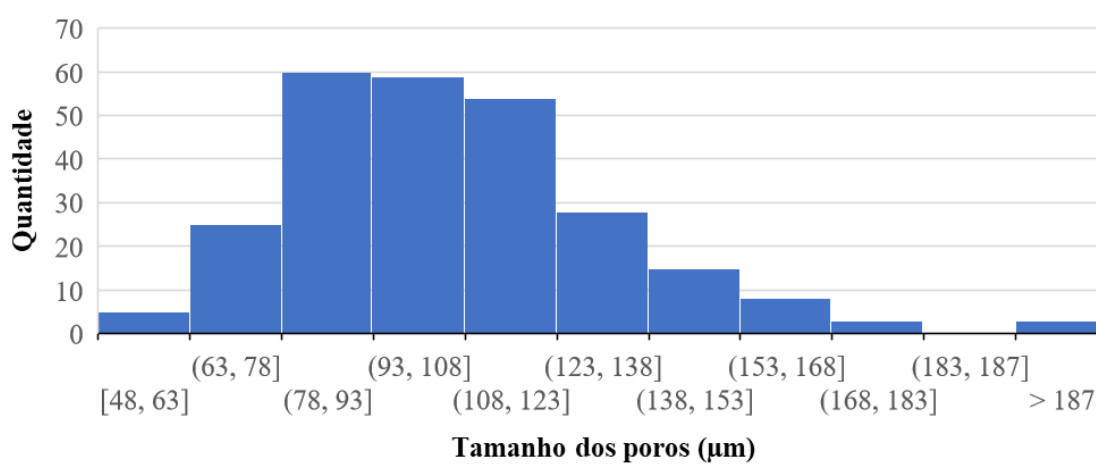


Figura 3. Micrografia da amostra T110P20



(a)

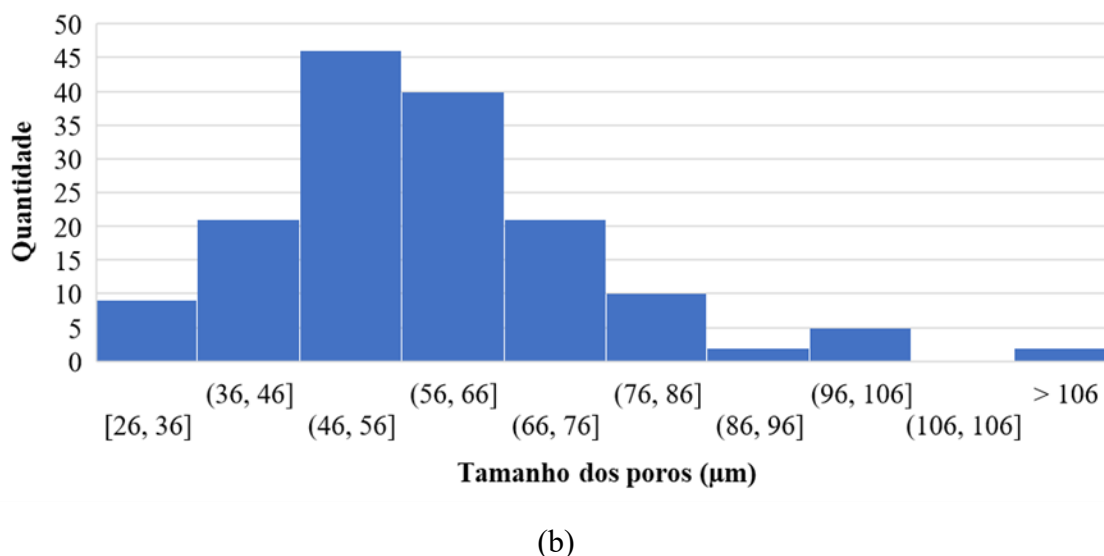


Figura 4. Histograma de tamanho de poros (a) amostra T125P15 (b) amostra T110P20

## 4.2. DSC

As curvas de DSC para o ponto central das condições de processo (T125P15) constam na Figura 5a e das demais amostras na Figura 5b. Os valores das transições são apresentados na Tabela 3. A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) das amostras se encontraram na faixa entre 51 e 60 °C, próximas ao valor do PLA em seu estado inicial (55 °C). Aproximadamente entre 55 e 65 °C apresenta-se o fenômeno de relaxação de entalpia, um pico endotérmico decorrente do armazenamento do polímero em uma temperatura próxima e abaixo da temperatura de transição vítrea [34]. A maioria das amostras apresentaram um pico exotérmico indicando a ocorrência de cristalização a frio durante o procedimento do DSC. As temperaturas de cristalização ( $T_c$ ) foram observadas no intervalo entre 101 e 126 °C. Adicionalmente, as temperaturas de fusão ( $T_m$ ) das amostras apresentaram pequenas alterações (entre 148 e 154 °C) em comparação ao valor do PLA inicial (153 °C). Constatou-se que o processo de expansão promoveu a redução do grau de cristalinidade do material. A partir de uma cristalinidade de 36 % do PLA, houve redução das porções cristalinas das amostras chegando até 16 % de cristalinidade. Uma possível explicação para esta redução no grau de cristalinidade se deve ao fato do próprio processo de expansão, durante a etapa de despressurização, ter sido realizada de modo rápido. Essa liberação rápida promove um resfriamento súbito, impedindo a reorganização de sua rede cristalina resultando em valores mais baixos de cristalinidade.

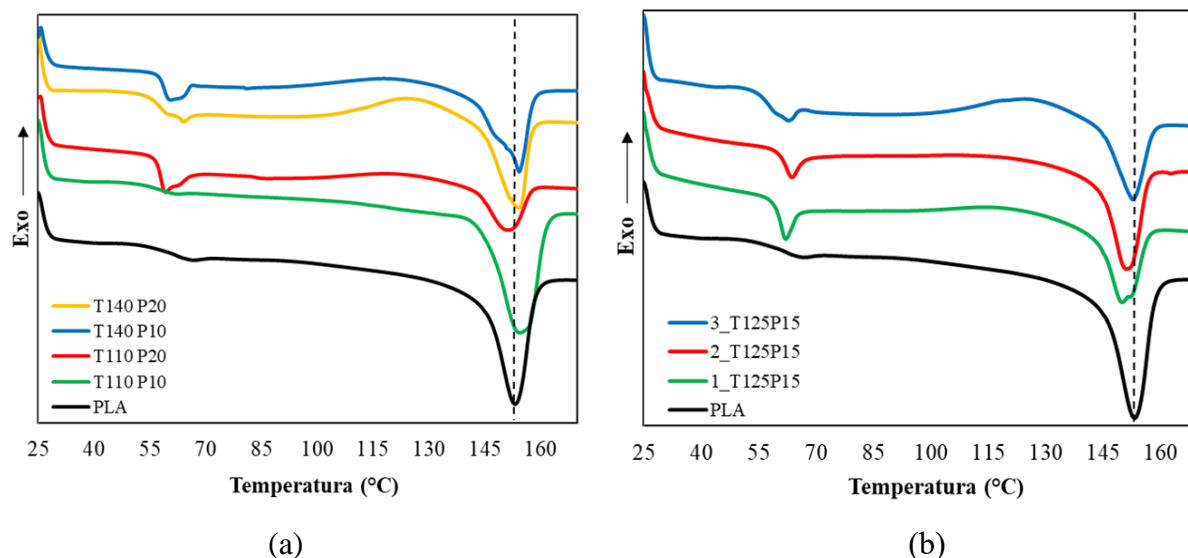


Figura 5. Curvas de DSC (a) amostras do ponto central (b) amostras das demais condições

Tabela 3. Dados numéricos das análises de DSC, densidade e porosidade

Experimento	T <sub>g</sub> Onset (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	T <sub>m1</sub> (°C)	T <sub>m2</sub> (°C)	X <sub>dsc</sub> (%)	X <sub>drx</sub> (%)	Densidade (g/mL)	Porosidade (%)
PLA	55	-	153	-	36	42	1,28	-
T125 P15	59	115	150	152	21	26	0,29	77
T125 P15	60	107	151	-	26	44	0,16	87
T125 P15	54	124	153	-	24	0.4	0,31	76
T110 P10	51	110	154	-	37	49	0,61	52
T110 P20	57	120	151	-	16	45	0,12	91
T140 P10	57	120	154	-	28	6	0,26	80
T140 P20	54	124	154	-	30	4	0,73	43

### 4.3. DRX

A estrutura cristalina também foi analisada por DRX. Os difractogramas para as amostras produzidas no ponto central das condições de processo (T125P15) constam na Figura 6 e das demais amostras na Figura 7. Os valores do grau de cristalinidade obtidos por DRX são apresentados na Tabela 3.

Os picos de difração das fases cristalinas  $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e estereocomplexos entre PLLA e PDLA são objeto de observação. A cristalização originada a partir de fusão ou por solução resulta na formação de cristais do tipo  $\alpha$ , considerado o polimorfo mais comum. Esta fase é caracterizada pela célula

cristalina ortorrômbica, composta por dimensões de  $a = 10,7 \text{ \AA}$ ,  $b = 6,45 \text{ \AA}$  e  $c = 27,8 \text{ \AA}$ . A formação do tipo  $\beta$  é caracterizada pela célula trigonal, com parâmetros de  $a = b = 10,52 \text{ \AA}$  e  $c = 8,8 \text{ \AA}$  e foi observada em condições de alta temperatura e de tensão mecânica. Para a formação cristalina  $\gamma$ , foi relatada sua presença em reações com hexametilbenzeno, apresentando uma configuração ortorrômbica com os seguintes parâmetros de dimensão:  $a = 9,95 \text{ \AA}$ ,  $b = 6,25 \text{ \AA}$  e  $c = 8,8 \text{ \AA}$ . A configuração do tipo  $\alpha'$  apresenta comportamento bem semelhante à forma  $\alpha$ , com a diferença de apresentar as reflexões mais intensas – representadas pelos planos (110/200) e (203) – em valores mais elevados de  $2\theta$  [35–37]. O PLA empregado neste estudo foi caracterizado pela presença de picos com  $2\theta \approx 17,42^\circ$ ,  $2\theta \approx 19,70^\circ$  e  $2\theta \approx 22,86^\circ$ , que são correspondentes às reflexões dos planos (110/200), (203) e (015), respectivamente. Estes picos são condizentes com a formação cristalina do tipo  $\alpha$  [38]. Com relação à Figura 6, correspondente à triplicata do ponto central, observa-se uma amostra com estrutura predominantemente amorfa, em comparação as outras duas amostras o que pode representar uma certa heterogeneidade no processo ou nas diferentes partes da amostra. As outras amostras nesta mesma condição apresentam os picos a  $16^\circ$  e  $18^\circ$  que são referentes aos planos (110/200) e (203) do PLA. Ao se comparar com a curva referente ao PLA inicial, é constatado um deslocamento destes picos para esquerda, indicando desse modo que as condições do processo promovem deslocamento dos valores de  $2\theta$  para a esquerda, que representam aumento na distância interplanar na célula cristalina.

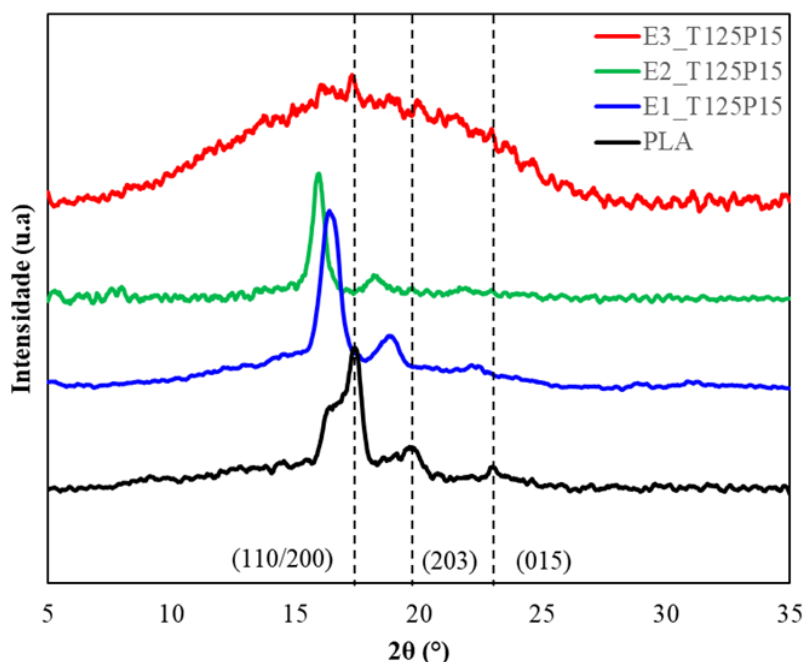


Figura 6. Difractogramas das amostras do ponto central

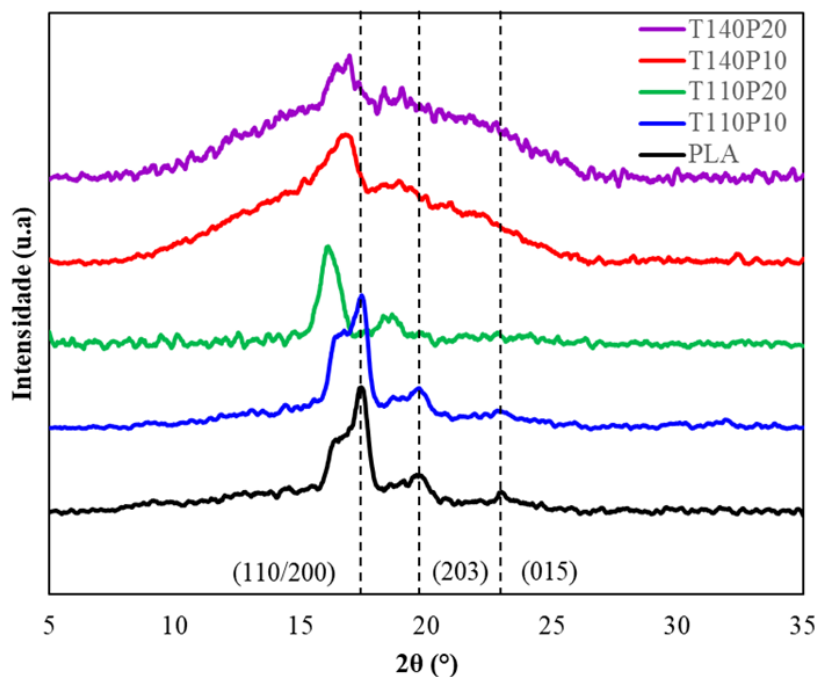


Figura 7. Difractogramas das amostras nas demais condições

Lorenzo et al. (2011) [35] e Pan et al. (2008) [39] relataram que o aumento na temperatura de cristalização do PLA na faixa entre 80 e 140 °C resultou no deslocamento para valores maiores de  $2\theta$ . No entanto, nota-se que para as amostras deste estudo, por terem sido submetidas a condições variadas de temperatura e pressão, os deslocamentos de seus picos se direcionam para valores menores de  $2\theta$ . Desse modo é possível inferir que o componente de pressão exerce impacto neste comportamento. Observando a Figura 7, o aumento de pressão, em conjunto com a temperatura, provocou um deslocamento dos picos para valores menores de  $2\theta$ , como pode ser observado para as amostras T110P20, T140P10 e T140P20. Além disso, as amostras que foram submetidas à temperatura de 140 °C resultaram em estruturas predominantemente amorfas. Os valores do grau de cristalinidade encontrados pelo DRX apresentaram certas diferenças em comparação aos valores encontrados pelo DSC. Primeiramente isso possivelmente se deve pela diferença entre as técnicas, pois o DRX analisa o material na forma que esta foi obtida, enquanto no DSC a própria análise submete a amostra a um tratamento térmico. Os resultados observados indicam que o grau de cristalinidade é maior para a temperatura de processo menor. A pressão teve pouca interferência no grau de cristalinidade. Isto provavelmente decorre do fato das amostras serem processadas nas temperaturas mais baixas, distantes da temperatura de fusão do PLA o que permitiu que os cristais se mantivessem durante e depois do processo de expansão.

Os resultados de densidade e de porosidade constam na Tabela 3. A partir dos valores encontrados, nota-se uma diminuição da densidade em praticamente todas as amostras, indicando

consequentemente a presença de células expandidas nas amostras. Além disso, foi observado que as amostras T125P15 e T110P20 obtiveram os menores valores de densidade e, por consequência, os maiores valores de porosidade. Wang et al. (2019) [40] produziram espumas de com blenda de PCL/PLA, obtendo maiores valores de porosidade com o aumento da pressão, chegando a valores de 70% para amostras com maior proporção de PLA. Foi observado que após 14 MPa houve decréscimo nos valores de porosidade. O aumento da temperatura, por outro lado, promoveu a redução dos valores de porosidade. Sun et al. (2018) [41] obtiveram espumas de PCL/PLA, com amostras alcançando o valor de 95% de porosidade e as condições de temperatura e pressão apresentaram comportamento semelhante ao trabalho previamente citado. O mesmo comportamento foi observado neste estudo, em que as amostras obtiveram maiores valores de porosidade para os valores de pressão entre 15 e 20 MPa e o aumento da temperatura proporcionou a redução dos valores de porosidade das amostras.

#### 4.4. Análise estatística

A análise estatística das variáveis de processo temperatura e pressão no grau de cristalinidade e porosidade foi realizada, cujos gráficos de Pareto são apresentados, respectivamente nas Figuras 8 e 9 (nível de confiança de 90% ( $p = 0,1$ )). A interação entre pressão e temperatura teve o efeito de aumentar o grau de cristalinidade e diminuir a porosidade, enquanto que a pressão isoladamente diminuiu ao grau de cristalinidade.

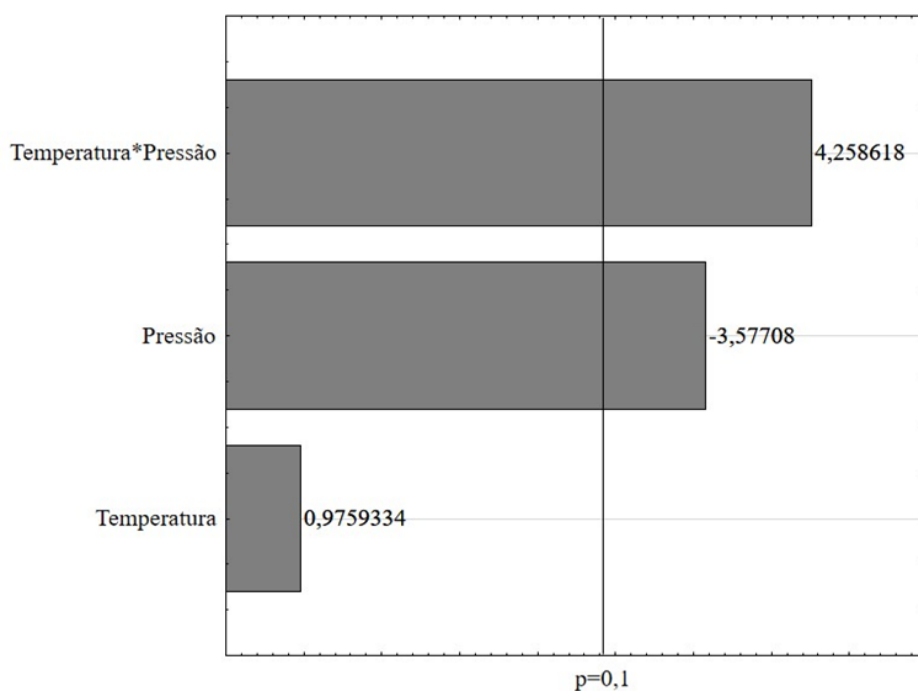


Figura 8. Gráfico de Pareto para o grau de cristalinidade

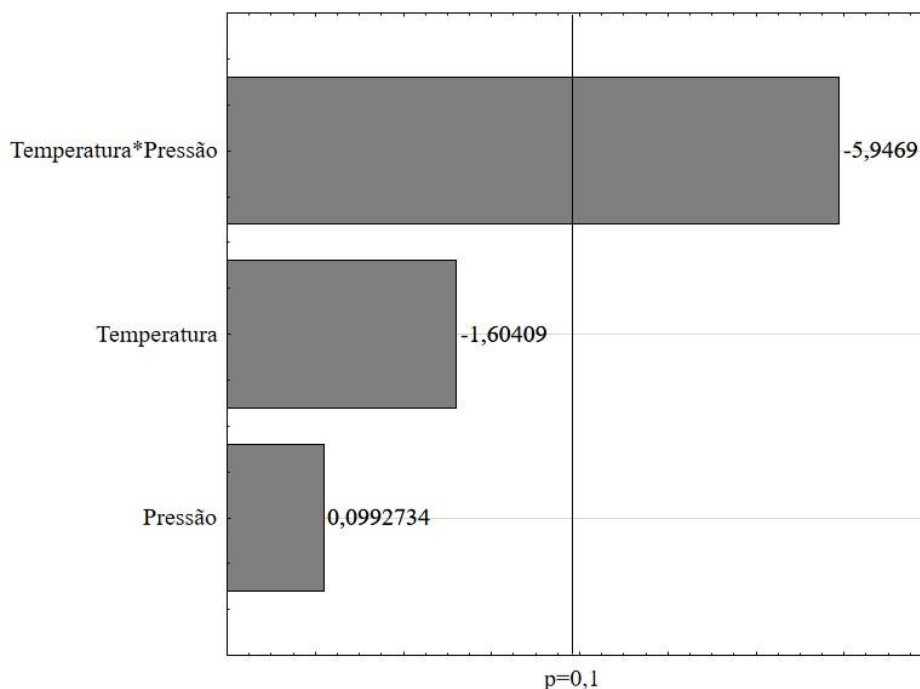


Figura 9. Gráfico de Pareto para a porosidade

#### 4.5. Processo de impregnação

O processo de impregnação foi aplicado na amostra T110P20 por apresentar maior porosidade. A quantidade de fármaco impregnada para cada condição de processo (Pressão) foi calculada e os resultados constam na Tabela 4.

Tabela 4. Quantidade de fármaco impregnada para cada pressão de processo

Amostra	F <sub>imp</sub> (%)
I – 15	1,88
I – 20	2,62
I – 25	2,53

A amostra I – 15 apresentou o menor valor de carga entre as amostras, enquanto que as amostras I – 20 e I – 25 apresentaram valores maiores e próximos. Segundo a literatura, o aumento da pressão é um fator que contribui para o aumento da carga de fármaco nas estruturas devido ao aumento da solubilidade do scCO<sub>2</sub> com o cetoprofeno o que favorece a difusão do scCO<sub>2</sub> na matriz da estrutura [23, 42, 43], e isso se confirmou neste trabalho.

#### 4.6. Ensaio de liberação

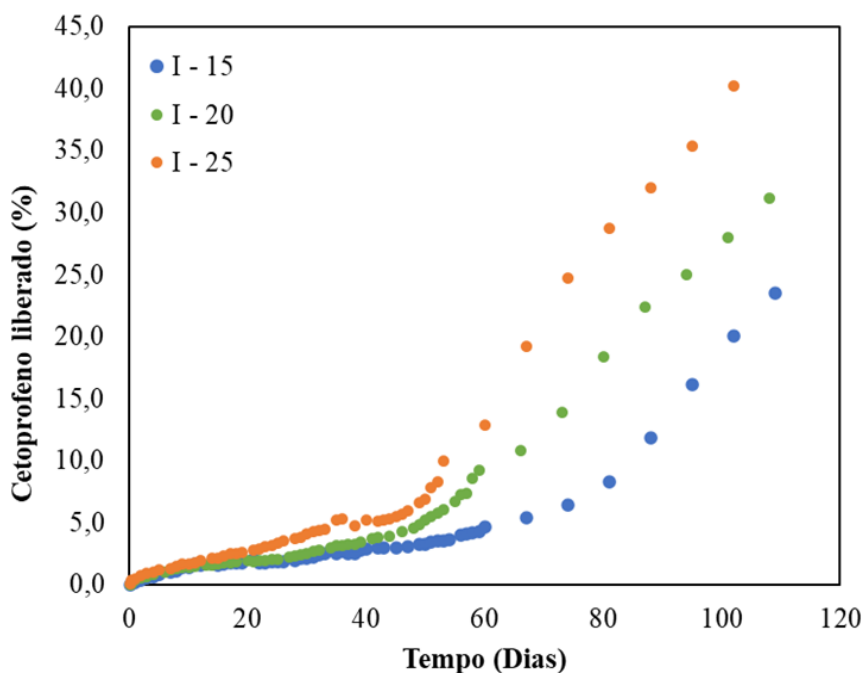


Figura 10. Perfis de liberação de fármaco

A Figura 10 representa os perfis de liberação do cetoprofeno das amostras impregnadas. Comparando os perfis de liberação nota-se que a amostra I – 25 demonstrou ter maior taxa de liberação de cetoprofeno nos períodos observados. Isso indica que o aumento de pressão para o processo de impregnação também promove maior liberação de fármaco em determinados períodos. Este resultado também é observado na literatura [33].

O modelo de Kosmeyer-Peppas, representado pela Equação 6, é comumente utilizado para escrever a cinética de liberação de fármacos [44]. Adotando-se este modelo para o sistema em estudo, apresentado na Figura 11, observa-se uma boa aderência até aproximadamente entre 50 e 60 dias de ensaio.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (6)$$

Onde  $M_t$  é a massa de fármaco em determinado tempo,  $M_\infty$  é a massa total de fármaco impregnado,  $k$  é a constante cinética característica do sistema droga – polímero,  $t$  é o tempo e  $n$  é o expoente que caracteriza o mecanismo de liberação.

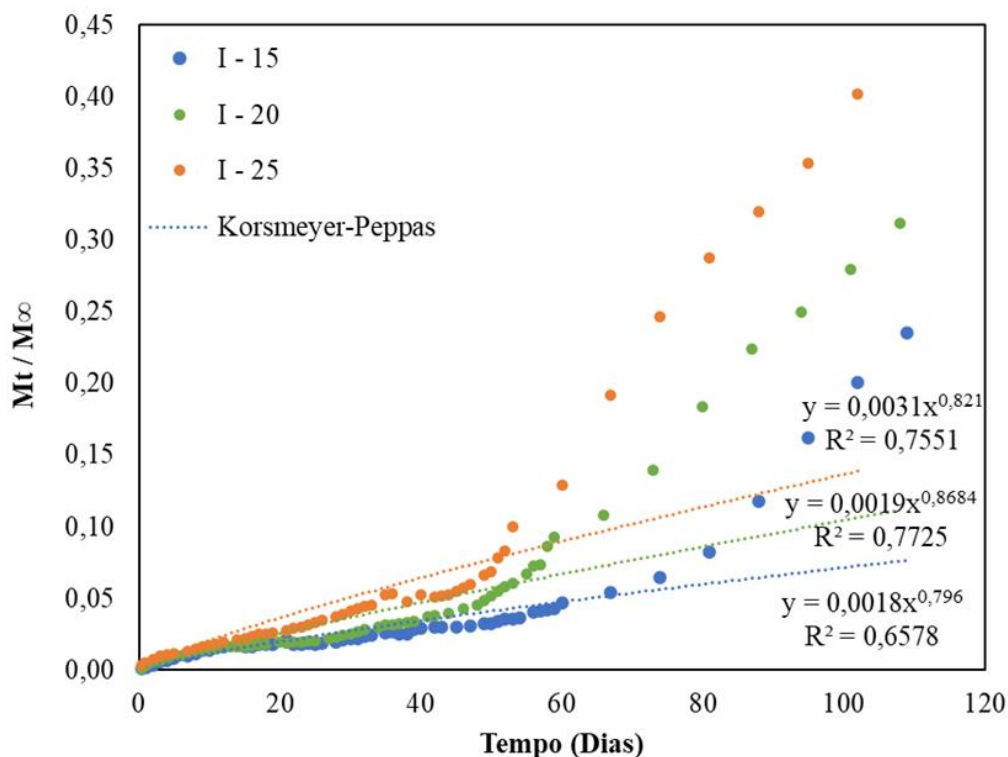


Figura 11. Modelo Korsmeyer-Peppas aplicado para as curvas de liberação

O desvio do modelo, no período entre 50 e 60 dias, pode ser explicado pela ocorrência da hidrólise do PLA, que acelera a liberação pela quebra das cadeias poliméricas como descrito por Fredenberg et al. (2011) [45]. Os autores descrevem que a liberação de fármaco realizada por polímeros pode ser descrita por três fases: i) fase I, denominada pelo termo burst (do Inglês), é caracterizada por uma rápida liberação de grande quantidade de fármaco, decorrente da presença de moléculas de fármaco na superfície do polímero em contato com a solução; ii) fase II, é determinada por uma liberação lenta, na qual o fármaco difunde lentamente pela massa do polímero. Em alguma fase inicia a hidrólise do polímero sendo que na fase II tem sua progressão, com a consequente degradação; iii) fase III, é descrita como um período de rápida liberação (também denominada eventualmente como segundo burst), sendo atribuída pelo predominante processo de degradação do material decorrente da hidrólise. Ao considerar as fases descritas anteriormente, é possível notar que a fase I ocorre aproximadamente até o período do 10º dia para todas as amostras. A fase II de liberação pode ser observada entre o período do 10º dia até em torno do 50º dia. Após o 50º dia, constata-se a ocorrência da fase III, em que há um novo período de maior liberação de cetoprofeno, resultante do processo de hidrólise do PLA.

## 5. CONCLUSÃO

No presente trabalho foi realizado o estudo sobre o processo não – contínuo de formação de espumas de PLA com emprego de scCO<sub>2</sub> como agente expensor, juntamente com o processo de impregnação de fármaco por scCO<sub>2</sub> das estruturas produzidas.

As espumas foram efetivamente produzidas, apresentando maiores valores de porosidade para as condições de 110 °C e 20 MPa e 125 °C e 15 MPa, que respectivamente apresentaram um tamanho médio de poro de  $(58 \pm 15)$  µm e  $(106 \pm 27)$  µm, constatando os efeitos observados sobre a temperatura e pressão no processo em trabalhos relatados na literatura.

A análise estatística, considerando as condições de temperatura e pressão utilizadas para a expansão das amostras sobre as propriedades de grau de cristalinidade do PLA e porosidade, demonstrou significância estatística com 90% de confiança para o grau de a cristalinidade e a porosidade. O grau de cristalinidade apresentou efeito positivo para a interação temperatura-pressão e efeito negativo para pressão. A porosidade apresentou efeito negativo para interação temperatura-pressão. Foi possível verificar uma correlação entre o grau de cristalinidade e a porosidade, sendo que amostras com maior grau de cristalinidade apresentaram menor porosidade e isso pode ser explicado pelo fato de que durante o processo de expansão ocorre a cristalização a frio do PLA.

A impregnação de cetoprofeno foi influenciada pela pressão do CO<sub>2</sub>, sendo que as condições de pressão mais elevadas demonstraram maior porcentagem de cetoprofeno impregnado em função do aumento da solubilidade do cetoprofeno em scCO<sub>2</sub> e conseqüentemente maior transferência deste fármaco para a matriz polimérica. Neste caso, o maior gradiente de concentração, em relação ao meio de liberação, causou a maior taxa de liberação do fármaco.

A cinética de liberação do cetoprofeno revelou comportamento em três fases, onde primeiramente ocorreu uma fase com alta taxa de liberação, seguida por uma fase progressiva de menor taxa e por último, uma nova fase com maior taxa de liberação de fármaco. Na última fase a cinética de liberação foi fortemente influenciada pela hidrólise e conseqüente degradação do PLA.

Este trabalho possibilitou estudar o processo de formação de espumas de PLA pela tecnologia supercrítica, de forma a encontrar condições favoráveis para a obtenção de estruturas apropriadas para a impregnação de fármacos. Além disso, forneceu informações sobre o comportamento e morfologia das espumas de PLA submetidas ao processo de impregnação, na questão da quantidade de fármaco impregnada e seu perfil de liberação.

**Agradecimentos:** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] di Maio, E. and Kiran, E. (2018). Foaming of polymers with supercritical fluids and perspectives on the current knowledge gaps and challenges. *Journal of Supercritical Fluids*, 134, 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.11.013>.
- [2] Raps, D., Hossieny, N., Park, C.B. and Altstädt, V. (2015). Past and present developments in polymer bead foams and bead foaming technology. *Polymer*, 56, 5–19. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.10.078>.
- [3] Tsivintzelis, I., Sanxaridou, G., Pavlidou, E. and Panayiotou, C. (2016). Foaming of polymers with supercritical fluids: A thermodynamic investigation. *Journal of Supercritical Fluids*, 110, 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.11.025>.
- [4] Kemmere, M.F. (2006). Supercritical Carbon Dioxide for Sustainable Polymer Processes. *Supercritical Carbon Dioxide*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 1–14.
- [5] Corre, Y.M., Maazouz, A., Duchet, J. and Reignier, J. (2011). Batch foaming of chain extended PLA with supercritical CO<sub>2</sub>: Influence of the rheological properties and the process parameters on the cellular structure. *Journal of Supercritical Fluids*, 58(1), 177–188. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.03.006>.
- [6] Gong, P., Zhai, S., Lee, R., Zhao, C., Buahom, P., Li, G. and Park, C.B. (2018). Environmentally Friendly Polylactic Acid-Based Thermal Insulation Foams Blown with Supercritical CO<sub>2</sub>. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 57(15), 5464–5471. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.7b05023>.
- [7] Frerich, S.C. (2015). Biopolymer foaming with supercritical CO<sub>2</sub> - Thermodynamics, foaming behaviour and mechanical characteristics. *Journal of Supercritical Fluids*, 96, 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.09.043>.
- [8] Manavitehrani, I., Le, T.Y.L., Daly, S., Wang, Y., Maitz, P.K., Schindeler, A. and Dehghani, F. (2019). Formation of porous biodegradable scaffolds based on poly(propylene carbonate) using gas foaming technology. *Materials Science and Engineering C*, 96, 824–830. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.088>.
- [9] Marrazzo, C., di Maio, E. and Iannace, S. (2007). Foaming of synthetic and natural biodegradable polymers. *Journal of Cellular Plastics*, 43(2), 123–133. <https://doi.org/10.1177/0021955X06073214>.
- [10] Qiu, Y.L., Chen, X., Hou, Y.L., Hou, Y.J., Tian, S.B., Chen, Y.H., Yu, L., Nie, M.H. and Liu, X.Q. (2019). Characterization of different biodegradable scaffolds in tissue engineering. *Molecular Medicine Reports*, 49(5), 4043–4056. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10066>.
- [11] Mikos, A.G. and Temenoff, J.S. (2000). Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3(2), 114–119. <https://doi.org/10.2225/vol3-issue2-fulltext-5>.
- [12] Chen, B.-Y., Jing, X., Mi, H.-Y., Zhao, H., Zhang, W.-H., Peng, X.-F. and Turng, L.-S. (2015). Fabrication of polylactic acid/polyethylene glycol (PLA/PEG) porous scaffold by

- supercritical CO<sub>2</sub> foaming and particle leaching. *Polymer Engineering & Science*, 55(6), 1339–1348. <https://doi.org/10.1002/pen.24073>.
- [13] Sartore, L., Inverardi, N., Pandini, S., Bignotti, F. and Chiellini, F. (2019). PLA/PCL-based foams as scaffolds for tissue engineering applications. *Materials Today: Proceedings*, 7, 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.11.103>.
- [14] Sun, S., Li, Q., Zhao, N., Jiang, J., Zhang, K., Hou, J., Wang, X. and Liu, G. (2018). Preparation of highly interconnected porous poly( $\epsilon$ -caprolactone)/poly(lactic acid) scaffolds via supercritical foaming. *Polymers for Advanced Technologies*, 29(12), 3065–3074. <https://doi.org/10.1002/pat.4427>.
- [15] Champeau, M., Thomassin, J.M., Tassaing, T. and Jerome, C. (2015). Drug Loading of Sutures by Supercritical CO<sub>2</sub> Impregnation: Effect of Polymer/Drug Interactions and Thermal Transitions. *Macromolecular Materials and Engineering*, 300(6), 596–610. <https://doi.org/10.1002/mame.201400369>.
- [16] Hile, D.D., Amirpour, M.L., Akgerman, A. and Pishko, M. v. (2000). Active growth factor delivery from poly(D,L-lactide-co-glycolide) foams prepared in supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Controlled Release*, 66(2–3), 177–185. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00268-0](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00268-0).
- [17] Cabezas, L.I., Gracia, I., García, M.T., de Lucas, A. and Rodríguez, J.F. (2013). Production of biodegradable porous scaffolds impregnated with 5-fluorouracil in supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Supercritical Fluids*, 80, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.03.030>.
- [18] Cabezas, L.I., Fernández, V., Mazarro, R., Gracia, I., de Lucas, A. and Rodríguez, J.F. (2012). Production of biodegradable porous scaffolds impregnated with indomethacin in supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Supercritical Fluids*, 63, 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.12.002>.
- [19] Campardelli, R., Franco, P., Reverchon, E. and de Marco, I. (2019). Polycaprolactone/nimesulide patches obtained by a one-step supercritical foaming + impregnation process. *Journal of Supercritical Fluids*, 146, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.008>.
- [20] Champeau, M., Thomassin, J.M., Tassaing, T. and Jérôme, C. (2015). Drug loading of polymer implants by supercritical CO<sub>2</sub> assisted impregnation: A review. *Journal of Controlled Release*, 209, 248–259. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.05.002>.
- [21] Villegas, C., Arrieta, M.P., Rojas, A., Torres, A., Faba, S., Toledo, M.J., Gutierrez, M.A., Zavalla, E., Romero, J., Galotto, M.J. and Valenzuela, X. (2019). PLA/organoclay bionanocomposites impregnated with thymol and cinnamaldehyde by supercritical impregnation for active and sustainable food packaging. *Composites Part B: Engineering*, 176, 107336. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107336>.
- [22] Álvarez, I., Gutiérrez, C., Rodríguez, J.F., de Lucas, A. and García, M.T. (2020). Production of drug-releasing biodegradable microporous scaffold impregnated with gemcitabine using a CO<sub>2</sub> foaming process. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 41, 101227. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101227>.
- [23] Milovanovic, S., Hollermann, G., Errenst, C., Pajnik, J., Frerich, S., Kroll, S., Rezwan, K. and Ivanovic, J. (2018). Supercritical CO<sub>2</sub> impregnation of PLA/PCL films with natural

- substances for bacterial growth control in food packaging. *Food Research International*, 107, 486–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.065>.
- [24] Champeau, M., Coutinho, I.T., Thomassin, J.M., Tassaing, T. and Jérôme, C. (2020). Tuning the release profile of ketoprofen from poly(L-lactic acid) suture using supercritical CO<sub>2</sub> impregnation process. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101468. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101468>.
- [25] Jeong, E.J., Park, C.K. and Kim, S.H. (2020). Fabrication of microcellular polylactide/modified silica nanocomposite foams. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(17). <https://doi.org/10.1002/app.48616>.
- [26] Kuska, R., Milovanovic, S., Frerich, S. and Ivanovic, J. (2019). Thermal analysis of polylactic acid under high CO<sub>2</sub> pressure applied in supercritical impregnation and foaming process design. *Journal of Supercritical Fluids*, 144, 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.10.008>.
- [27] Wang, X., Li, Y., Jiao, Y., Zhou, H. and Wang, X. (2019). Microcellular Foaming Behaviors of Poly (Lactic Acid)/Low-Density Polyethylene Blends Induced by Compatibilization Effect. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(8), 1721–1734. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01466-3>.
- [28] Wang, G., Zhang, D., Wan, G., Li, B. and Zhao, G. (2019). Glass fiber reinforced PLA composite with enhanced mechanical properties, thermal behavior, and foaming ability. *Polymer*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.121803>.
- [29] Yang, Y., Li, X., Zhang, Q., Xia, C., Chen, C., Chen, X. and Yu, P. (2019). Foaming of poly(lactic acid) with supercritical CO<sub>2</sub>: The combined effect of crystallinity and crystalline morphology on cellular structure. *Journal of Supercritical Fluids*, 145, 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.12.006>.
- [30] Rojas, A., Torres, A., de Dicastillo, C.L., Velásquez, E., Villegas, C., Faba, S., Rivera, P., Guarda, A., Romero, J. and Galotto, M.J. (2022). Foaming with scCO<sub>2</sub> and Impregnation with Cinnamaldehyde of PLA Nanocomposites for Food Packaging. *Processes*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/pr10020376>.
- [31] Schneider, C.A., Rasband, W.S. and Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.
- [32] Lim, L.T., Auras, R. and Rubino, M. (2008). Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science (Oxford)*.
- [33] Verano-Naranjo, L., Cejudo-Bastante, C., Casas-Cardoso, L., Mantell-Serrano, C. and Martínez de la Ossa Fernández, E.J. (2021). Supercritical Impregnation of Ketoprofen into Polylactic Acid for Biomedical Application: Analysis and Modeling of the Release Kinetic. *Polymers*, 13(12), 1982. <https://doi.org/10.3390/polym13121982>.
- [34] Guigo, N. and Sbirrazzuoli, N. (2018). Thermal Analysis of Biobased Polymers and Composites. *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. Elsevier B.V. 399–429.

- [35] di Lorenzo, M.L., Cocca, M. and Malinconico, M. (2011). Crystal polymorphism of poly(l-lactic acid) and its influence on thermal properties. *Thermochimica Acta*, 522(1–2), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2010.12.027>.
- [36] Kawai, T., Rahman, N., Matsuba, G., Nishida, K., Kanaya, T., Nakano, M., Okamoto, H., Kawada, J., Usuki, A., Honma, N., Nakajima, K. and Matsuda, M. (2007). Crystallization and melting behavior of poly (L-lactic acid). *Macromolecules*, 40(26), 9463–9469. <https://doi.org/10.1021/ma070082c>.
- [37] Saeidlou, S., Huneault, M.A., Li, H. and Park, C.B. (2012). Poly(lactic acid) crystallization. *Progress in Polymer Science*. Elsevier Ltd.
- [38] Naga, N., Yoshida, Y., Noguchi, K. and Murase, S. (2013). Crystallization of Amorphous Poly(Lactic Acid) Induced by Vapor of Acetone to Form High Crystallinity and Transparency Specimen. *Open Journal of Polymer Chemistry*, 03(02), 29–33. <https://doi.org/10.4236/ojpchem.2013.32006>.
- [39] Pan, P., Zhu, B., Kai, W., Dong, T. and Inoue, Y. (2008). Effect of crystallization temperature on crystal modifications and crystallization kinetics of poly(L-lactide). *Journal of Applied Polymer Science*, 107(1), 54–62. <https://doi.org/10.1002/app.27102>.
- [40] Wang, L., Wang, D., Zhou, Y., Zhang, Y., Li, Q. and Shen, C. (2019). Fabrication of open-porous PCL/PLA tissue engineering scaffolds and the relationship of foaming process, morphology, and mechanical behavior. *Polymers for Advanced Technologies*, 30(10), 2539–2548. <https://doi.org/10.1002/pat.4701>.
- [41] Sun, S., Li, Q., Zhao, N., Jiang, J., Zhang, K., Hou, J., Wang, X. and Liu, G. (2018). Preparation of highly interconnected porous poly( $\epsilon$ -caprolactone)/poly(lactic acid) scaffolds via supercritical foaming. *Polymers for Advanced Technologies*, 29(12), 3065–3074. <https://doi.org/10.1002/pat.4427>.
- [42] Sabegh, M.A., Rajaei, H., Esmaeilzadeh, F. and Lashkarbolooki, M. (2012). Solubility of ketoprofen in supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, 72, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.08.008>.
- [43] Verano-Naranjo, L., Cejudo-Bastante, C., Casas, L., Mantell, C. and Martínez De La Ossa, E.J. (2021). In vitro study of the release of drugs impregnated by supercritical technology in polylactic acid for biomedical applications. *Chemical Engineering Transactions*, 86, 1063–1068. <https://doi.org/10.3303/CET2186178>.
- [44] Korsmeyer, R.W. and Peppas, N.A. (1981). *Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs*. Elsevier Scientific Publishing Company.
- [45] Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M. and Axelsson, A. (2011). The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems - A review. *International Journal of Pharmaceutics*.