



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Andreia Alexandra dos Santos Alves

Surfactantes à base de Açúcares: síntese, caracterização e  
desenvolvimento de novas biomoléculas para aplicação industrial

São José do Rio Preto  
2019

Andreia Alexandra dos Santos Alves

Surfactantes à base de Açúcares: síntese, caracterização e desenvolvimento de novas biomoléculas para aplicação industrial

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes - Projeto PVE nº 88887.116568/2016-00

Orientador: Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa  
Co-orientador: Dr. Filipe Antunes

São José do Rio Preto  
2019

A474s

Alves, Andreia Alexandra dos Santos

Surfactantes à base de Açúcares: síntese, caracterização e desenvolvimento de novas biomoléculas para aplicação industrial / Andreia Alexandra dos Santos Alves. -- São José do Rio Preto, 2019

229 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Prof. Dr. Eloi Feitosa

Coorientador: Prof. Dr. Filipe Antunes

1. Surfactantes à base de açúcar. 2. Método de injeção. 3. Síntese química. 4. Emulsões. 5. Vesículas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Andreia Alexandra dos Santos Alves

Surfactantes à base de Açúcares: síntese, caracterização e desenvolvimento de novas biomoléculas para aplicação industrial

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes - Projeto PVE nº 88887.116568/2016-00

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof. Dr. Watson Loh  
UNICAMP - Campinas

Prof. Dra. Rosângela Itri  
USP – São Paulo

Prof. Dra. Vânia Nicoletti  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Marinonio Cornélio  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto  
13 de Março de 2019

*Aos meus Pais, Fernando e Fernanda,  
pela dedicação e amor.*

## **AGRADECIMENTOS**

A intensidade e exigência por detrás de um trabalho científico, apenas são superadas se nos rodearmos das pessoas certas. Neste espaço, deixo o meu agradecimento a todos os que construíram este trabalho e este momento comigo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Projeto PVE nº 88887.116568/2016-00, à qual agradeço.

Ao Professor Eloi Feitosa, meu orientador, agradeço a ajuda e empenho, desde o momento em que nos conhecemos, para me trazer para o Brasil. Obrigada por todo o acompanhamento, apoio, críticas construtivas e por todo o conhecimento que me transmitiu durante estes 4 anos. Foi um gosto aprender e evoluir com o senhor!

Ao Doutor Filipe Antunes, que antes de ser meu co-orientador é um dos meus melhores amigos! Filipe, meu grande chefe, para ti as palavras serão sempre insuficientes. Parece que quanto mais faço para te tentar agradecer por tudo, mais me falta fazer. Foste dos melhores presentes que a vida me deu. É uma honra trabalhar, aprender, e crescer com o teu apoio. Tudo o que alcancei e tudo o que irei alcançar um dia só é possível porque há 6 anos atrás acreditaste em mim. Só espero continuar esta caminhada vitoriosa contigo ao meu lado e continuar a corresponder a todas as expectativas que depositas em mim. Não sei o que foi, mas devo ter feito algo de muito certo no passado, para ter tido a sorte de ter um chefe e amigo como tu! O meu mais profundo Obrigada!

À Professora Dina Murtinho, a minha querida professorinha, o meu mais sincero agradecimento por toda a ajuda e apoio no difícil desafio das nossas sínteses. O que era complicado, acabou por tornar-se simples com todo o seu suporte, confiança e alegria. Saiba que é um pilar fundamental da minha formação enquanto cientista e ser humano. Como lhe disse uma vez, se todos fossem só metade do que a professora é, este Mundo era tão melhor. Foi uma honra trabalhar com a professora!

Ao Professor Marinonio e ao Professor Sidney, obrigada por toda a ajuda e apoio desde o primeiro instante. Os senhores foram determinantes em todo este processo, e se hoje esta etapa se finaliza é também graças a ambos.

A todas as pessoas do Departamento de Física do IBILCE, desde funcionários, professores e alunos, por me terem recebido tão bem e por me terem feito sentir em casa, mesmo estando a milhares de Km de distância do meu país. Que a alegria e união que impera no Departamento se mantenha e entendam que juntos vão mais longe. O vosso valor é incalculável.

A minha família brasileira... Gisele, Monique, Thiago, João, e as minhas meninas, Livia e Marina... Vocês foram o porto de abrigo e seguro no qual me alojei durante estes 4 anos. Vocês foram a força, o suporte e a felicidade na forma de gente. Tudo o que nos acontece, acontece por um motivo... Eu percebi cedo o porque de ir para o Brasil tirar o doutoramento: tinha de vos conhecer a todos! Obrigada por serem a minha família do coração e por serem a minha segunda casa. Nunca conseguirei encontrar as palavras suficientes para vos dizer o quanto vos admiro e adoro, vocês mudaram a minha vida. Bora beber uma gelada?

Ao grupo de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade de Coimbra, o meu agradecimento por me terem recebido tão bem e me terem feito sentir como um elemento do grupo. Foi incrível partilhar quase 2 anos de trabalho, alegria e peripécias com todos.

Ao grupo Colling, o meu obrigada por poder crescer com todos diariamente. Quando temos a sorte de trabalhar com os melhores tudo fica mais fácil e o que era, aparentemente, impossível torna-se facilmente alcançável. Que continuemos fortes e unidos na superação de objetivos.

Aos meus amigos... Desde aqueles que trago desde a infância até aos que conheci há pouco tempo, todos, das mais diversas formas, contribuíram para a minha formação enquanto ser humano. Somos pessoas, e hoje, aqueles que tenho, são os melhores que poderia ter! O meu mais profundo obrigada por me terem acompanhado nesta caminhada, por me terem ouvido, levantado e amparado em todo este processo. Este trabalho é também fruto da vossa amizade, confiança em mim e dedicação. Vocês enchem-me o coração!

A toda a minha família... Obrigada por terem o maior orgulho em mim. Obrigada pelo apoio e confiança que depositaram nas minhas capacidades, e obrigada por terem confortado os meus pais quando a vida impôs a minha ausência. Sem o vosso suporte e amparo, este momento não seria possível. A todos o meu mais sincero obrigada.

Avó, a sua neta vai mesmo ser Doutora. Onde quer que esteja, espero que esteja feliz e orgulhosa. Que eu possa continuar a tê-la como exemplo para tudo na vida. A Avó foi e continua a ser o meu maior exemplo de luta, perseverança e força. Espero nunca a desiludir.

Ao meu Baltazar, o meu pequeno príncipe de quatro patas... Nunca pensamos que um ser destes vai ser determinante num projeto de doutoramento, mas acreditem, é! Ele é a receita para os dias maus e perito em encher a casa e os corações da família Alves de alegria e amor.

Por fim, o meu agradecimento é dirigido aqueles que são a base de tudo... Pai, mãe e mana, a maior honra da minha vida é ser vossa filha e irmã! A forma como vocês me criaram, educaram e estruturaram enquanto pessoa foi absolutamente determinante para eu chegar onde estou hoje... A vocês devo-vos tudo! Este trabalho é mais vosso do que meu, porque vocês são a força motriz em qualquer decisão que tomo ou passo que dou. Obrigada por serem, desde o primeiro instante, tudo o que alguém pode pedir. Obrigada pelo apoio, pela confiança, pela força, pela coragem, por nunca me terem deixado desistir, por terem acreditado mais do que eu, pelo amor... Acima de tudo, obrigada pelo amor que me dão, e pelo amor que me fazem sentir por vocês! Vocês são tudo!



## RESUMO

Preocupações ambientais globais relativas à produção, uso e descarte de múltiplos produtos produzidos pelo Homem têm incentivado o estudo e desenvolvimento de novos materiais mais ecológicos baseados ou inspirados em biomoléculas que podem substituir as opções existentes atualmente. Estes esforços incluem o desenvolvimento de surfactantes à base de açúcares.

O interesse e uso de surfactantes à base de açúcares para aplicação em diversas áreas da indústria, têm aumentado ao longo das duas últimas décadas. Para esse aumento contribuem suas características de atividade tensioativa únicas e melhoradas, comparados a surfactantes sintéticos derivados da indústria petrolífera, como o sulfato de lauriléter, um dos detergentes mais utilizados na indústria de detergentes que forma espuma com uma estrutura mais instável que surfactantes alquilpoliglicosídeos. Além disso, os componentes usados na síntese de surfactantes à base de açúcares, açúcares e ácidos graxos, têm origem natural e provêm de fontes renováveis, fato que contribui para a elevada biodegradabilidade e biocompatibilidade destas moléculas anfifílicas.

Apesar de todas as vantagens desta classe de surfactantes, ainda não são bem entendidos aspectos como a relação entre sua arquitetura molecular e capacidade de emulsificação, dadas as possibilidades estruturais quase infinitas que lhes são possíveis.

Apesar de ser uma classe de surfactantes muito promissora, tem tido pouca aplicação industrial uma vez que a sua síntese apresenta dificuldades ao nível da formação de produtos multissubstituídos, relacionados a sua baixa seletividade, além de requerer o uso de solventes orgânicos tóxicos, devido à grande diferença de polaridades entre as moléculas dos açúcares e dos grupos que irão constituir a porção apolar do surfactante.

Neste projeto, uma das principais classes de surfactantes de açúcares, os ésteres de sorbitano (Spans), foi criteriosamente selecionada para um entendimento da relação estrutura molecular-atividade superficial de surfactantes de açúcares. Foi aplicado o método de injeção de álcool na preparação de vesículas desses surfactantes de açúcares e, pela primeira vez, os Spans foram aplicados na formação de emulsões óleo-em-água (O/W).

Paralelamente foram sintetizados, por meio de síntese química, novos surfactantes não-iônicos e aniônicos à base de açúcares, variando os seus grupos polares e apolares, assim como o tipo de funcionalização introduzida.

Estudos do comportamento interfacial dos surfactantes de açúcares sintetizados, como medidas de tensão interfacial e capacidade de formação e estabilização de emulsões, indicaram que os mesmos são não-iônicos e aniônicos, exibindo comportamento interfacial muito superior ao dos surfactantes mais utilizados na indústria de detergente, higiene e produtos de limpeza.

Através deste projeto foram criadas alternativas sustentáveis, e de valorização ambiental, aos surfactantes utilizados no cotidiano, pretendendo-se que estas novas moléculas, à base de açúcares, sejam utilizadas nas mais variadas formulações industriais.

**Palavras-chave:** Surfactantes à base de açúcares, método de injeção, síntese química, emulsões, vesículas.

## ABSTRACT

The interest and use of sugar-based surfactants for their application in various areas of industry have been increasing over the past two decades. For this increase, contribute their unique and improved surface activity characteristics when compared to synthetic surfactants, but whose components come from the petroleum industry. Furthermore, the components used in the synthesis of sugar surfactants, sugars and fatty acids, have a natural origin and come from renewable sources, contributing to the high biodegradability e bioavailability of these amphiphilic molecules.

Despite all the advantages of this class of surfactants, some aspects such as the relation of its molecular architecture e emulsification ability are still not fully understood, once there are almost infinite structural possibilities.

At present, although these surfactants are the most promising in the future, they have little industrial application since their synthesis presents difficulties in the formation of multi-substituted products, related to their low selectivity, and requires the use of organic solvents due to the large polarity difference between the sugars and the groups that will constitute the apolar half of the surfactant.

In this project, one of the main classes of sugar surfactants, sorbitan esters (Span) were carefully selected for an understanding of the molecular structure-surface activity relationship of sugar surfactants. The alcohol injection method was applied to form vesicles with this family of sugar surfactants and, for the first time, the sorbitan esters were applied in the formation of O/W emulsions.

In parallel, new families of sugar-based surfactants were synthesized by chemical synthesis in their nonionic e anionic forms, varying their polar and apolar groups, as well as the bonds used to join the two halves.

After the characterization to understand the interfacial behavior of the synthesized surfactants, since this behavior determines the applications in which these molecules will be used, it is concluded that were produced nonionic and anionic sugar surfactants with higher interfacial behavior than the surfactants most used in industries such as detergents, hygiene and cleaning products.

With this project, sustainable alternatives and environmental enhancement were created to the surfactants used today, and it is intended that these new sugar-based molecules begin to be rapidly applied in the most varied formulations for our day-to-day products.

**Keywords:** Sugar based surfactants, Injection Method, Chemical Synthesis, Emulsions.

---

---

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

- Figura 1.** Representação do comportamento de surfactantes em água (a), e representação dos possíveis agregados formados por moléculas de surfactantes em solução aquosa. 27
- Figura 2.** Geometria de estruturas anfífilas. 28
- Figura 3.** Estrutura molecular do brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB). 29
- Figura 4.** Estrutura molecular do dodecil sulfato de sódio (SDS). 30
- Figura 5.** Estrutura molecular do laurato de betaína. 30
- Figura 6.** Estrutura molecular de (a) ácido graxo etoxilado e (b) alquil glicosídeo. 31
- Figura 7.** Estrutura das principais ligações usadas para unir as metades hidrofílica e hidrofóbica dos surfactantes de açúcares. a) Éter; b) Éster; c) Amina; d) Amida. 33
- Figura 8.** Estrutura molecular dos açúcares (a) Glicose; b) Galactose; c) Frutose) e ácidos graxos (d) Ácido Cáprico; e) Ácido Láurico usados neste trabalho. 34
- Figura 9.** Esquema da relação entre a composição de ésteres (%) e os valores de HLB de ésteres de açúcares. 43
- Figura 10.** Estruturas moleculares dos ésteres de sorbitano (Span) usados neste trabalho. 46
- Figura 11.** Representação esquemática do procedimento do Método de Injeção. 51
- Figura 12.** Representação do método do anel de Du Noüy para medições de tensão superficial. 53
- Figura 13.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do produto 10. 69
- Figura 14.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, de a) ésteres de glicose (caprilato e laurato de glicose) e b) ésteres de galactose (caprilato de laurato de galactose), em função da concentração (%), a 25 °C. 77
- Figura 15.** Tensão superficial da água com a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 79
-

- 
- Figura 16.** Tensão superficial da água com o a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 80
- Figura 17.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para o a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose, em função da concentração de surfactante de açúcar, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 82
- Figura 18.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para o a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose, em função da concentração de surfactante de açúcar, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 83
- Figura 19.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS, das a) alquilaminas de glicose (decilamina e dodecilamina de glicose) e b) aminas de galactose (decilamina e dodecilamina de galactose), em função da concentração de surfactante (%), a 25 °C. 84
- Figura 20.** Tensão superficial da água com a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 86
- Figura 21.** Tensão superficial da água com a a) decilamina de galactose e b) dodecilamina de galactose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 87
- Figura 22.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 88
- Figura 23.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a a) decilamina de galactose e b) dodecilamina de galactose, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 89
- Figura 24.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, do caprilato e laurato de glicose aniônicos, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 91
- Figura 25.** Tensão superficial da água com a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 92
- Figura 26.** Tensão superficial da água com a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 93
- Figura 27.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 95
-

- 
- Figura 28.** Diâmetros hidrodinâmicos (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, das a) alquilaminas de glicose (decilamina e dodecilamina de glicose) aniônicas e b) aminas de galactose (decilamina e dodecilamina de galactose) aniônicas, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 96
- Figura 29.** Tensão superficial da água com a) decilamina de glicose aniônica e b) dodecilamina de glicose aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 97
- Figura 30.** Tensão superficial da água com a) decilamina de galactose aniônica e b) dodecilamina de galactose aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 98
- Figura 31.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 100
- Figura 32.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS do a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85, todos na forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 102
- Figura 33.** Tensão superficial da água com a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85 aniônicos, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 105
- Figura 34.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85 aniônicos, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 108
- Figura 35.** Estruturas moleculares dos surfactantes comerciais em estudo: a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA. 111
- Figura 36.** Diâmetros hidrodinâmicos (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS do a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 111
- Figura 37.** Tensão superficial da água com o a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, a 25 °C. 112
- Figura 38.** Índices de emulsificação (%) obtidos o a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C. 113
-

- 
- Figura 39.** Imagens de TEM mostrando a presença de vesículas nos sistemas formados pelos Span 40 e 65, através do método de injeção de metanol, etanol e 2-propanol. 116
- Figura 40.** Curva de distribuição de tamanho (nm), obtida por DLS, de vesículas de Span 20. 117
- Figura 41.** Efeito da concentração de Span no diâmetro hidrodinâmico dos agregados formados pelo método de injeção de metanol (MIM, preto), etanol (MIE, vermelho) e 2-propanol (MIP, azul). a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85. Medidas realizadas a 25 °C. 118
- Figura 42.** Dependência do diâmetro das vesículas de Span 20 (■), Span 40 (●), Span 60 (▲), Span 65 (▼), Span 80 (◀) e Span 85 (▶) com o tempo de agitação, a 75 °C. As dispersões de Span foram obtidas pelo método de injeção de etanol. A temperatura dos ensaios de DLS foi 25 °C. 122
- Figura 43.** Representação esquemática da influência do comprimento da cadeia de álcool no tamanho vesicular com a) metanol, b) etanol e c) 2-propanol. 123
- Figura 44.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 20-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 124
- Figura 45.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 40-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 125
- Figura 46.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 60-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 125
- Figura 47.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 65-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 126
- Figura 48.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 80-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 127
- Figura 49.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 85-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C. 127
- Figura 50.** Representação da a) solubilidade em hidrocarbonetos e b) capacidade de agregação de surfactantes, em função do número de carbonos da parte apolar, e da c) relação entre solubilidade/capacidade de agregação de surfactantes. 129
-

- 
- Figura 51.** Espectro RMN  $^1\text{H}$  da molécula de etanol em  $\text{D}_2\text{O}$ . 131
- Figura 52.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  de vesículas de Span 20 obtidas por injeção de etanol, a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ , após 5 min (--), 10 min (--), 30 min (--), 60 min (--), 120 min (--), 180 min (--) e 240 min (--) de agitação. 132
- Figura 53.** Variação temporal da intensidade de pico constituinte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de etanol, a) pico 1,17 ppm; b) pico 1,19 ppm; c) pico 1,21 ppm; d) pico 3,63 ppm; e) pico 3,65 ppm; f) pico 3,67 ppm e g) pico 3,68 ppm, do Span 20 (■), Span 40 (●), Span 60 (▲), Span 65 (▼), Span 80 (◀) e Span 85 (▶). 133
- Figura 54.** Espectro da dispersão aquosa de Span 20, após 240 min de agitação a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ , obtida por injeção de etanol. 134
- Figura 55.** Representação da variação nos desvios químicos dos quatro picos constituintes do múltiplo no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do etanol das soluções de a) Span 20; b) Span 40; c) Span 60; d) Span 65; e) Span 80 e f) Span 85, na concentração 10 mM, em função do tempo, a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ . 135
- Figura 56.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em hexano, após 24, 48 e 72h, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . 139
- Figura 57.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em decano, após 24, 48 e 72h, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . 142
- Figura 58.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em hexadecano, após 24, 48 e 72h, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . 145
- Figura 59.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em óleo de soja, após 24, 48 e 72h, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . 148
- Figura 60.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em gorduras emulsificadas de diferentes tamanhos, após 24h, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . 151
-



- 
- Figura 61.** Relação entre EI e o comprimento da cadeia dos Span 20 (C<sub>12</sub>), 40 (C<sub>16</sub>), 60 (C<sub>18</sub> saturada), 65 (3xC<sub>18</sub> saturadas), 80 (C<sub>18</sub> insaturada) e 85 (3xC<sub>18</sub> insaturadas), pelo método de injeção metanólica, ao fim de 24h, nas concentrações a) 0,1; b) 0,25; c) 0,5; d) 1; e) 10mM. 155
- Figura 62.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) dos sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e metanol, com hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C. 162
- Figura 63.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) dos sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e etanol, com hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C. 165
- Figura 64.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) dos sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e 2-propanol, com hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C. 168
- Figura 65.** Tensão interfacial do sistema Span 20/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 172
- Figura 66.** Tensão interfacial do sistema Span 40/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 173
- Figura 67.** Tensão interfacial do sistema Span 60/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 174
- Figura 68.** Tensão interfacial do sistema Span 65/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 175
- Figura 69.** Tensão interfacial do sistema Span 80/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 176
- Figura 70.** Tensão interfacial do sistema Span 85/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C. 177
-

<b>Esquema 1.</b> Mecanismo da reação de esterificação usada para sintetizar quimicamente ésteres de ácidos graxos de açúcares.	37
<b>Esquema 2.</b> Mecanismo de formação das alquilaminas de glicose.	39
<b>Esquema 3.</b> Mecanismo geral da reação de transesterificação.	64
<b>Esquema 4.</b> Mecanismo da reação de esterificação de ácidos graxos.	65
<b>Esquema 5.</b> Mecanismo geral da reação de síntese de cloretos de ácido.	66
<b>Esquema 6.</b> Mecanismo geral da reação de Maillard.	70

---

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Reagentes usados nas sínteses de surfactantes de ésteres e aminas de açúcares.	48
<b>Tabela 2.</b> Reagentes usados nas síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos e rendimentos das reações.	55
<b>Tabela 3.</b> Reagentes usados nas síntese de alquilaminas de açúcares não-iônicas e rendimentos das reações.	57
<b>Tabela 4.</b> Reagentes usados nas síntese de ésteres e alquilaminas de açúcares aniônicos e rendimentos das reações.	59
<b>Tabela 5.</b> Reação de transesterificação de açúcares com o laurato de vinilo <b>5</b> .	64
<b>Tabela 6.</b> Reação de transesterificação de açúcares com o ácido cáprico esterificado <b>8</b> .	66
<b>Tabela 7.</b> Reação de esterificação de açúcares com cloreto de ácido <b>9</b> .	67
<b>Tabela 8.</b> Reação de Maillard para a síntese de alquilaminas de açúcares.	70
<b>Tabela 9.</b> Reação de sulfonação com os ésteres de açúcares sintetizados não-iônicos sintetizados.	73
<b>Tabela 10.</b> Reação de sulfonação com os ésteres de sorbitano não-iônicos, comerciais.	74
<b>Tabela 11.</b> Reação de sulfonação com as alquilaminas de açúcares sintetizadas.	75
<b>Tabela 12.</b> Valores de CET dos ésteres de açúcares sintetizados, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	81
<b>Tabela 13.</b> Valores de CET obtidos para as alquilaminas de açúcares sintetizadas, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	87
<b>Tabela 14.</b> Valores de CET obtidos para os ésteres de açúcares aniônicos sintetizados, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	94

---

---

<b>Tabela 15.</b> Valores de CET obtidos para as alquilaminas de açúcares aniônicas sintetizadas, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	99
<b>Tabela 16.</b> Valores de CET obtidos para os Span aniônicos, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	107
<b>Tabela 17.</b> Valores de CET obtidos para os surfactantes comerciais, SLE <sub>2</sub> S e OLA, através de tensiometria de anel, a 25 °C.	113
<b>Tabela 18.</b> Valores de CET (em M) de amostras de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, obtidas por MIM, MIE e MIP, através das curvas de tensiometria, a 25 °C.	128
<b>Tabela 19.</b> Composição química do óleo de soja.	153
<b>Tabela 20.</b> Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+metanol, obtidos por injeção metanólica, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.	164
<b>Tabela 21.</b> Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+etanol, obtidos por injeção etanólica, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.	167
<b>Tabela 22.</b> Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+2-propanol, obtidos por injeção de 2-propanol, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.	170

---

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

- (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO** – dimetilsulfóxido deuterado
- CET** – concentração de estabilização da tensão superficial
- CMC** – concentração micelar crítica
- CPP** – do inglês, *critical packing parameter*
- D<sub>2</sub>O** – água deuterada
- DLS** – do inglês, *Dynamic Light Scattering*
- DMF** – dimetilformamida
- DMSO** – dimetilsulfóxido
- DPPC** – dipalmitoilfosfatidilcolina
- DTAB** – brometo de dodeciltrimetilamônio
- FPB** – fragmentos planares de bicamadas
- HLB** – do inglês, *Hydrophilic-Lipophilic Balance*
- HSO<sub>3</sub>Cl** – ácido clorosulfúrico
- IE (%)** – índice de emulsificação
- MLV** – vesícula unilamelar grande
- MIE** – método de injeção de etanol
- MIM** – método de injeção de metanol
- MIP** – método de injeção de propanol
- NaOH** – hidróxido de sódio
- NaHCO<sub>3</sub>** – bicarbonato de sódio
- NEt<sub>3</sub>·SO<sub>3</sub>** – complexo de trietilamina-trióxido de enxofre
- O/W** – óleo-em-água
- Pir·SO<sub>3</sub>** – complexo de piridina-trióxido de enxofre
- POPC** - fosfatidilcolina
- RMN <sup>1</sup>H** – ressonância magnética nuclear de próton
- RMN <sup>13</sup>C** – ressonância magnética nuclear de carbono
- rpm** – rotações por minuto
- SDS** – dodecil sulfato de sódio
- Span** – ésteres de sorbitano
- TLC** – cromatografia de camada fina
- TMS** – tetrametilsilano
- W/O** – água-em-óleo
-

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{\AA}$  – Ångström

$a_0$  – área interfacial mínima ocupada pelo grupo hidrofílico

$A_{CE}$  – altura da camada emulsificada

$A_T$  – altura total

$D$  – coeficiente de difusão

$E_{24, 48, 72}$  – emulsificação às 24, 48 e 72 h

$\gamma$  – tensão superficial

$k_B$  – constante de Boltzmann

$K_p$  – coeficiente de partição

$l_c$  – comprimento da cadeia hidrofóbica

$M$  – massa molecular

$M_h$  – massa molecular do grupo hidrofílico

$\eta$  – viscosidade do meio

$P_c$  – parâmetro crítico de empacotamento

$R_H$  – raio hidrodinâmico

$T$  – temperatura

$T_g$  – temperatura de transição vítrea

$v$  – volume dos grupos hidrofóbicos

---

---

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>25</b>
1.1 Motivação	25
1.2 Surfactantes	26
1.3 Classificação de surfactantes	29
1.3.1 Surfactantes catiônicos	29
1.3.2 Surfactantes aniônicos	30
1.3.3 Surfactantes zwitteriônicos (bipolares)	30
1.3.4 Surfactantes não-iônicos	31
1.4 Surfactantes sintéticos à base de fontes renováveis	31
1.5 Surfactantes à base de açúcares	32
1.5.1 Ésteres de ácidos graxos de açúcares	34
1.5.2 Aminas graxas de açúcares	35
1.6 Síntese Química de surfactantes de açúcares	36
1.6.1 Síntese química de ésteres de açúcares	36
1.6.2 Síntese química de aminas de açúcares	38
1.6.3 Síntese química de ésteres e aminas de açúcares aniônicos	40
1.7 Propriedades e relação estrutura-atividade de ésteres e aminas de açúcares	41
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>45</b>
<b>3 SEÇÃO EXPERIMENTAL</b>	<b>46</b>
3.1 Reagentes e solventes utilizados na caracterização físico-química de surfactantes de açúcares comerciais (Span)	46
3.2 Reagentes e solventes utilizados nas sínteses dos surfactantes de açúcares	47
3.3 Técnicas utilizadas	49
3.3.1 Método de Injeção	49
3.3.2 Índices de Emulsificação (%)	51
3.3.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	52
3.3.4 Tensiometria	52
3.3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	53
3.3.6 Cromatografia de camada fina e Coluna cromatográfica	54
3.4 Síntese de ésteres e aminas de açúcares não-iônicos	54
3.4.1 Procedimento para a síntese de ésteres de açúcares não-iônicos	54
3.4.2 Procedimento para a síntese de aminas de açúcares não-iônicas	56
3.5 Síntese de ésteres e aminas de açúcares aniônicos	58

---

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>63</b>
<b>4.1 Síntese de Surfactantes de Açúcares</b>	<b>63</b>
4.1.1 Síntese Química de surfactantes à base de açúcares	63
4.1.1.1 Reação de esterificação para a síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos	63
4.1.1.2 Reação de síntese de alquilaminas de açúcares	69
4.1.1.3 Reações de sulfonação para a síntese de surfactantes de açúcares aniônicos	72
<b>4.2 Propriedades físico-químicas e interfaciais de surfactantes de açúcares não-iônicos, sintetizados quimicamente</b>	<b>77</b>
4.2.1 Ésteres de açúcares não-iônicos	77
4.2.2 Alquilaminas de açúcares não-iônicas	84
<b>4.3 Propriedades físico-químicas e interfaciais dos surfactantes de açúcares aniônicos, sintetizados quimicamente</b>	<b>90</b>
4.3.1 Ésteres de Açúcares aniônicos sintetizados	91
4.3.2 Aminas de Açúcares aniônicas sintetizadas	96
4.3.3 Ésteres de sorbitano aniônicos	101
4.3.4 Surfactantes comerciais usados em detergentes	110
<b>4.4 Span: surfactantes de açúcares comerciais</b>	<b>115</b>
4.4.1 Produção de vesículas de Span pelo método de injeção	115
<b>4.5 Explicação teórica do método de injeção</b>	<b>130</b>
<b>4.6 Estudo preliminar dos índices de emulsificação (EI) dos sistemas de Span obtidos pelo método de injeção de álcool</b>	<b>138</b>
<b>4.6.1 Dispersões de Span obtidas pelo Método de Injeção de Metanol</b>	<b>139</b>
4.6.1.1 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexano	139
4.6.1.2 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em decano	142
4.6.1.3 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexadecano	145
4.6.1.4 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em óleo de soja	147



---

4.6.1.5 Efeito da concentração de Span e do comprimento da gordura emulsificada no índice de emulsificação (EI)	150
4.6.1.6 Efeito da estrutura molecular e da concentração de Span no índice de emulsificação (EI)	154
<b>4.7 Tensão Interfacial de sistemas de Span obtidos pelo método de injeção de álcool em fases dispersas para formação de emulsões O/W</b>	<b>161</b>
4.7.1 Tensão interfacial dos sistemas de Span e metanol com as diferentes fases dispersas	162
4.7.2 Tensão interfacial dos sistemas de Span e etanol com as diferentes fases dispersas	165
4.7.3 Tensão interfacial dos sistemas de Span e 2-propanol com as diferentes fases dispersas	168
<b>5 CONCLUSÃO</b>	<b>179</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>181</b>
<b>Anexos</b>	<b>188</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Motivação

O petróleo é o combustível mais utilizado no planeta, o que faz dele um dos responsáveis pelo desenvolvimento econômico e social de praticamente todos os países. Apesar de ser uma fonte de energia não-renovável, a sua prospecção e exploração são feitas repetidamente e sem, praticamente, nenhum controle a nível de danos ambientais, causados pela sua queima e emissão de compostos tóxicos.

Uma vez que o petróleo provém de fontes não-renováveis, o seu tempo de vida é limitado pelo que se torna imperativo a descoberta e desenvolvimento de alternativas energéticas e de produtos provenientes do petróleo que sejam sustentáveis e que vão ao encontro a normas ambientais cada vez mais aplicadas pela indústria.

Surfactantes, ou moléculas tensoativas, são dos compostos mais produzidos e consumidos no Mundo. Surfactantes sintéticos foram introduzidos em nosso cotidiano graças às suas propriedades de limpeza, dispersão, formação de espuma e emulsificação, o que faz destes compostos os principais componentes de produtos de limpeza, higiene e alimentícios.

A grande maioria dos surfactantes sintéticos tem como base produtos que provêm de fontes não-renováveis, nomeadamente fontes petrolíferas, o que também contribui para a necessidade constante de prospecção e recuperação avançada de petróleo.

Mudanças climáticas, decorrentes de graves problemas ambientais cometidos ao longo dos últimos anos motivados por comportamentos de risco, como o desmatamento de florestas, por exemplo, clamam pela necessidade de encontrar, modificar e aplicar alternativas sustentáveis nas mais variadas áreas industriais.

O estudo de novas moléculas, cujos materiais de partida provêm de fontes renováveis e apresentem elevada capacidade de degradação no meio ambiente, nomeadamente em meios aquáticos, sem que os seus sub-produtos afetem a fauna e a flora, é uma das linhas de investigação que mais tem crescido nos últimos anos.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, o que torna esta planta um dos grandes pilares econômicos do país. Em 2017, foram cultivados no Brasil mais de 10 milhões de hectares e produzidas mais de 750 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. Dada a diversidade de produtos que podem ser produzidos através da cana-de-açúcar, como por exemplo etanol, açúcar, cachaça, sendo, portanto, cada vez mais considerada uma matéria-prima de elevada

importância. Da sua exploração resultam milhões de toneladas de resíduos que são cada vez mais aproveitados para a produção de outros produtos, geração de energia pela queima e adubação de terras.

Devido à grande quantidade de cana-de-açúcares produzida, e apesar de todos os subprodutos obtidos a partir dela, são também gerados milhares de toneladas de resíduos subaproveitados dado que, devido à constituição fibrosa e articulada desta planta, uma quantidade considerável de sacarose continua a ser desperdiçada, mesmo após a sua extração. O uso de métodos químicos de extração das fibras que derivam da cana-de-açúcar, iria possibilitar a extração da quantidade total de sacarose que é desperdiçada e possibilitar o seu uso e aplicação em diversas áreas, como na produção de surfactantes de açúcares, além do próprio consumo.

Os surfactantes à base de açúcares surgem, assim, para ir ao encontro da produção de alternativas sustentáveis, devido a sua origem natural e as suas propriedades excepcionais. Pretende-se que, num futuro próximo, seja possível a total substituição de surfactantes sintéticos provenientes de fontes não-renováveis por esta nova classe de tensioativos.

### 1.2 Surfactantes

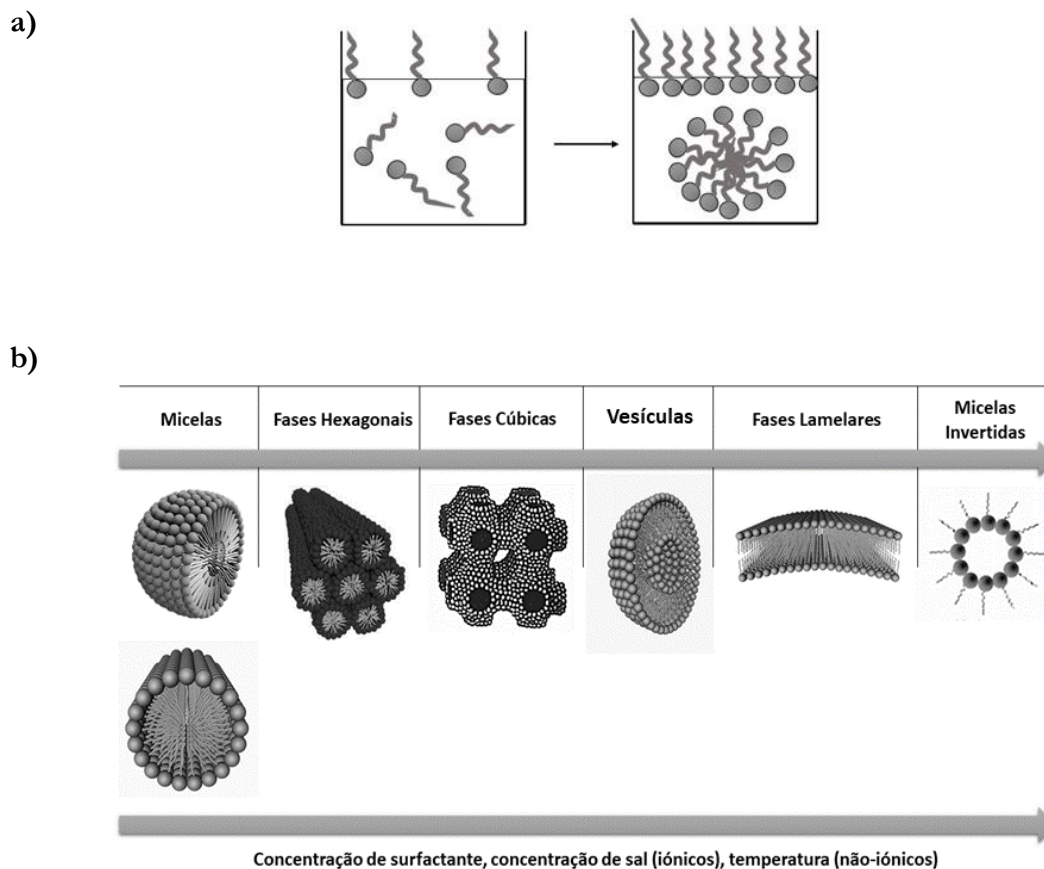
Surfactantes, também chamados de agentes tensioativos, são moléculas anfífilas de origem natural ou sintética. A sua constituição única, formada por uma parte polar (hidrofílica) e outra apolar (hidrofóbica), tem papel fundamental nas características físico-químicas de sistemas e, conseqüentemente, em aplicações em que serão utilizados. A sua estrutura molecular caracteristicamente anfífila confere a estes compostos uma capacidade de auto-associação em solução e de adsorção em interfaces, estabilizando-as (Holmberg 2002, Holmberg *et al.* 2002).

Surfactantes podem adsorver em interfaces sólido-gasoso, sólido-líquido, sólido-sólido, líquido-gasoso, ou líquido-líquido. No entanto, na grande maioria das aplicações destes compostos, utiliza-se fase líquida, nomeadamente água. Assim, o entendimento do comportamento da agregação de surfactantes em água é a base para a compreensão de todos os processos de atividade destas moléculas e, conseqüentemente, de aplicações práticas destes sistemas (Holmberg *et al.* 2002).

Quanto maior a tendência do surfactante em diminuir a energia livre de uma interface, maior a sua capacidade de adsorver nela, e mais tensioativo será esse surfactante. A energia livre interfacial por unidade de área, ou tensão interfacial ( $\gamma$ ), representa a quantidade de trabalho necessário para expandir essa interface. Quando a fronteira entre os dois componentes da interface

é totalmente ocupada por moléculas surfactantes, a tensão interfacial é diminuída a um valor mínimo (Roberts e Association 2012). Após atingir esse limite de saturação da interface, o excesso de moléculas surfactante permanece em solução, na forma de monômero e de estruturas auto-organizadas como micelas (esféricas, cilíndricas ou reversas) e, em concentrações maiores, fases hexagonais, fases cúbicas, fases lamelares ou vesiculares, mais complexas como representado na Figura 1 (Holmberg *et al.* 2002).

**Figura 1.** Representação do comportamento de surfactantes em água (a), e representação dos possíveis agregados formados por moléculas de surfactantes em solução aquosa.



Fonte: Adaptado de (Mittal e Shah 2002).

Os agregados acima descritos são formados de maneira a que o contato da parte hidrofóbica do surfactante seja o mínimo possível com as moléculas da água (solvente), enquanto a porção hidrofílica fique exposta ao meio aquoso. A forma que os agregados vão adquirir vai corresponder sempre à de mínima energia livre possível do sistema (Gennis 1989).

A estrutura molecular do surfactante é o fator principal que determina a estrutura dos agregados formados por eles, e vai depender de aspetos como volume de van der Waals da

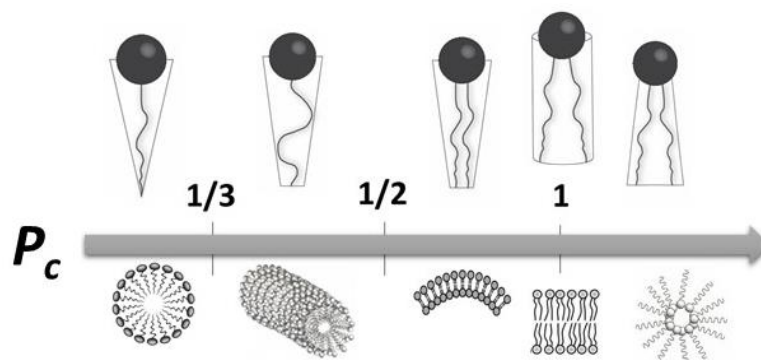
molécula, esfera de hidratação da região (cabeça) polar, ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e o comprimento e grau de saturação das cadeias alquílicas.

O empacotamento da auto-organização de moléculas anfifílicas relaciona a energia livre de associação com três parâmetros geométricos: 1) a área interfacial mínima, ocupada pelo grupo hidrofílico,  $a_0$ ; 2) o volume da(s) cauda(s) hidrofóbica(s),  $v$ , e 3) o comprimento máximo da cadeia hidrofóbica,  $l_c$ . Estes três parâmetros são relacionados através do chamado parâmetro crítico de empacotamento ( $P_c$ ), usado para prever o tipo e forma dos agregados na conformação de energia livre mínima, dado pela Eq. 1 (Park *et al.* 2010).

$$P_c = \frac{a_0 l_c}{v} \quad (1)$$

Se  $v \sim a_0 l_c$  o surfactante é praticamente simétrico, o  $P_c \sim 1$  e o surfactante irá empacotar em fases cúbicas ou lamelares. Se o grupo polar do surfactante for muito grande e o volume ocupado pelo grupo apolar reduzido, então o  $P_c < 1/3$  o que permitirá ao surfactante a agregação na forma de micelas. Quando temos  $1/3 < P_c < 1/2$  torna-se possível a formação de empacotamentos hexagonais. Por fim, quando a parte apolar grande ( $v$  elevado) e um grupo polar pequeno, o  $P_c > 1$  e os surfactantes formarão micelas invertidas. A forma dos agregados, com base na estrutura efetiva das moléculas anfifílicas e valor de  $P_c$ , é apresentada na Figura 2.

**Figura 2.** Geometria de estruturas anfifílicas.



Fonte: Adaptado de (Holmberg *et al.* 2002).

A capacidade do surfactante se auto-agregar em solução é uma de suas principais propriedades, visto que os agregados formados têm, em seu interior, o espaço necessário para nanocompartimentar moléculas hidrofílicas ou hidrofóbicas, permitindo que suas aplicações vão de detergente de limpeza (incorporando gorduras e sujeira no seu interior) até sistemas

carreadores de drogas (*drug delivery*), uma vez que podem encapsular moléculas com as mais variadas características.

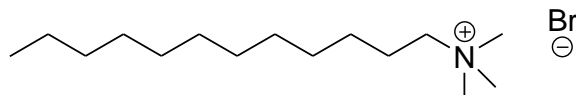
## 1.3 Classificação de surfactantes

Os surfactantes são classificados em quatro categorias, de acordo com a carga elétrica de sua parte polar. A presença ou ausência de carga afeta de forma determinante as propriedades gerais dos agregados de surfactantes (O'Rear 2015).

### 1.3.1 Surfactantes Catiônicos

Os surfactantes catiônicos são uma das principais classes com grande leque de aplicação. A carga positiva é adquirida pela presença de nitrogênio na constituição da molécula, como os sais de amônia quaternária, representado na Figura 3, que em solução aquosa se dissocia do seu contraíon, Br<sup>-</sup>.

**Figura 3.** Estrutura molecular do brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB).



Esta classe de surfactante também pode ser usada como agente de limpeza, nomeadamente em produtos de higiene pessoal, pois apresentam uma elevada capacidade de adsorção em superfícies negativamente carregadas. No entanto, eles são mais conhecidos pelas suas excelentes propriedades bactericidas, uma vez que têm atividade contra um grande número de organismos gram-positivos e alguns gram-negativos, assim como são fortemente utilizados como veículos de DNA. Estes surfactantes também se caracterizam por apresentar baixa biodegradabilidade e baixa compatibilidade com outros materiais (Holmberg 2002, Ruiz 2009).

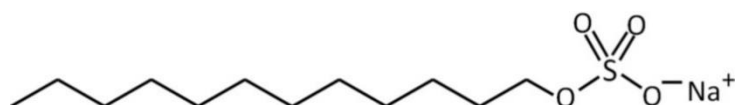
### 1.3.2 Surfactantes Aniônicos

Surfactantes aniônicos são a classe mais produzida industrialmente a nível mundial, uma vez que sua produção é fácil e economicamente favorável, e caracterizam-se por serem a classe de surfactantes mais importante e mais utilizada em grande escala em produtos de limpeza (com elevada performance de remoção de sujidade) e também em formulações farmacológicas e cosméticos (Holmberg *et al.* 2002, Lavergne *et al.* 2011).

Carboxilatos, sulfatos, sulfonatos e fosfatos são os grupos polares mais encontrados em surfactantes aniônicos.

Alguns surfactantes aniônicos, como o dodecil sulfato de sódio (SDS) representado na Figura 4, apresentam atividade biológica.

**Figura 4.** Estrutura molecular do dodecil sulfato de sódio (SDS).



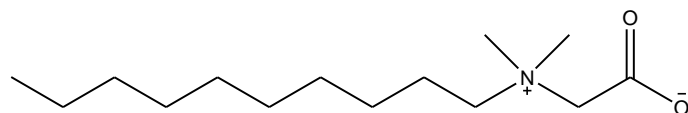
### 1.3.3 Surfactantes zwitteriônicos (bipolares)

Surfactantes zwitteriônicos têm em sua constituição uma carga aniônica e outra catiônica, simultaneamente, sendo também denominados de surfactantes bipolares. Por norma, a carga positiva é conferida pelo sal de amina ou grupo de amônio quaternário, enquanto a parte aniônica é obtida através de grupos carboxilatos, sulfonatos ou fosfatos.

Surfactantes à base de betaína são exemplo mais comum desta classe de surfactantes e também as mais utilizadas em nível industrial, tendo uma forte aplicação em produtos de higiene pessoal, como shampoos, sabonetes líquidos ou loções de limpeza. Um exemplo dessa classe de surfactantes é o laurato de betaína, cuja estrutura é representada na Figura 5.

Estes surfactantes apresentam baixa toxicidade, propriedades bactericidas, elevada resistência a águas duras e elevada compatibilidade com vários tipos de surfactantes (O'Rear 2015).

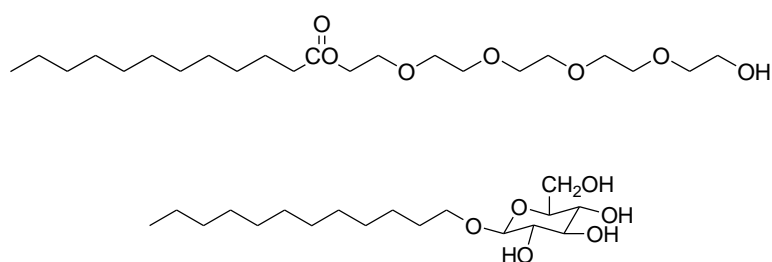
**Figura 5.** Estrutura molecular do laurato de betaína.



### 1.3.4 Surfactantes Não-iônicos

Surfactantes não-iônicos são a segunda classe de surfactantes mais importante e produzida industrialmente e caracteriza-se pelo fato de o seu grupo polar se apresentar numa forma neutra, não ionizável. Os principais surfactantes não-iônicos apresentam, como parte polar, grupos poliéter, consistindo em unidades de oxietileno, ou polihidroxil, como exemplificado na Figura 6.

**Figura 6.** Estrutura molecular de (a) ácido graxo etoxilado e (b) alquil glicosídeo.



Os surfactantes não-iônicos destacam-se dos demais por apresentarem concentrações micelares críticas (CMC) ultra-baixas, insensibilidade a sais e água dura, baixa irritabilidade para a pele e grande sensibilidade à temperatura, à exceção dos surfactantes de açúcares. Estas características fazem destes surfactantes ótimos aliados em indústrias de cosméticos, farmacêuticas, produtos alimentares e, acima de tudo, em indústrias de detergentes (Lee *et al.* 2016).

Das subclasses de surfactantes não-iônicos, aquela que mais tem se destacado nos últimos anos são os surfactantes à base de açúcares.

## 1.4 Surfactantes sintéticos à base de fontes renováveis

Apesar de existir ainda algumas divergências quanto à origem de determinados surfactantes, é hoje aceito pela comunidade científica a divisão dos surfactantes em duas grandes classes: surfactantes naturais e surfactantes sintéticos (Mulligan 2005, Razafindralambo *et al.* 2012, Khadydja *et al.* 2016).

Os surfactantes naturais, ou biosurfactantes, provêm da fermentação microbiana, de plantas e animais, embora a quantidade obtida através destas fontes não seja suficiente para serem



utilizados em escala industrial. Já os surfactantes sintéticos, que podem ser produzidos a partir de síntese química, síntese enzimática, ou síntese químico-enzimática, são ainda divididos em duas subclasses, de acordo com a origem dos seus materiais de partida, uma vez que estes podem provir de fontes renováveis ou não-renováveis (Razafindralambo *et al.* 2012).

Os surfactantes sintéticos, cujos materiais de partida são obtidos de fontes não-renováveis, são os mais utilizados industrialmente e são derivados da petroquímica, uma vez que os materiais usados na sua obtenção provêm do *cracking* (quebra) da nafta. Os principais exemplos, são os surfactantes à base de etileno, polioxietileno, etc, que dada a sua origem apresentam elevada toxicidade para os ecossistemas e são dificilmente degradados no meio ambiente (Holmberg 2001, Holmberg *et al.* 2002, Mańko e Zdziennicka, 2015).

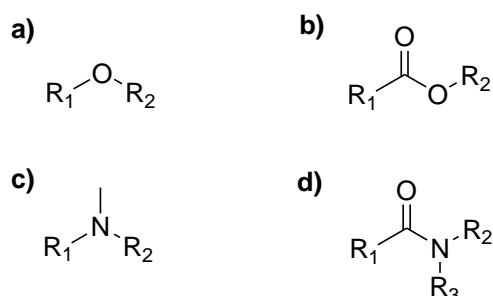
Os surfactantes sintéticos à base de fontes renováveis são os que mais interesse e crescimento têm apresentado nos últimos anos. A possibilidade de utilizar compostos de partida naturais, para a obtenção de moléculas com propriedades únicas, é hoje uma realidade cada vez mais presente em laboratórios e indústrias. Neste sentido, destacam-se os surfactantes à base de açúcares (Ruiz 2009).

### **1.5 Surfactantes à base de açúcares**

Os surfactantes à base de açúcares são não-iônicos, constituídos por moléculas de açúcares na sua parte hidrofílica, na forma monomérica (como a glicose, frutose ou o sorbitol), dimérica (como a sacarose ou lactose), ou polimérica (como o amido, celulose, quitina, polissacarídeos) (Koõš 2013).

Os açúcares, constituintes da parte hidrofílica do surfactante, podem encontrar-se ligados à parte hidrofóbica por meio de ligações glicosídicas, quando os grupos hidrofóbicos são álcoois graxos, ou então podem encontrar-se ligados a moléculas de ácidos graxos por meio de ligações éster, éter, amina ou amida, representadas na Figura 7 (Stubenrauch 2001). O tipo de ligação existente entre as partes hidrofílica e hidrofóbica tem um papel fundamental nas propriedades físico-químicas do surfactante e, conseqüentemente, em suas aplicações (Ruiz 2009). A ligação éter é uma ligação forte e, embora confira liberdade rotacional à molécula, não é facilmente degradável no meio ambiente. A presença do grupo amida confere à molécula de surfactante uma ligação estável, alguma resistência a hidrólises ácidas e básicas, é facilmente degradada na natureza, mas reduz a solubilidade em água.

**Figura 7.** Estrutura das principais ligações usadas para unir as metades hidrofílica e hidrofóbica dos surfactantes de açúcares. a) éter; b) éster; c) amina; d) amida.



Com a ligação amina, a molécula de surfactante possui também liberdade rotacional, mas este grupo reage em condições ácidas conferindo ao surfactante carga catiônica. Por fim, a ligação éster é caracterizada por ser uma ligação fraca entre ambas as partes do surfactante, o que as torna flexíveis e facilmente degradadas na natureza, pois são facilmente hidrolisáveis em pH não neutros (Piispanen 2002).

As possibilidades estruturais dos surfactantes de açúcares são quase infindáveis. Para além da escolha da ligação que unirá as duas partes do surfactante, é possível escolher o número, existência de insaturações e ramificações, e comprimento da cadeia carbonada, que atuará como grupo apolar, assim como a molécula de açúcares, que atuará como grupo polar, que pode ser escolhida entre mono-, di-, oligo- e polissacarídeo, e das alterações estruturais que são passíveis de realizar nas mesmas, dada o elevado número de grupos hidroxila ligados ao anel da molécula de açúcares (Razafindralambo *et al.* 2012). Esta diversidade estrutural faz dos surfactantes à base de açúcares alvos para os mais variados ramos industriais, especialmente para as indústrias de detergentes, cosmética e farmacêutica.

Para além das vantagens relacionadas à sua estrutura, do fato de seus materiais provirem de fontes naturais e renováveis, e das vantagens anteriormente referidas da classe de surfactantes não-iônicos, os surfactantes de açúcares destacam-se dos demais por apresentarem características tão importantes como a sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e biodisponibilidade, e pelo fato de apresentarem propriedades interfacial mais pronunciadas, do que os surfactantes sintetizados com matérias-primas não-renováveis. Estas características fazem dos surfactantes de açúcares a classe mais promissora dos próximos anos (Ruiz 2009, Razafindralambo *et al.* 2012, Koóš 2013, Farrán *et al.* 2015, Lu *et al.* 2016).

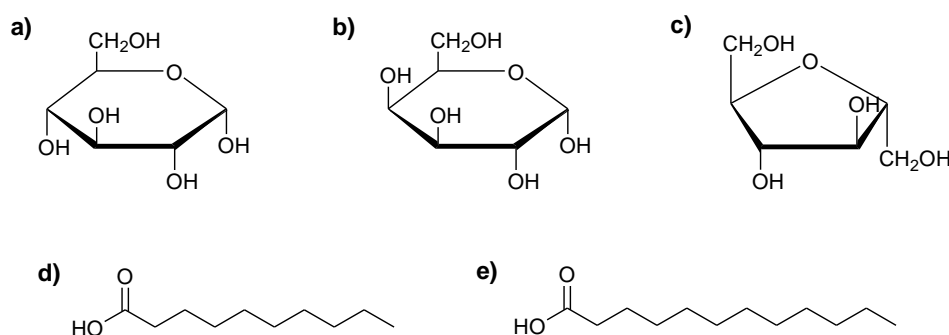
Este trabalho centrou-se na síntese e estudo de ésteres de ácidos graxos de açúcares, uma das maiores e mais importantes classes de surfactantes à base de açúcares, e alquilaminas de açúcares, cujos estudos ainda não são muito desenvolvidos e, portanto ainda não estão definidas as suas propriedades interfacial e nem as suas possíveis aplicações.

### 1.5.1 Ésteres de ácidos graxos de açúcares

Ésteres de ácidos graxos de açúcares, são surfactantes cuja parte polar é constituída por moléculas de açúcares, e a parte apolar consiste em cadeias hidrocarbônicas de ácidos graxos, em que ambas as partes são ligadas por ligações éster (Ahmad 2017).

Nas sínteses realizadas neste trabalho, para a obtenção de ésteres de açúcares, foram usados glicose, galactose e frutose como grupos hidrofílicos, e os ácidos cáprico, e láurico como grupos lipofílicos, cujas estruturas são representadas na Figura 8.

**Figura 8.** Estrutura molecular dos açúcares a) glicose, b) galactose, c) frutose), e ácidos graxos (d) ácido cáprico, e) ácido láurico usados neste trabalho.



Os hidratos de carbono escolhidos tanto podem ser de ocorrência forma ou obtidos através de quebra de ligação glicosídica de outros açúcares poliméricos, promovida por reações de aquecimento com soluções ácidas. Através dessa reação, a glicose pode provir da celulose, amido, sacarose, lactose e trealose, a frutose pode ser obtida a partir da sacarose, e a galactose através da lactose (Robyt 1998).

Para além das características já discutidas, relativas à biodegradabilidade e biocompatibilidade, baixa toxicidade, sem odor e sabor, e de serem compatíveis com a pele, os ésteres de açúcares têm ganho importância na indústria farmacêutica nos últimos anos, pois verificou-se que possuem propriedades antimicrobianas, antibacterianas e antitumorais (Ahmad 2017).

Os únicos ésteres de açúcares produzidos industrialmente, através de sínteses químicas, e vendidos comercialmente, são os ésteres de sacarose (Soultani *et al.* 2003).

### 1.5.2 Aminas graxas de açúcares

Surfactantes de alquilaminas de açúcares são não-iônicos, cuja metade polar é uma molécula de açúcares que tem ligado no seu carbono anomérico uma amina graxa, que constitui a metade apolar do surfactante. Este tipo de surfactantes de açúcares pode adquirir, simultaneamente, características gerais de surfactantes não-iônicos e iônicos. Estes apresentam um ponto de turvação (*cloud point*) elevado e são resistentes a variações de temperatura, ao contrário dos surfactantes não-iônicos convencionais, e à presença de sais (Pu *et al.* 2017). Através da introdução de grupos sulfonato à metade polar estes surfactantes adquirem características aniônicas e a sua solubilidade em água é melhorada, quando comparada a seus homólogos não-iônicos.

Surfactantes de amina com grupos polares derivados de açúcares são de extremo interesse como alternativa aos surfactantes não-iônicos à base de aminas do tipo tradicional, como as alquilaminas de longa cadeia etoxiladas. É esperado que um aumento da quantidade de constituintes naturais na estrutura do surfactante seja benéfico para reduzir a toxicidade aquática e aumentar a taxa de biodegradabilidade. Surfactantes de alquilaminas com grupos polares de polioxietileno são considerados tóxicos para organismos aquáticos, e alquilaminas com longas cadeias de oxietileno não são facilmente biodegradáveis. A biodegradação de alquilaminas etoxiladas é iniciada pela degradação da cauda hidrofóbica, seguida pela degradação lenta da cadeia de aminopolioxietileno. Acredita-se que a toxicidade dos surfactantes de alquilamina etoxilada seja resultado da sua tendência para adsorver em superfícies carregadas negativamente. Na natureza, a maioria das superfícies contém uma carga levemente negativa que atrai surfactantes carregados positivamente, e as alquilaminas etoxiladas têm um caráter catiônico em pH neutro e baixo. Surfactantes de açúcares à base de aminas são menos tóxicos e têm mostrado elevadas taxas de biodegradação (Oskarsson *et al.* 2007, Biresaw e Mittal 2013).

Na literatura estão descritos diversos métodos de sínteses para obtenção de surfactantes de aminas de açúcares com diversas alterações estruturais, importantes nas propriedades que a molécula vai apresentar (Mitts e Hixon 1944, Menger *et al.* 1997, Bazito e El Seoud 2002, Oskarsson *et al.* 2007, Soussan *et al.* 2008, Misiak *et al.* 2013, Zhi *et al.* 2013, Li *et al.* 2014, Salman *et al.* 2015). Quanto aos estudos de aplicações práticas que essas moléculas possam vir a ter, os mais relevantes focam no estudo da capacidade desses surfactantes para formação e estabilização de emulsões W/O e O/W, e na capacidade de substituírem os surfactantes usados atualmente na remoção avançada de petróleo (Azim *et al.* 2010, Pu *et al.* 2017).

Os surfactantes de aminas de açúcares mais conhecidos, têm a glicose como parte polar. Tanto quanto é possível saber, só foram sintetizadas aminas de açúcares com outros grupos hidrofílicos, que não a glicose, com a lactose (Menger *et al.* 1997, Bhattacharya e Acharya 1999,

Dhruv *et al.* 2005) e maltose (Eastoe *et al.* 2000), não se tendo encontrado na literatura recente estudos ou sínteses de alquilaminas com outros açúcares como parte polar.

Neste trabalho foram sintetizados surfactantes de aminas de açúcares com glicose e galactose, com as aminas graxas decilamina e dodecilamina, na sua forma não-iônica e aniônica, através da introdução de grupos sulfato.

### **1.6 Síntese Química de Surfactantes de Açúcares**

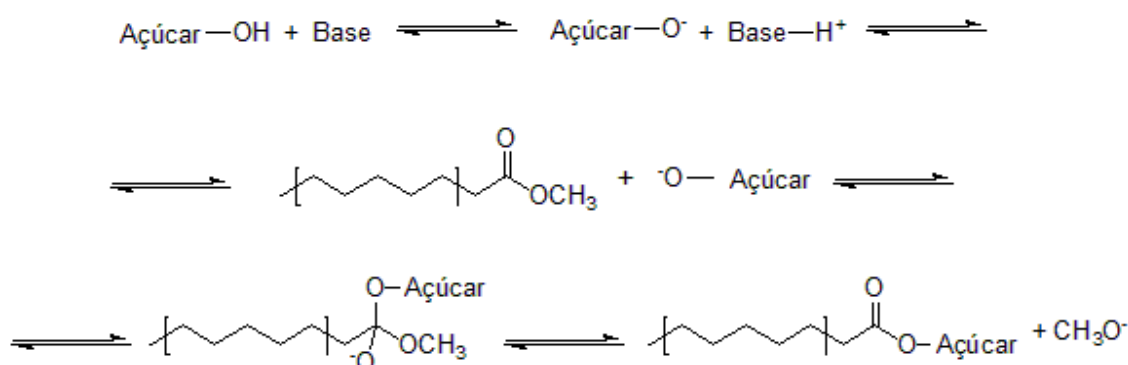
Os surfactantes são classificados de acordo com a presença ou ausência de carga nos seus grupos hidrofílicos, sendo que esta característica influencia de forma determinante, as propriedades físico-químicas e a atividade superficial dos mesmos, bem como as suas aplicações (Holmberg *et al.* 2002).

Nas sub-seções 1.6.1 a 1.6.3 são descritos os métodos de sintetizar quimicamente ésteres e aminas de açúcar não-iônicos e de, através desses surfactantes não-iônicos subsequentes, sintetizar ésteres e aminas de açúcares aniônicos.

#### **1.6.1 Síntese Química de Ésteres de Açúcares**

Os ésteres de ácidos graxos de açúcares podem ser sintetizados com compostos provenientes de fontes renováveis (açúcares e ácidos graxos), através de reações de esterificação, segundo a reação do Esquema 1. Esta reação é a única a ser usada industrialmente para a síntese de ésteres de açúcares comerciais (Gumel *et al.* 2011).

**Esquema 1.** Mecanismo da reação de esterificação usada para sintetizar quimicamente ésteres de ácidos graxos de açúcares.



Os ésteres de açúcares podem ser obtidos através de síntese química ou síntese enzimática. Uma vez que estes compostos derivam de produtos naturais e são sustentáveis, a preferência por métodos de produção ambientalmente mais inócuos deve ser levada em conta.

Há várias referências na literatura que descrevem a obtenção de ésteres de açúcares através de vários métodos de síntese química, nomeadamente pela utilização de cloretos de ácido ou ácidos graxos vinílicos (Vlahov *et al.* 1997, Bazin *et al.* 1998, Plat e Linhardt 2001, Yin *et al.* 2014).

A síntese química é, até ao momento, o único método de produção de surfactantes de ésteres de açúcares em escala industrial (Soultani *et al.* 2003). Neste método a reação é efetuada em temperaturas elevadas (>100 °C), o que requer um elevado consumo energético. Além disso, têm de ser usados catalisadores alcalinos que podem favorecer a formação de produtos secundários, e permanecer no produto final (Tai e Brunner 2009, Gumel *et al.* 2011). A síntese química de surfactantes de açúcares tem como grande limitação o fato de não ser seletiva e apresentar baixa regioseletividade, uma vez que a presença de vários grupos hidroxila nos açúcares pode promover a possibilidade de formação de um produto com elevado grau de substituição (van Kempen *et al.* 2013). van den Broek e Boeriu (2013) afirmaram que, uma vez que a síntese química é não-seletiva, tanto os álcoois primários como os secundários dos açúcares, podem ser substituídos. Este fato não foi verificado neste trabalho, uma vez que em moléculas de açúcares com um álcool primário e um ou mais álcoois secundários, ocorreu majoritariamente a monosubstituição do álcool primário e, conseqüentemente, a produção de um monoéster de glicose e galactose puros, como comprovado pelos estudos de ressonância magnética nuclear.

A síntese enzimática de surfactantes de açúcares, embora tenha crescido nos últimos anos, e sendo o método preferencial de síntese pela grande maioria dos grupos de investigação, por apresentar diversas vantagens, apresenta também algumas limitações. A síntese enzimática é

considerada o método mais favorável, a nível ambiental e estrutural, pois para além de ser realizada em temperaturas moderadas, caracteriza-se por ser um método de elevada regio-, estéreo- e enantioselectividade, o que permite um grande controle da estrutura dos produtos que se pretendem obter. No entanto, a síntese enzimática apresenta duas grandes limitações: a escolha do solvente da reação que, devido à diferença na polaridade dos reagentes, exige a escolha de solventes orgânicos mais tóxicos, como o dimetilsulfóxido (DMSO) ou a dimetilformamida (DMF), sendo este um dos pontos desfavoráveis deste método de síntese (van Kempen *et al.* 2013). A outra desvantagem da síntese enzimática se deve ao fato de ser necessária a presença de uma enzima (por norma, uma lipase) imobilizada. As enzimas imobilizadas disponíveis comercialmente apresentam custos elevados; além disso, o procedimento laboratorial para a imobilização da mesma é complexo e demorado, inviabilizando para já o uso desta síntese para a produção industrial de surfactantes de açúcares.

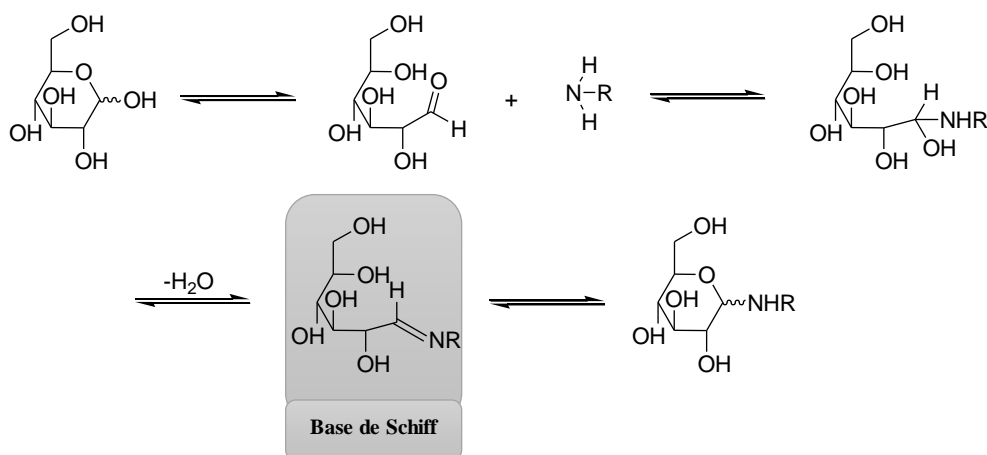
Uma vez que um dos objetivos principais desta Tese é a síntese de novos ésteres de açúcares para futura produção e aplicação industrial, foi escolhida a síntese química como método de síntese dos novos surfactantes.

### 1.6.2 Síntese Química de Aminas de Açúcares

A presença de um número elevado de grupos hidroxila nas moléculas de açúcares possibilita a produção de variados produtos, desde hidrogéis a polímeros naturais. Em reações para se obter alquilaminas de açúcares, estes grupos hidroxila são substituídos por moléculas alquílicas de aminas.

Através de uma análise da literatura percebe-se que, das aminas de açúcares mais estudadas e obtidas, encontram-se as glucosaminas alquílicas, cuja metade polar é a glicose.

Estes surfactantes são sintetizados com base na reação de Maillard, cujo esquema mecanístico é descrito no Esquema 2 (Tamanna e Mahmood 2015).

**Esquema 2.** Mecanismo de formação das alquilaminas de glicose.

A reação de Maillard é uma das reações mais utilizadas no nosso dia-a-dia, pois é ela a responsável pelo sabor de muitos dos alimentos que cozinhamos, através da sua ocorrência os alimentos adquirem tom acastanhado. Esta reação ocorre através da reação de moléculas de aminoácidos, e seus derivados, com moléculas de açúcares redutores. Esta reação é dividida em três etapas principais: formação do produto Amadori (ausência de cor); desidratação e fragmentação das moléculas de açúcares, assim como a degradação dos aminoácidos ou seus derivados; e por fim, condensação aldólica dos produtos formados na etapa anterior e formação de compostos de nitrogênio heterocíclicos, as melanoidinas, que se caracterizam pela presença de cor, nomeadamente uma cor acastanhada (Zhang *et al.* 2009).

Para a síntese de alquilaminas de açúcares o primeiro passo é o mais importante da reação de Maillard, pois os surfactantes obtidos serão glicosilaminas. Neste primeiro passo ocorre a condensação do grupo carbonila da molécula de açúcares com a amina, ocorrendo a formação de uma imina, seguida de um ataque do oxigênio da hidroxila à imina, resulte na formação de glicosilaminas (Zhang *et al.* 2009, Tamanna e Mahmood 2015).

Embora em número reduzido, na literatura encontram-se descritos métodos sintéticos para a obtenção de surfactantes de açúcares modificados com grupos amina na sua forma não-iônica, utilizando a glicose como grupo polar (Mitts e Hixon 1944, Menger *et al.* 1997, Bhattacharya e Acharya 1999, Dhruv *et al.* 2005, Oskarsson *et al.* 2007, Salman *et al.* 2015). A maioria são métodos sintéticos simples, onde o metanol é usado como solvente da reação e as temperaturas em que são realizadas encontram-se entre 30 e 55 °C, e em quase todos os tempos de reação são relativamente curtos. Pela presença do grupo amina na sua constituição, estes surfactantes são os ideais, em termos reacionais, para obter sais de aminas graxas e sais de amônio



quaternário que constituem a grande maioria dos surfactantes catiônicos de açúcares disponíveis até ao momento.

Embora sejam menos conhecidos e estudados do que as amins catiônicas de açúcares, a presença dos grupos hidroxila das moléculas de alquilaminas de açúcares, permite a sua fácil substituição por grupos sulfato, que vai conferir a estes surfactantes carga negativa e, conseqüentemente, adquirir características de surfactantes aniônicos. As alquilaminas de açúcares com grupos sulfato apresentam maior solubilidade em água e maior resistência a alterações de temperatura do que as alquilaminas de açúcares na forma não-iônica (Bazito e El Seoud 2002, Pu *et al.* 2017).

Nesta Tese foram sintetizadas *n*-decil- e *n*-dodecilaminas derivadas de glicose e galactose nas formas não-iônicas, pela reação de Maillard, e aniônicas, ao acrescentar à reação de Maillard um passo de sulfonação do produto da reação de Maillard.

### 1.6.3 Síntese Química de ésteres e amins aniônicos de açúcares

Os ésteres e alquilaminas não-iônicos de açúcares são produzidos industrialmente através de reações de esterificação com catalisadores ácidos ou básicos, ou por reações de transesterificação, e por reações de Maillard, respectivamente (Mitts e Hixon 1944, Osipow *et al.* 1956). Embora apresentem inúmeras vantagens, o maior problema destes surfactantes de açúcares na sua forma não-iônica, traduz-se na sua baixa solubilidade em água, limitando suas aplicações. Um dos procedimentos possíveis para aumentar a solubilidade destas classes de surfactantes de açúcares em água passa pela utilização de rotas sintéticas adicionais, nomeadamente pelo uso de agentes sulfonantes, com os quais é possível a síntese de surfactantes de açúcares aniônicos (Ruiz 2009, Zhi *et al.* 2013).

A metodologia mais utilizada para a síntese de ésteres e amins aniônicos de açúcares consiste na inserção do grupo  $\text{SO}_3$ , através de agentes sulfonantes. No caso dos ésteres de açúcares o grupo  $\text{SO}_3$  pode ser inserido por duas estratégias diferentes: sulfonação de ésteres de ácidos graxos de açúcares ou através de um ataque nucleofílico no éter cíclico do açúcares (Plat e Linhardt 2001). No caso de sulfatos de ácidos graxos de monossacarídeos, uma metodologia fácil para a sua obtenção consiste em fazer reagir o monossacarídeo com  $\text{HSO}_3\text{Cl}$ , ou com o complexo de piridina-trióxido de enxofre ( $\text{Pir}\cdot\text{SO}_3$ ), seguida da sua neutralização com uma base, como  $\text{NaOH}$  ou  $\text{NaHCO}_3$  (Biswas e Mukherji 1960). Outros agentes sulfonantes utilizados para reagir com os açúcares pode ser o ácido sulfúrico na presença de *N,N'*-díciclo-hexilcarbodiimida, ou de anidrido acético, ou ácido clorosulfônico; no entanto, os mais utilizados são os complexos de

trióxido de enxofre com bases de Lewis, que podem ser piridina, DMF ou trietilamina (Ruiz 2009). Para a síntese de alquilaminas de açúcares, o método mais usado consiste na substituição de grupos hidroxila do açúcares por grupos  $\text{SO}_3$  e estes são obtidos majoritariamente através de reações de sulfonação com o complexo de  $\text{Pir}\cdot\text{SO}_3$  (Bazito e El Seoud 2002, Pu *et al.* 2017).

### **1.7 Propriedades e relação estrutura-atividade de ésteres e aminas de açúcares**

Nesta Tese, foram utilizadas ligações éster e amina para ligar as metades hidrofílica e hidrofóbica dos surfactantes sintetizados. Como dito anteriormente, a escolha dessas ligações influencia diretamente as propriedades interfaciais e características físico-químicas das moléculas anfifílicas. Será, portanto, dado especial destaque nesta sub-sessão às principais propriedades dos ésteres de ácidos graxos e alquilaminas de açúcares.

Os ésteres de açúcares anfifílicos, assim como todos os surfactantes, têm a capacidade de se auto-agregarem, podendo formar estruturas variadas em solução aquosa, como por exemplo micelas (Holmberg *et al.* 2002). Na formação de agregados micelares, leva-se em conta uma das propriedades mais importantes e características do surfactante, fortemente afetada por mudanças estruturais na molécula, a CMC. A CMC traduz-se pela concentração mínima de surfactante necessária para a formação de micelas. A tensão superficial dos sistemas diminui com a adição de surfactante até a CMC ser alcançada. A partir desse ponto, a tensão superficial mantém-se constante. A CMC é de elevada importância, uma vez que representa a quantidade de surfactante necessária para solubilizar compostos hidrofóbicos em água (Holmberg *et al.* 2002, O'Rear 2015).

Quanto maior a hidrofobicidade de um surfactante, menor será a tensão superficial. O mesmo efeito tem o aumento do comprimento da cadeia de ácidos graxos e o aumento do grau de esterificação, que promovem a diminuição do valor de CMC dos ésteres de açúcares. Porém, quando se trata da ligação éster ser a ligação usada na união das metades hidrofílicas e hidrofóbicas, o fato do grupo carbonila da ligação éster estar presente torna o grupo apolar mais volumoso e o surfactante mais hidrofóbico. Como consequência, ocorre o aumento das propriedades interfacial e a diminuição da CMC do surfactante.

A presença de uma cadeia insaturada faz com o surfactante migre mais rapidamente para a interface ar-água reduzindo mais rapidamente a tensão superficial comparado com o mesmo surfactante com a cadeia carbonada saturada. Isto se deve ao aumento da hidrofobicidade do surfactante e do seu tempo de adsorção (Razafindralambo *et al.* 2012, Ahmad 2017). Uma vez

que os ésteres de açúcares são muito sensíveis à temperatura, esta afeta a sua formação micelar e atividade superficial. O aumento da temperatura leva à formação de micelas com diâmetros maiores e diminuição da CMC (Ahmad e Xu 2015).

O comportamento térmico dos ésteres de açúcares é uma das propriedades mais importantes no armazenamento e manuseio dos mesmos. Dependendo do grau de substituição, os pontos de fusão dos ésteres de açúcares variam de 40 a 79 °C, sendo que estes compostos são bastante estáveis ao aquecimento. Uma das principais características que os surfactantes não-iônicos apresentam diz respeito aos seus valores de balanço hidrofílico-lipofílico (HLB), que mede o grau de hidrofiliicidade ou lipofiliicidade, com base na sua estrutura molecular, obtida pela equação de Griffin (Equação 2) onde  $M_h$  corresponde à massa molecular da porção hidrofílica do surfactante e  $M$  corresponde à massa molecular total da molécula de surfactante. Os valores de HLB resultam numa escala de 0 a 20.

$$\text{HLB} = 20 \times \frac{M_h}{M} \quad (2)$$

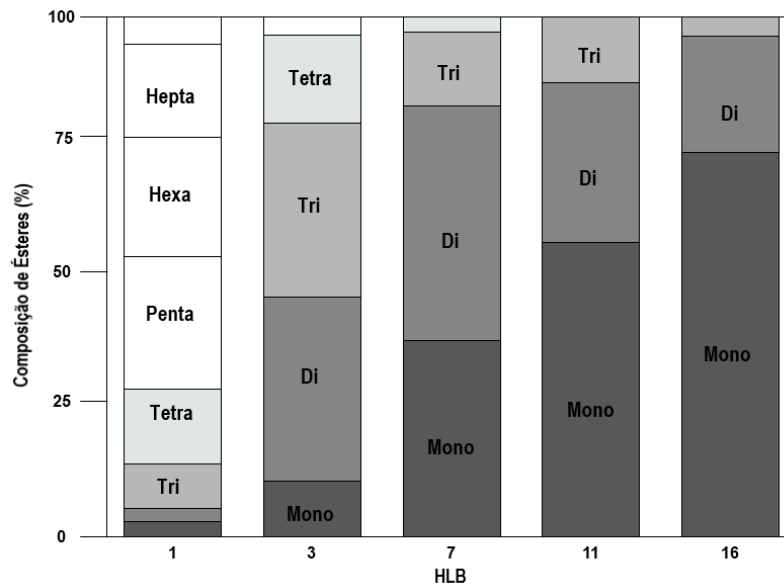
Os ésteres de açúcares, com valores de HLB moderados e elevados, apresentam uma temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e não um ponto de fusão. Já os ésteres de açúcares com valores de HLB baixos, exibem ponto de fusão e recristalizam rapidamente (Ahmad e Xu 2015, Ahmad 2017). Os surfactantes de açúcares tanto podem formar fases líquido-cristalinas termotrópicas no seu estado puro e sob aquecimento, como liotrópicas, com a adição de solventes. Aumentando o tamanho da cadeia carbonada do surfactante, há um aumento da estabilidade térmica em ambas as fases, resultando em temperaturas de transição de fase maiores, devido ao aumento das forças de dispersão entre as moléculas. Os surfactantes de açúcares, que possuem dissacarídeos como grupo polar na sua constituição, apresentam também elevada estabilidade térmica das fases líquido-cristalinas. Este fator tem um efeito mais pronunciado do que o aumento da cadeia carbonada devido ao aumento do número de ligações de hidrogênio entre os grupos polares (Stubenrauch 2001).

Os valores de HLB de um surfactante afetam suas propriedades ativas superficiais à temperatura ambiente, como a solubilidade aquosa, e são uma das principais características a serem consideradas para as futuras aplicações. O valor de HLB do surfactante é afetado pela natureza do grupo polar e pelo comprimento da cadeia carbonada.

O fato das moléculas de açúcares possuírem vários grupos hidroxila em sua constituição faz com que seja possível o controle do grau de esterificação do surfactante. Ou seja, controlando fatores sintéticos como o número de equivalentes dos reagentes, podemos obter produtos finais mono-, di-, tri-, ou multiesterificados. Este controle do grau de esterificação do éster de açúcares

influencia diretamente os valores de HLB da molécula, que varia entre 1 e 20, como esquematizado na Figura 9 e, conseqüentemente, afeta suas propriedades físico-químicas, permitindo a definição de uma aplicação específica para o mesmo (Szúts *et al.* 2007, Tai e Brunner 2009, Ahmad 2017).

**Figura 9.** Esquema da relação entre a composição de ésteres (%) e os valores de HLB de ésteres de açúcares.



Fonte: Adaptado de Ahmad *et al.*, 2015.

O valor de HLB diminui com o aumento do comprimento da cadeia dos ácidos graxos e com o aumento do grau de esterificação do surfactante (Ahmad 2017). Assim, sabe-se que ésteres de açúcares com valores de HLB baixos favorecem a formação de emulsões água-em-óleo (W/O), com valores entre 7 e 9, não são bons agentes molhantes e, com valores de HLB elevados, são os emulsificantes apropriados para emulsões óleo-em-água (O/W) (Ducret *et al.* 1995). Com vista a uma aplicação farmacêutica sabe-se também que surfactantes não-iônicos, como os ésteres de açúcares, podem ou não formar niossomas com base nos seus valores de HLB. A produção de niossomas por parte de surfactantes não-iônicos não ocorre quando estes apresentam valores elevados. Abaixo de 14, ocorre a formação de niossomas (vesículas formadas por surfactantes não-iônicos), mas é num valor de HLB ótimo (8,6) que os ésteres de açúcares formam os niossomas com maior capacidade de aprisionamento de moléculas hidrofóbicas (Kumar e Rajeshwarrao 2011).

O grande poder de emulsificação de ésteres de açúcares quando comparados, por exemplo, aos seus análogos à base de óxido de etileno, é uma das mais consideráveis propriedades desta classe de surfactantes.

Quando os surfactantes adsorvem na interface óleo-água e geram forças repulsivas entre as gotas de emulsão e também criam uma barreira para evitar sua ruptura, são formadas emulsões O/W estáveis (Piispanen *et al.* 2004).

Os ésteres de açúcares apresentam grande capacidade de adsorver e interagir com superfícies e são, portanto, essenciais na formação e estabilização de sistemas coloidais. Eles são capazes de estabilizar emulsões e dispersões a temperaturas elevadas, o que lhes abre a possibilidade de aplicações, principalmente nas indústrias alimentícia e de cosmética (Lu *et al.* 2016).

Ainda não foi possível tirar conclusões acerca da relação estrutura-capacidade de emulsificação de ésteres de açúcares pois, em estudos como o de Sultani *et al.*, que relaciona a estabilidade de emulsões O/W com ésteres de frutose e sacarose, os resultados obtidos não estavam de acordo com os valores de HLB. São necessários mais estudos para descrever com rigor essa relação (Sultani *et al.* 2003).

Em relação às aminas alifáticas de açúcares não-iônicas, o conhecimento das suas propriedades interfaciais ainda é bastante limitado comparado ao estudo da atividade superficial de aminas de açúcares na sua forma catiônica. A grande maioria dos estudos disponíveis na literatura referem-se à análise da atividade superficial de aminas de açúcares catiônicas, onde as aminas de açúcares não-iônicas são intermediárias na reação, não sendo assim isoladas e alvos de estudo.

Neste sentido, o estudo das principais propriedades interfacial de alquilaminas de açúcares não-iônicas, obtidas através da síntese de aminas primárias C<sub>10</sub> e C<sub>12</sub> com glicose e galactose, efetuado nesta Tese, mostra-se de extrema importância para a determinação de futuras aplicações destes compostos.

## 2. OBJETIVOS

A proposta de valor desta Tese prende-se à necessidade, cada vez mais urgente, de ir ao encontro de alternativas industriais sustentáveis, uma vez que a grande maioria dos surfactantes utilizados atualmente na indústria derivam de fontes não renováveis. Nesta Tese foram estudadas as principais propriedades interfacial de ésteres de açúcares comerciais. No entanto, a parte fulcral do projeto consistiu na criação e caracterização de novas famílias de surfactantes à base de açúcares, oriundos de fonte renovável e com grande capacidade de produção no Brasil. Estes novos surfactantes foram sintetizados, e estudados de uma perspectiva físico-química e de atividade superficial, aspetos fundamentais para futuras aplicações.

Em relação aos surfactantes de açúcares comerciais tem-se como principais objetivos:

- Execução, aplicação em ésteres de sorbitano e entendimento teórico do método de injeção na produção de vesículas de açúcares, com álcoois de diferentes tamanhos da cadeia hidrocarbonada (metanol, etanol e 2-propanol).
- Conhecimento aprofundado da relação estrutura molecular-atividade interfacial de ésteres de sorbitano, usando as dispersões obtidas pelo método de injeção para a produção de emulsões O/W com diferentes fases dispersas.

Em relação aos surfactantes de açúcares sintetizados os principais objetivos são:

- Síntese química de novos surfactantes de açúcares, nomeadamente ésteres e aminas de açúcares, não-iônicos e aniônicos e avaliação preliminar das suas propriedades interfaciais, para determinação de possíveis aplicações industriais.

A síntese de novos surfactantes de base natural não-iônicos e aniônicos é de incalculável importância devido às suas propriedades de atividade superficial, que já provaram ser melhores do que as dos surfactantes sintéticos provenientes de fontes não-renováveis, mais utilizados na atualidade. Além disso, apresentam a vantagem de serem compostos 100% biodegradáveis, biocompatíveis e de baixa toxicidade.

Pretende-se assim que estes novos surfactantes à base de açúcares sejam uma alternativa industrial, de forma a substituírem os surfactantes de fontes petroquímica, os mais utilizados atualmente.

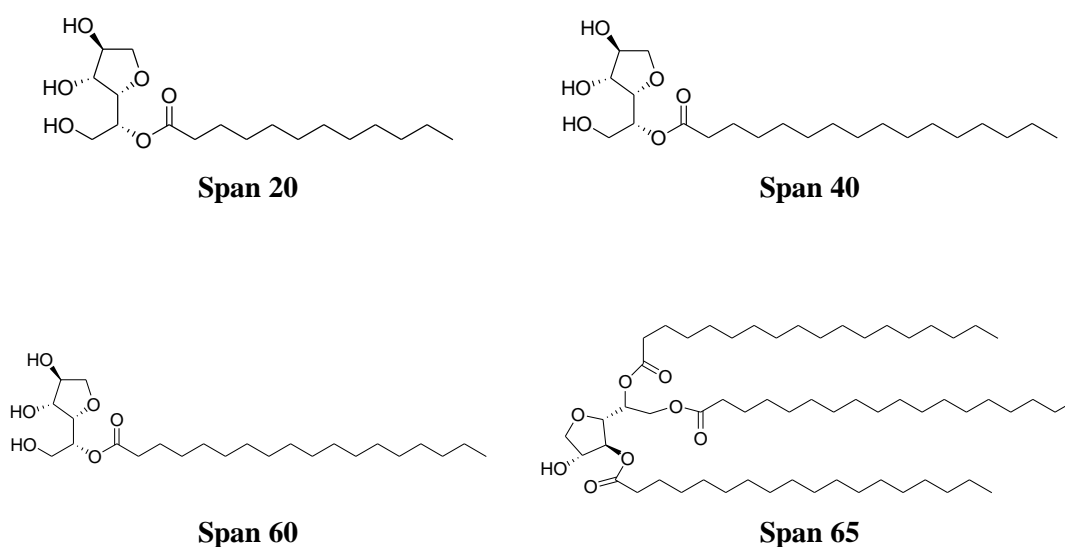
### 3. SEÇÃO EXPERIMENTAL

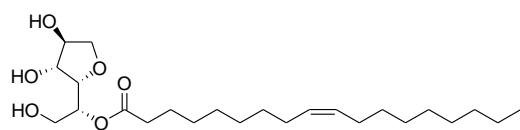
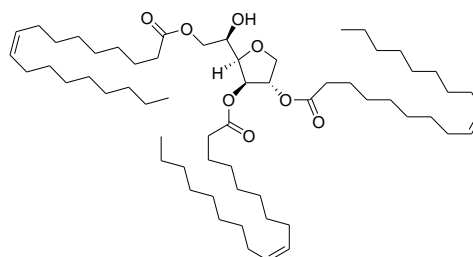
Nesta sessão são descritos os materiais utilizados na pesquisa, assim como os métodos e as técnicas usadas na determinação de propriedades físico-químicas (método de injeção, espalhamento dinâmico de luz (DLS), determinação dos índices de emulsificação) e tensiometria), e caracterização de soluções de Span obtidas pelo método de injeção de etanol. Também é descrita a caracterização estrutural dos surfactantes sintetizados, através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton e de carbono (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ), além dos procedimentos adotados para a realização das sínteses dos surfactantes de açúcares.

#### 3.1 Reagentes e solventes utilizados na caracterização físico-química dos Span

Os ésteres de sorbitano comerciais (Span), cujas estruturas são representadas na Figura 10, utilizados nesta parte da pesquisa, foram adquiridos na Sigma-Aldrich e usados sem purificação adicional.

**Figura 10.** Estruturas moleculares dos ésteres de sorbitano (Span) usados neste trabalho.



**Span 80****Span 85**

Para a preparação das soluções de Span pelo método de injeção foram utilizados o metanol (grau de pureza 99,8%), etanol (grau de pureza 95,0%) e 2-propanol (grau de pureza 99,5%), todos eles adquiridos da Sigma-Aldrich e usados sem purificação adicional. Posteriormente estas soluções foram injetadas em água ultra-pura de qualidade Millipore.

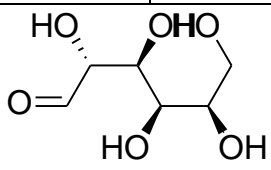
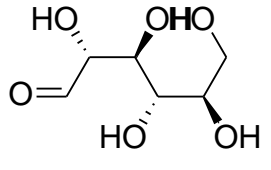
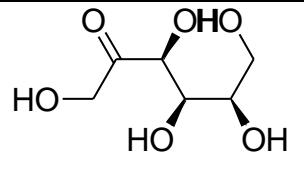
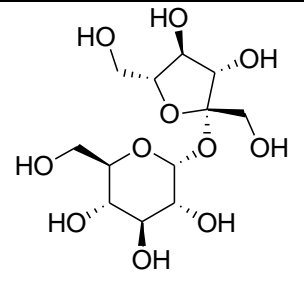
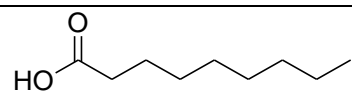
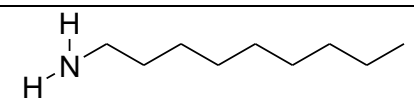
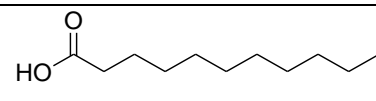
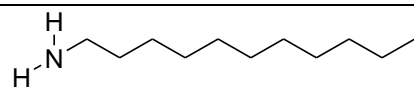
Na determinação do índice de emulsificação (EI) das soluções de Span, foram usados diferentes gorduras, nomeadamente alcanos: o hexano (Fisher Chemical), decano (Sigma-Aldrich) e hexadecano (Sigma-Aldrich), assim como óleo de soja comestível e 100% vegetal da marca Olisoja.

### **3.2 Reagentes e solventes usados nas sínteses dos surfactantes de açúcares**

Os reagentes usados na realização das sínteses dos surfactantes de açúcares são apresentados na Tabela 1. Os complexos Pir-SO<sub>3</sub> e NEt<sub>3</sub>·SO<sub>3</sub> foram adquiridos da VWR Chemicals, e o bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) da Sigma-Aldrich. Todos os reagentes referidos foram utilizados diretamente, sem nenhuma purificação adicional.



**Tabela 1.** Reagentes usados nas sínteses de surfactantes de ésteres e aminas de açúcares.

	Ésteres de Açúcares	Aminas de Açúcares
Partes polares	 <p><b>Glicose (Sigma-Aldrich)</b></p>	
	 <p><b>Galactose (Sigma-Aldrich)</b></p>	
	 <p><b>Frutose (Sigma-Aldrich)</b></p>	
	 <p><b>Sacarose (Sigma-Aldrich)</b></p>	
Partes apolares	 <p><b>Ácido decanóico (Sigma-Aldrich)</b></p>	 <p><b>n-decilamina (Sigma-Aldrich)</b></p>
	 <p><b>Ácido dodecanóico (Sigma-Aldrich)</b></p>	 <p><b>n-dodecilamina (Sigma-Aldrich)</b></p>

Piridina

Adquirida da Fisher Chemical e armazenada em peneiras moleculares de 4 Å.

Acetato de Etilo

Refluxado durante 3 h na presença de carbonato de potássio e, em seguida, destilado.

#### Clorofórmio e diclorometano

Refluxados na presença de cloreto de cálcio, destilados e armazenados em peneiras moleculares de 4 Å.

#### Etanol e metanol

Aquecidos em refluxo durante 2 h com magnésio, na presença de palhetas de iodo, seguido de destilação a partir do alcóxido, e armazenados em peneiras moleculares de 3 Å.

#### Éter etílico, hexano e 1,4-dioxano

Refluxados na presença de fios de sódio e benzofenona sendo, posteriormente, destilados e armazenados em peneiras moleculares de 4 Å.

#### Cloreto de tionilo

Adquirido da Acros Organics, com pureza de 99,5% e usado sem purificação adicional.

### **3.3 Técnicas utilizadas**

#### **3.3.1 Método de Injeção**

O método de injeção foi criado por Batzri e Korn, em 1973, para a produção de lipossomas sem o uso de sonicação (Batzri e Korn, 1973).

O método consiste na mistura de dois líquidos miscíveis, um deles contendo moléculas anfifílicas solubilizadas. A mistura dos dois líquidos provoca a auto-associação espontânea das moléculas anfifílicas, ocorrendo assim a formação dos lipossomas (Batzri e Korn, 1973; Phapal e Sunthar, 2013a).

Uma das fases é o etanol e o surfactante, previamente solubilizado, e a outra fase é a água, onde a solução etanólica é posteriormente injetada. A injeção do etanol + surfactante na água conduz a uma mistura de ambas as fases e à espontânea auto-agregação das moléculas de surfactante, levando à formação de bicamadas (Lasic 1993).

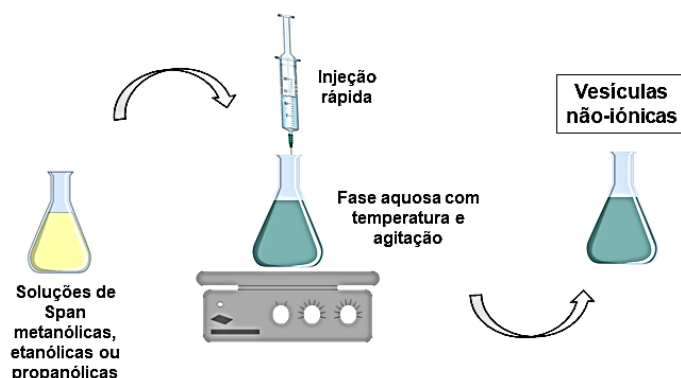
Sabe-se que a presença do etanol altera a ordem das bicamadas lipídicas, podendo mesmo uma pequena percentagem do álcool ser introduzida nas bicamadas. A presença do etanol oferece condições de energia mais favoráveis para a formação das vesículas (Huang *et al.* 1997).

Este método é, atualmente, um dos mais usados na produção de lipossomas, por apresentar diversas vantagens comparado a outros métodos convencionais de produção de lipossomas. O método de injeção caracteriza-se por apresentar uma preparação homogênea de vesículas, não ocorrendo degradação lipídica, nem da bicamada por ela formada ou da molécula encapsulada, na formação do agregado, uma vez que não é usada sonicação. É também um método simples e rápido (realizado em um único passo), reprodutível, econômico, possibilita a preparação de lipossomas em *scale-up*, e quando o álcool usado neste método é o etanol, os lipossomas obtidos podem ter aplicação na indústria alimentar, uma vez que é permitida uma pequena quantidade deste nos alimentos (Batzri e Korn, 1973, Fan *et al.* 2008, Pons *et al.* 1993; Sebaaly *et al.* 2016, Stano *et al.* 2004).

Este é o método adequado para a encapsulação de moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas (Sebaaly *et al.* 2016), e no caso deste trabalho, mostrou ser o método ideal para a obtenção de agregados vesiculares em meio aquoso, com moléculas de surfactante insolúveis em água, como é o caso dos ésteres de sorbitano.

- Procedimento experimental

Foram produzidas vesículas de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, nas concentrações 0,1; 0,25; 0,5; 1 e 10 mM, através do método de injeção. Para isso, foram utilizados os álcoois metanol, etanol e 2-propanol, como meios de solubilização dos diferentes Span (1 mL). As soluções metanólicas, etanólicas e propanólicas foram injetadas em água ultra-pura (20 mL) na temperatura pouco acima da temperatura de ebulição de cada álcool (67 °C para o metanol, 80 °C para o etanol e 85 °C para o 2-propanol). Estas soluções foram deixadas agitando, a 1500 rpm, durante 5 min. Na Figura 11 encontra-se esquematizado o procedimento do método de injeção.

**Figura 11.** Representação esquemática do procedimento do Método de Injeção.

### 3.3.2 Índices de Emulsificação (EI)

Os índices de emulsificação (EI) de surfactantes constituem uma ferramenta útil para a determinação da sua capacidade de emulsificação, que se assume como uma das principais características que determina as possíveis aplicações dos surfactantes. Este teste, geralmente, é feito durante 24 h ( $E_{24}$ ) e são usados hidrocarbonetos para a avaliação (Uzoigwe *et al.* 2015).

Os valores dos índices de emulsificação são determinados pela fórmula apresentada na Equação 3, onde  $A_{CE}$  corresponde à altura da camada emulsificada (cm), e  $A_T$  à altura total (cm).

$$IE (\%) = \frac{A_{CE}}{A_T} \times 100 \quad (3)$$

Neste trabalho, as medidas dos índices de emulsificação foram realizadas nos tempos 24, 48 e 72 h ( $E_{24}$ ,  $E_{48}$  e  $E_{72}$ , respetivamente) e como fases hidrofóbicas foram usados alcanos com diferentes comprimentos da cadeia hidrocarbonada: hexano, decano, hexadecano, e óleo de soja alimentício.

- Procedimento experimental

Às soluções de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, obtidas pelo método de injeção de álcool, nas suas diferentes concentrações, foram adicionadas as diferentes fases hidrofóbicas em estudo, na proporção 2:1 (v/v). As soluções foram agitadas num vórtex, à velocidade máxima, durante 1 minuto e foram deixadas à temperatura ambiente durante 72 h. A altura da camada emulsificada de cada uma delas, foi medida após 24, 48 e 72 h.

#### 3.3.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

A técnica de DLS permite a determinação do raio hidrodinâmico ( $R_H$ ) e da polidispersidade de partículas coloidais em suspensão.

Esta técnica considera que as partículas e moléculas apresentam movimento Browniano, ou seja, movimento aleatório, dependente da temperatura, sobre as quais o laser incide.

A relação de Stokes-Einstein é usada como forma de se obter o valor do raio hidrodinâmico ( $R_H$ ), com base no coeficiente de difusão ( $D$ ), através da Equação 4. O raio hidrodinâmico da partícula equivale ao raio da partícula acrescida da espessura da camada de solvatação ligada à partícula durante o movimento.

$$D = k_B T / 6\pi\eta R_H \quad (4)$$

Onde  $k_B$  é a constante de Boltzmann,  $T$  é a temperatura e  $\eta$  é a viscosidade do meio. Nos ensaios de DLS trabalha-se no domínio do tempo, e o coeficiente de difusão pode ser obtido por meio de uma função de auto-correlação. O sistema deteta a função de auto-correlação da intensidade de luz espalhada, que decai exponencialmente com o tempo. Através de ajustes da função exponencial o programa calcula a função de distribuição do raio hidrodinâmico, cuja largura indica a polidispersividade do tamanho das partículas (Stetefeld *et al.* 2016).

- Procedimento experimental

As medidas de DLS foram efetuadas em um equipamento Malvern Zetasizer da Malvern Instruments, com um laser de comprimento de onda 633 nm e um ângulo detector em relação ao laser de 173°, em cuvetes de poliestireno, com viscosidade da água a 0,891 cP e 25 °C. Para todas as amostras foram realizadas três medições.

#### 3.3.4 Tensiometria

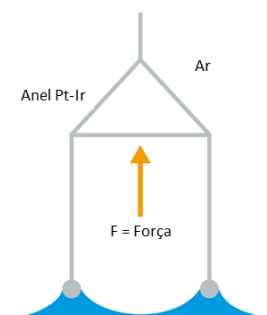
A tensão interfacial resulta da diferença de energia entre moléculas numa interface. O seu valor é de elevada importância na caracterização de sistemas coloidais, pois dá informação da energia superficial necessária para a formação de uma emulsão. Obtém-se de uma forma indireta

a possível composição química de interfaces, assim como o comportamento de moléculas com atividade superficial.

No caso em que as duas interfaces são líquido-ar, a tensão medida entre elas é a chamada tensão superficial.

São propostos vários métodos para a medição da tensão superficial. Neste trabalho, foi usado o método do anel Du Noüy, caracterizado por medir a força requerida para puxar o anel através de um líquido, que está diretamente relacionado à tensão superficial do líquido, como representado na Figura 12. A tensiometria de anel pode também ser usada para medir tensão interfacial entre dois líquidos, como a água e óleo, por exemplo.

**Figura 12.** Representação do método do anel de Du Noüy para medições de tensão superficial.



- Procedimento experimental

Nas medidas da tensão superficial dos surfactantes de açúcares sintetizados, através do método do anel, foi usado um tensiômetro TD1 Lauda, com um anel de Pt/Ir. Todas as medidas foram feitas em água ultra-pura e 25 °C.

#### **3.3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos nos espectrômetros Bruker Avance III, operando em 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). O solvente utilizado foi dimetilsulfóxido deuterado ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ); os valores dos desvios químicos são apresentados em ppm relativamente ao padrão interno tetrametilsilano (TMS) e os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) expressos em Hz.

#### 3.3.6 Cromatografia de camada fina (TLC) e coluna cromatográfica

Nas reações que foram acompanhadas por TLC utilizaram-se placas de sílica 60 F254, com suporte de alumínio. Para as cromatografias em coluna foi utilizado gel de sílica 60 (0,040-0,063 mm) fornecido pela Merck ou Fluka.

### 3.4 Síntese de ésteres e aminas de açúcares não-iônicos

#### 3.4.1 Procedimentos para a síntese de ésteres de açúcares não-iônicos

- Síntese de cloretos de ácido

Começou-se por modificar os ácidos graxos adquiridos, através de uma reação de refluxo a 80 °C com cloreto de tionilo (numa proporção de 1:1 em mmol de ácido graxo e quantidade de cloreto de tionilo (em mL) adicionada), sob agitação durante 2 h. No final da reação é adicionado tolueno ao meio reacional para formar azeótropo com o cloreto de tionilo, sendo este evaporado. Os cloretos de ácido formados são usados diretamente nas diferentes reações de síntese com os açúcares.

- Procedimento geral para síntese de ésteres de açúcares não-iônicos

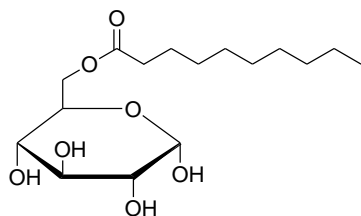
O procedimento adotado para a síntese de todos os ésteres de açúcares não-iônicos obtidos neste trabalho foi adaptado de um existente na literatura (Yoshimoto *et al.* 1979).

Os açúcares (10 mmol) são solubilizados em 30 mL de piridina, a 80 °C. O cloreto de ácido (10 mmol), previamente sintetizado, é solubilizado em 1,4-dioxano (1 mL) e adicionado, gota-a-gota, ao meio reacional. A reação é feita a 80 °C, com um condensador de ar e o controle desta é feito por TLC. Terminada a reação é adicionado tolueno para formar azeótropo com a piridina, e esta é evaporada. De seguida, é efetuada uma extração líquido-líquido com acetato de etilo/água e em seguida a fase orgânica é lavada com solução saturada de NaCl. A fase orgânica é seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e posteriormente evaporado o acetato de etilo. O composto resultante é deixado em hexano durante a noite, quando ocorre a precipitação do monoéster de açúcares puro, que é filtrado e armazenado.

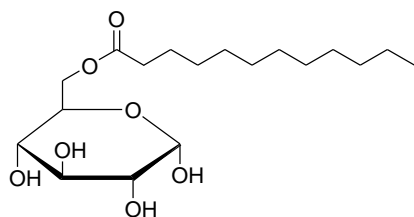
Na Tabela 2 são apresentados os valores das massas dos reagentes usados na síntese destes surfactantes, assim como os rendimentos das reações.

**Tabela 2.** Reagentes usados nas síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos e rendimentos das reações.

Produto	Açúcar	Cloreto de ácido	1,4-dioxano	Rendimento (%)
<b>6-O-decanoil-D-glucopiranoose</b>	D-glicose	Cáprico		
	10 mmol	10 mmol	1 mL	39 %
	1,7115g	2,08 mL		
<b>6-O-dodecanoil-D-glucopiranoose</b>	D-glicose	Láurico		
	10 mmol	10 mmol	1 mL	35 %
	1,7134g	2,32 mL		
<b>6-O-decanoil-D-galactopiranoose</b>	D-galactose	Cáprico		
	10 mmol	10 mmol	1 mL	30%
	1,7129g	2,08 mL		
<b>6-O-dodecanoil-D-galactopiranoose</b>	D-galactose	Láurico		
	10 mmol	10 mmol	1 mL	29%
	1,7182g	2,32 mL		

**6-O-decanoil-D-glucopiranoose**

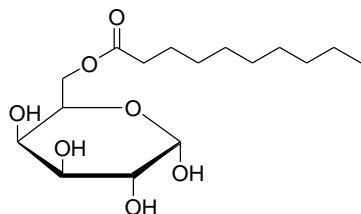
RMN <sup>1</sup>H δ 0.86 (t, 3H, *J*=6.8 Hz), 1.20-1.34 (m, 12H), 1.51 (t, 2H, *J*=6.8 Hz), 2.26-2.29 (m, 2H), 3.01-3.07 (m, 1H), 3.11-3.15 (m, 1H), 3.40-3.46 (m, 1H), 3.74-3.79 (m, 1H), 3.97-4.01 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.53 (d, 1H(OH), *J*=6.4 Hz), 4.75 (d, 1H(OH), *J*=4.8 Hz), 4.90 (t, 1H, *J*=4.2 Hz), 5.03 (d, 1H(OH), *J*=6.0 Hz), 6.34 (d, 1H(OH), *J*=4.4 Hz); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 22.1, 24.4, 28.4, 28.6, 28.7, 28.8, 31.2, 33.4, 63.8, 69.1, 70.5, 72.2, 72.8, 92.3, 172.9.

**6-O-dodecanoil-D-glucopiranoose**

RMN <sup>1</sup>H δ 0.86 (t, 3H, *J*=6.8 Hz), 1.18-1.37 (m, 16H), 1.51 (t, 2H, *J*=6.8 Hz), 2.25-2.29 (m, 2H), 3.01-3.07 (m, 1H), 3.10-3.15 (m, 1H), 3.39-3.46 (m, 1H), 3.74-3.79 (m, 1H), 3.97-4.01 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.52 (d, 1H(OH), *J*=6.7 Hz), 4.74 (d, 1H(OH), *J*=4.8 Hz), 4.90 (t, 1H, *J*=4.2 Hz), 5.03 (d, 1H(OH), *J*=5.7 Hz), 6.34

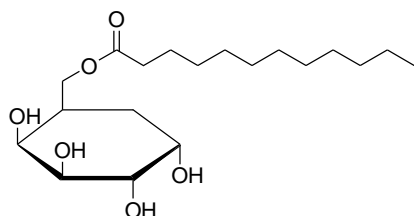


(d, 1H(OH),  $J=4.3$  Hz); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 24.4, 28.4, 28.7, 28.8, 28.9, 29.0, 29.1, 31.3, 33.3, 33.4, 63.8, 69.1, 70.5, 72.2, 72.8, 92.3, 172.9.



**6-O-decanoil-D-galactopiranosose**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H,  $J=6.7$  Hz), 1.16-1.34 (m, 12H), 1.51 (t, 2H,  $J=6.7$  Hz), 2.27 (t, 2H,  $J=7.4$  Hz), 3.51-3.56 (m, 2H), 3.65-3.67 (m, 1H), 3.97-4.02 (m, 1H), 4.05-4.07 (m, 2H), 4.32 (d, 1H(OH),  $J=6,6$  Hz), 4.52 (d, 1H(OH),  $J=4.4$  Hz), 4.94 (t, 1H  $J=4.0$  Hz), 6.23 (d, 1H(OH),  $J=4.6$  Hz); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 24.4, 28.4, 28.6, 28.7, 28.8, 31.2, 33.4, 63.8, 69.1, 70.5, 72.2, 72.8, 92.3, 172.9.



**6-O-dodecanoil-D-galactopiranosose**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H,  $J=6.7$  Hz), 1.16-1.34 (m, 12H), 1.51 (t, 2H,  $J=6.7$  Hz), 2.27 (t, 2H,  $J=7.4$  Hz), 3.51-3.56 (m, 2H), 3.65-3.67 (m, 1H), 3.97-4.02 (m, 1H), 4.05-4.07 (m, 2H), 4.32 (d, 1H(OH),  $J=6,6$  Hz), 4.52 (d, 1H(OH),  $J=4.4$  Hz), 4.94 (t, 1H  $J=4.0$  Hz), 6.23 (d, 1H(OH),  $J=4.6$  Hz); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 24.4, 28.4, 28.7, 28.8, 28.9, 29.0, 29.1, 31.3, 33.3, 33.4, 63.8, 69.1, 70.5, 72.2, 72.8, 92.3, 172.9.

### 3.4.2 Procedimentos para a síntese de aminas de açúcares não-iônicos

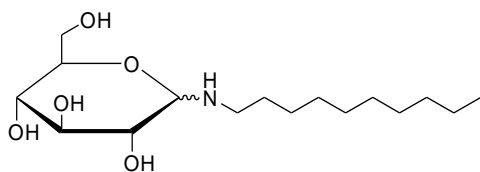
O procedimento utilizado para a obtenção de alquilaminas de açúcares não-iônicas foi adaptado do trabalho de Li *et al.* (Li, Zhang et al. 2014).

O açúcares (14 mmol) foi adicionado a 60 mL de metanol ou etanol, e 21 mmol de alquilamina. A mistura reacional foi deixada a solubilizar durante 12h, a 30-35 °C com agitação. Após esse tempo, a temperatura foi aumentada para 50-55 °C e a reação foi deixada, em agitação, durante 3h. Nas reações em que o solvente eram misturas de metanol/água (90:10) (v/v) ou etanol/água (90:10) (v/v), a temperatura da reação foi 50-55 °C desde início e a mistura foi deixada a essa temperatura, com agitação, durante 3h. O precipitado branco obtido foi filtrado e recristalizado duas vezes com etanol.

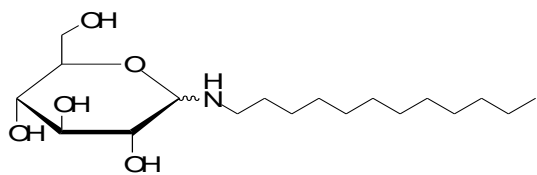
Na Tabela 3 são apresentados os valores das massas dos reagentes usados na síntese destes surfactantes, assim como os rendimentos das reações.

**Tabela 3.** Reagentes usados nas síntese de alquilaminas de açúcares não-iônicas e rendimentos das reações.

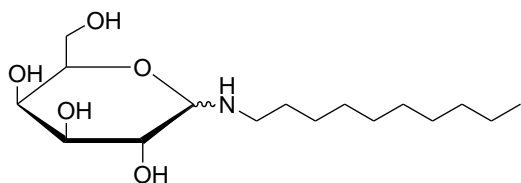
Produto	Açúcar	Amina	Rendimento (%)
<b><i>N</i>-decilglucosilamina</b>	D-glicose 14 mmol	<i>n</i> -decilamina 21 mmol	80%
<b><i>N</i>-dodecilglucosilamina</b>	D-glicose 14 mmol	<i>n</i> -dodecilamina 21 mmol	84%
<b><i>N</i>-decilgalactosilamina</b>	D-galactose 14 mmol	<i>n</i> -decilamina 21 mmol	70%
<b><i>N</i>-dodecilgalactosilamina</b>	D-galactose 14 mmol	<i>n</i> -dodecilamina 21 mmol	76%

***N*-decilglucosilamina**

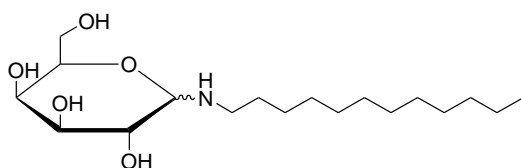
RMN <sup>1</sup>H δ 0.86 (t, 3H, J=6.8 Hz), 1.25 (sl, 14H), 1.38 (t, 2H, J=6 Hz), 2.14 (bs, 1H), 2.79-2.85 (m, 2H), 3.01 (sl, 2H), 3.12 (sl, 1H), 3.41 (sl, 1H), 3.65 (sl, 2H), 4.34 (t, 1H(OH), J=5.6 Hz), 4.44 (d, 1H(OH), J=4 Hz), 4.79 (d, 1H(OH), J=4.4 Hz), 4.83 (d, 1H(OH), J=4.4 Hz); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 22.1, 26.8, 28.7, 29.0, 29.0, 29.5, 29.9, 31.2, 45.5, 61.4, 70.5, 70.7, 73.5, 77.4, 77.6.

***N*-dodecilglucosilamina**

RMN <sup>1</sup>H δ 0.86 (t, 3H, J=6.4 Hz), 1.24 (sl, 18H), 1.38 (t, 2H, J=5.2 Hz), 2.14 (bs, 1H), 2.75 (sl, 1H), 2.84 (sl, 1H), 3.02 (sl, 2H), 3.12 (t, 1H), 3.63 (d, 2H, J=8.8 Hz), 4.36 (t, 1H(OH), J=4.8 Hz), 4.45 (d, 1H(OH), J=2.8 Hz), 4.83 (m, 2H(OH)); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 22.1, 26.8, 28.7, 29.0, 29.0, 29.6, 30.0, 31.3, 45.5, 45.9, 61.4, 70.5, 73.5, 73.7, 77.4, 77.6, 90.8.

**N-decylgalactosilamina**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H,  $J=6.4$  Hz), 1.25 (sl, 14H), 1.38 (t, 2H,  $J=5.6$  Hz), 1.99 (bs, 1H), 2.68 (sl, 1H), 3.16 (sl, 1H), 3.47 (sl, 2H), 3.59-3.89 (m, 3H), 4.20 (d, 1H(OH),  $J=4.8$  Hz), 4.30 (d, 1H(OH),  $J=3.6$  Hz), 4.49 (m, 1H), 4.60 (d, 1H(OH),  $J=3.2$  Hz); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 26.8, 28.7, 29.0, 29.0, 29.5, 29.9, 31.2, 45.5, 61.4, 70.5, 70.7, 73.5, 77.4, 77.6.

**N-dodecylgalactosilamina**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H,  $J=6.4$  Hz), 1.24 (m, 18H), 1.38 (t, 2H,  $J=6$  Hz), 2.09 (bs, 1H), 2.68, 2.74 (2sl, 1H), 3.18 (sl, 1H), 3.26 (sl, 1H), 3.49 (sl, 1H), 3.61 (sl, 2H), 4.18 (d, 1H(OH),  $J=4$  Hz), 4.28 (d, 1H(OH),  $J=3.2$  Hz), 4.47 (t, 1H(OH)), 4.58 (d, 1H(OH),  $J=4.4$  Hz); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 26.7, 26.8, 28.7, 29.0, 29.0, 29.7, 30.0, 31.3, 45.6, 60.5, 62.8, 68.4, 70.8, 74.1, 75.8, 91.3.

### 3.5 Síntese de ésteres e aminas de açúcares aniônicos

Para as sínteses dos surfactantes aniônicos de aminas e ésteres de açúcares, foram usados os surfactantes de açúcares não-iônicos previamente sintetizados, e apresentados na seção 3.4, e os Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, adquiridos na forma não-iônica. Na síntese foi adaptado um procedimento já existente na literatura, para ésteres de sacarose (Plat *et al.* 2001b).

- Procedimento geral para a síntese de surfactantes de açúcares aniônicos

As aminas e ésteres de açúcares obtidos através das reações de Maillard e esterificação, respectivamente, assim como os ésteres de açúcares comerciais (Span) foram solubilizados em piridina (30 mL). A quantidade de surfactantes não-iônicos, de piridina e do complexo Pir-SO<sub>3</sub> é calculada de acordo com a relação usada na literatura (0,875 mmol de surfactante – 140 mg de complexo Pir-SO<sub>3</sub>). O complexo de piridina é adicionado à reação em três porções iguais com intervalos de 15 min entre cada adição. Após a última adição do complexo, a reação é colocada sob atmosfera inerte (N<sub>2</sub>) e deixada sob agitação à temperatura ambiente, durante 3 h, sendo controlada por TLC.

### 3. SEÇÃO EXPERIMENTAL

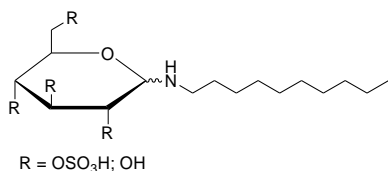
No fim da reação é adicionado tolueno e é evaporado o azeótropo com a piridina. O produto resultante é solubilizado em metanol, seguido da adição de NaHCO<sub>3</sub> até o pH básico. Posteriormente, NaHCO<sub>3</sub> é filtrado, o metanol evaporado e o produto é seco em bomba de vácuo e armazenado.

Os reagentes e as respectivas massas usadas, assim como os rendimentos obtidos para cada produto são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Reagentes usados nas síntese de ésteres e alquilaminas de açúcares aniônicos e rendimentos das reações.

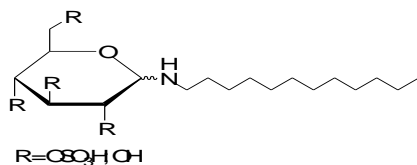
	Surfactante de açúcar não- iônico	Complexo Pir-SO <sub>3</sub>	Rendimento (%)
<b><i>N</i>-decilglucosilamina aniônica</b>	<i>N</i> -decilglucosamina 3 mmol 1,032g	3×150 mg	70%
<b><i>N</i>-dodecilglucosilamina aniônica</b>	<i>N</i> -dodecilglucosamina 6 mmol 2,103g	3×200 mg	59%
<b><i>N</i>-decilgalactosilamina aniônica</b>	<i>N</i> -decilgalactosilamina 3 mmol 1,067g	3×150 mg	63%
<b><i>N</i>-dodecilgalactosilamina aniônica</b>	<i>N</i> -dodecilgalactosilamina 6 mmol 2,043g	3×200 mg	57%
<b>Span 20 aniônico</b>	Span 20 3 mmol 1,038g	3×150 mg	85%
<b>Span 40 aniônico</b>	Span 40 3 mmol 1,082g	3×150 mg	70%
<b>Span 60 aniônico</b>	Span 60 3 mmol 1,110g	3×150 mg	62%

<b>Span 65 aniônico</b>	Span 65		
	3 mmol 1,802g	3×150 mg	57%
<b>Span 80 aniônico</b>	Span 80		
	3 mmol 1,052g	3×150 mg	75%
<b>Span 85 aniônico</b>	Span 80		
	3 mmol 1,207g	3×150 mg	68%

**N—decilglucosilamina aniônica**

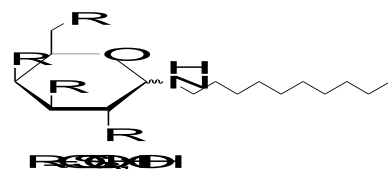
RMN <sup>1</sup>H δ 0.92 (t, 3H, J=6 Hz), 1.32 (sl, 16H), 1.54 (t, 2H, J=6 Hz), 2.60-3.27 (m, 3H), 3.38-4.01 (m, 4H); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 17.4, 20.9, 21.8, 22.1, 26.3, 28.6, 29.0, 31.2, 52.9, 63.9,

71.5, 72.2, 72.4, 72.5, 73.7.

**N—dodecylglucosilamina aniônica**

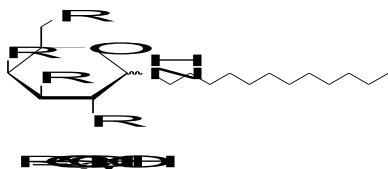
RMN <sup>1</sup>H δ 0.92 (t, 3H, J=6,4 Hz), 1.31 (sl, 18H), 1.53 (sl, 1H), 1.69 (sl, 1H), 2.89-3.28 (m, 3H), 3.37-3.67 (m, 1H), 3.76-4.12 (m, 3H); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 17.4, 17.5, 20.8, 20.9,

21.8, 22.1, 26.3, 28.6, 29.0, 31.2, 52.9, 63.9, 71.5, 72.2, 72.4, 72.5, 73.7.

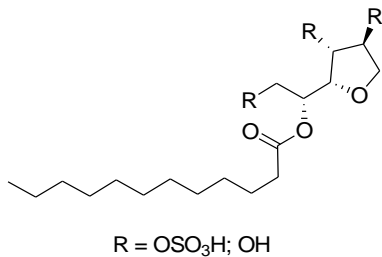
**N—decilgalactosilamina aniônica**

RMN <sup>1</sup>H δ 0.92 (t, 3H, J=6 Hz), 1.32 (sl, 16H), 1.53 (sl, 2H), 2.66-3.27 (m, 2H), 3.59-4.01 (m, 4H), 4.13-4.48 (m, 1H); RMN <sup>13</sup>C δ 13.9, 21.4, 22.0, 26.2, 26.3, 26.4, 28.6, 28.9, 31.2,

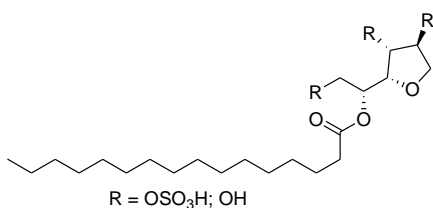
61.3, 62.9, 66.1, 70.2, 70.8, 71.9, 95.9.

**N-dodecylgalactosilamina aniônica**

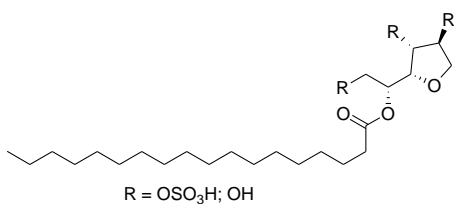
RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.92 (t, 3H, J=6,4 Hz), 1.31 (sl, 18H), 1.64 (sl, 2H), 3.00-3.30 (m, 2H), 3.41-4.05 (m, 4H), 4.15-4.36 (m, 1H); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 21.5, 22.1, 25.4, 25.5, 25.7, 25.8, 26.3, 28.7, 29.0, 31.3, 52.9, 62.8, 70.1, 70.8, 71.8, 72.7, 92.6.

**Span 20 aniônico**

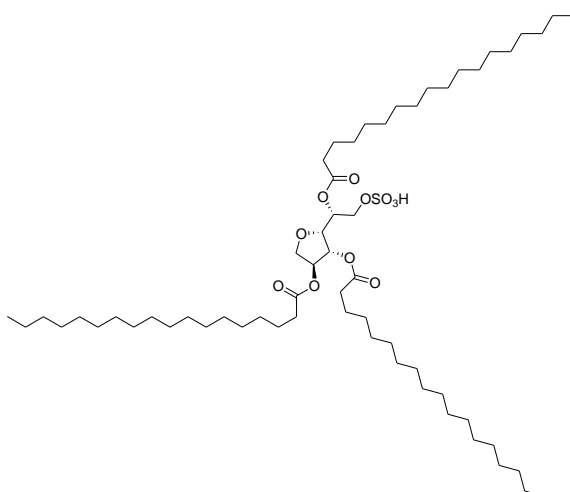
RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H, J=6 Hz), 1.24 (sl, 18H), 1.51 (sl, 2H), 3.63-5.19 (m, 8H); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 22.1, 24.3, 28.3, 28.4, 28.7, 28.8, 28.9, 29.0, 31.3, 33.2, 33.3, 48.5, 52.8, 68.9, 73.2, 75.5, 80.1, 80.3, 85.0.

**Span 40 aniônico**

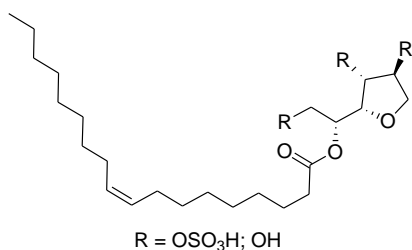
RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.86 (t, 3H, J=6 Hz), 1.24 (sl, 28H), 1.51 (sl, 2H), 3.76-3.98 (m, 2H), 4.02-4.22 (m, 2H), 4.35-4.59 (m, 2H); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 14.0, 22.1, 24.3, 24.4, 24.4, 26.2, 28.3, 28.4, 28.5, 28.5, 28.7, 28.8, 28.9, 31.3, 48.6, 68.9, 75.4, 80.1, 80.3, 85.0.

**Span 60 aniônico**

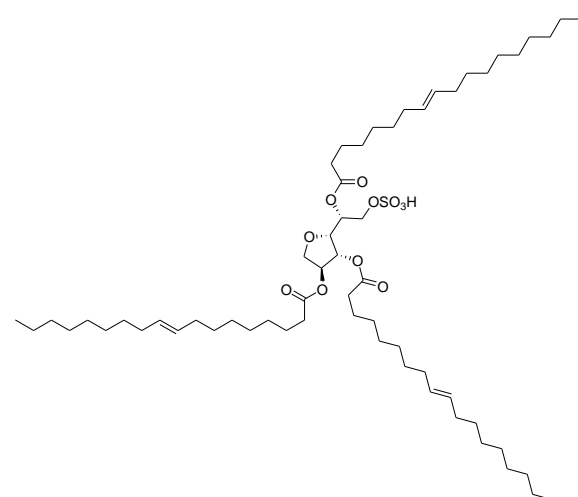
RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.85 (t, 3H, J=6 Hz), 1.24 (sl, 32H), 1.51 (sl, 2H), 3.76-3.98 (m, 2H), 4.02-4.22 (m, 2H), 4.35-4.59 (m, 2H); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  13.9, 14.0, 22.1, 23.5, 23.7, 24.3, 24.4, 24.4, 26.2, 28.3, 28.4, 28.5, 28.5, 28.7, 28.8, 28.9, 31.3, 48.6, 68.9, 75.4, 80.1, 80.3, 85.0.

**Span 65 aniônico**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.85 (t, 3H, J=6 Hz), 1.24 (sl, 21H),  
1.50 (sl, 2H), 3.62-5.20 (m, 7H);

**Span 80 aniônico**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.85 (t, 3H, J=6 Hz), 1.22 (sl, 21H), 1.49 (sl,  
2H), 1.94-1.95 (m, 4H), 2.24-2.27 (m, 2H), 3.17-3.41 (m,  
2H), 3.62-5.12 (m, 7H), 5.27-5.30 (m, 2H).

**Span 85 aniônico**

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  0.85 (t, 3H, J=6 Hz), 1.23 (sl,  
21H), 1.50 (sl, 4H), 1.97-1.98 (sl, 4H), 2.25-  
2.29 (m, 2H), 3.62-5.20 (m, 7H), 5.39-5.32  
(m, 2H).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SÍNTESE DE SURFACTANTES DE AÇÚCARES

A síntese de novas moléculas anfífilas com compostos de partida provenientes de fontes renováveis e com processos sintéticos amigos do ambiente, assim como com propriedades físico-químicas e de atividade interfacial melhoradas, é uma meta cada vez mais importante.

Apesar do rápido desenvolvimento desta área ao longo dos últimos anos, ainda é possível a obtenção de novas moléculas, com um número de alterações estruturais praticamente infinito. Questões relacionadas à relação entre a estrutura molecular de surfactantes de açúcares e as suas características de emulsificação e propriedades interfacial não são ainda satisfatoriamente compreendidas.

Neste capítulo são apresentados resultados da síntese química de novos ésteres e alquilaminas à base de açúcares não-iônicos e aniônicos, assim como a determinação de algumas propriedades dessas moléculas (tensão superficial, tensão interfacial da interface água-óleo de soja, determinação do tamanho dos agregados formados e capacidade de emulsificação de óleo de soja). Esses resultados foram comparados aos obtidos para dois dos surfactantes comerciais mais utilizados atualmente na formulação dos mais variados produtos de limpeza, nomeadamente em detergentes de louça, o lauriléter sulfato de sódio (SLE<sub>2</sub>S) e o óxido de laurilamina (OLA).

#### 4.1.1 Síntese Química de surfactantes à base de açúcares

##### 4.1.1.1 Reações de esterificação para a síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos

Nesta Seção são apresentadas e discutidas as reações de esterificação usadas na síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos. Os açúcares usados neste trabalho, para constituir a parte polar do surfactante, foram a D-(+)-glicose **1**, D-(+)-galactose **2**, D-(-)-frutose **3** e a sacarose **4**, (com especial atenção para os açúcares **1** e **2**, uma vez que com os **3** e **4** os produtos obtidos foram em quantidade vestigial e não foi possível o seu isolamento) e os ácidos graxos usados como parte apolar dos surfactantes sintetizados foram os ácidos cáprico (decanóico) e láurico (dodecanóico).



O processo de transesterificação é uma reação de equilíbrio, que ocorre na presença de um catalisador. Nesta reação um éster é transformado noutro éster, ao fazer-se reagir o primeiro com um álcool, na presença de um catalisador, como representado no Esquema 3 (Otera *et al.*, 2010).

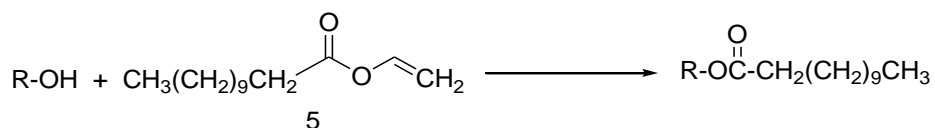
**Esquema 3.** Mecanismo geral da reação de transesterificação.



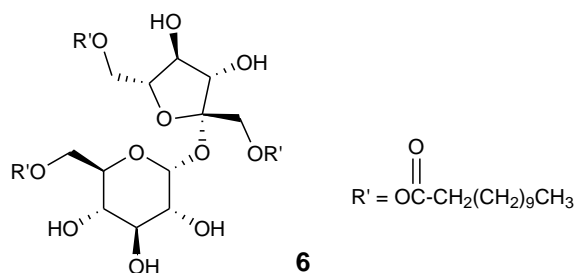
Os catalisadores, mais utilizados são por norma ácidos ou bases fortes, como o NaOH ou KOH, e o HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Schuchardt *et al.* 1998).

Neste trabalho foram testados três procedimentos diferentes para a reação de transesterificação, para a obtenção de surfactantes de açúcares não-iônicos, modificando-se as condições da reação. Na primeira reação testada, adaptada da literatura, foi usado o laurato de vinilo **5**, adquirido comercialmente, para esterificar os açúcares (Cruces *et al.* 2001). Na Tabela 5 são apresentados o mecanismo geral da reação e as diferentes condições utilizadas.

**Tabela 5.** Reação de transesterificação de açúcares com o laurato de vinilo **5**.



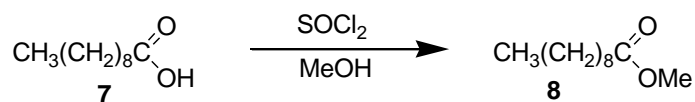
Açúcares	Nº mmol Açúcares	Nº mmol Éster	Solventes e Catalisadores	Tempo (h)	T (°C)	Produtos
<b>Glicose 1</b>	5	5	DMSO (10 mL) Na <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub>	24	45 °C	-
<b>Glicose 1</b>	5	5	Piridina (15 mL) K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6	80 °C	-
<b>Sacarose 4</b>	5	5	DMSO (10 mL) Na <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub>	24	40-60 °C	-
<b>Sacarose 4</b>	5	5	DMSO (20 mL) Na <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub>	24	40-45 °C	<b>6</b> (não calculado)



Os resultados da Tabela 5, mostram que apenas foi possível obter produto esterificado quando se utilizou uma maior quantidade de DMSO como solvente, na presença de Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>, embora este tenha sido obtido com rendimento muito baixo. Não foi possível confirmar se o produto obtido era um mono-, di- ou triéster, e quais as posições substituídas, uma vez que a sacarose tem vários grupos hidroxila primários suscetíveis de reagir. No entanto, há evidência da formação de produto, confirmada através de RMN <sup>1</sup>H.

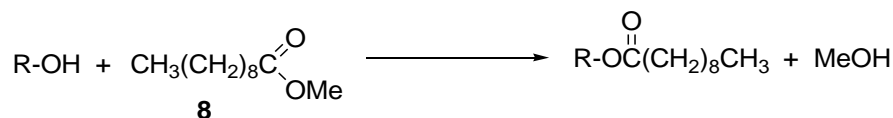
Na segunda reação de transesterificação testada, foi usado o ácido cáprico esterificado, obtido de acordo com a reação do Esquema 4. O ácido cáprico **7** foi esterificado utilizando cloreto de tionilo e metanol, obtendo-se o éster **8**. Os procedimentos testados na transesterificação foram baseados em procedimentos descritos na literatura (Polat e Linhardt 2001a, Osipow *et al.* 1956).

**Esquema 4.** Mecanismo da reação de esterificação de ácidos graxos.



O ácido cáprico esterificado **8** foi usado na reação de transesterificação apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6.** Reação de transesterificação de açúcares com o ácido cáprico esterificado **8**.

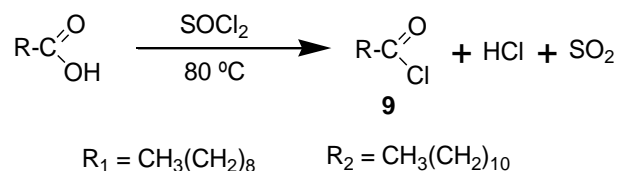


Açúcares	Nº mmol Açúcares	Nº mmol Éster	Condições de reação	Tempo (h)	T (°C)	Produtos
<b>Galactose 2</b>	6,8	2,6	DMF (25 mL) NaOH	2	90 °C	-
<b>Glicose 1</b>	5	5	Piridina (15 mL) Dioxano	3	60 °C	-
<b>Glicose 1</b>	15	5	DMF; CH <sub>3</sub> ONa N <sub>2</sub>	3	60 °C	-

Em nenhum dos procedimentos usados se conseguiu esterificar o açúcares **1** ou **2**.

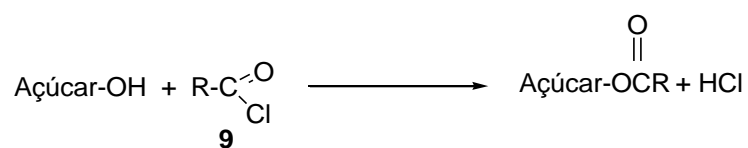
Uma vez que em nenhuma das reações acima se conseguiu a modificação dos açúcares com ésteres de ácidos graxos, procedeu-se à síntese dos cloretos de ácido, por reação com SOCl<sub>2</sub>, uma vez que estes são mais reativos. A reação de síntese dos cloretos de ácido é apresentada no Esquema 5.

**Esquema 5.** Mecanismo geral da reação de síntese de cloretos de ácido.



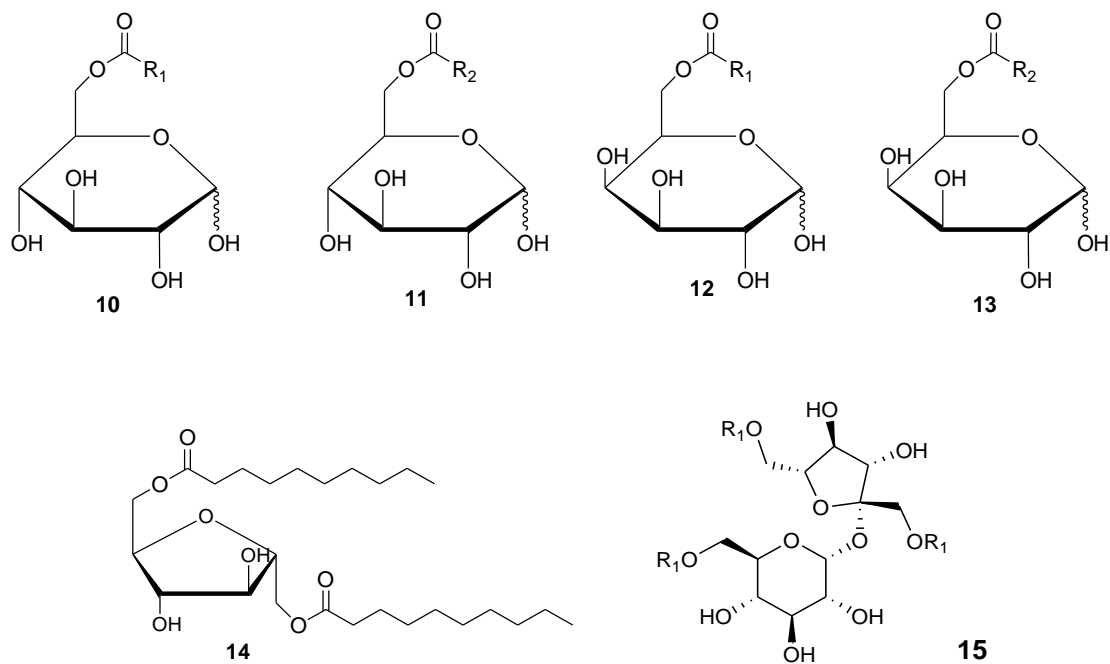
Na Tabela 7, são apresentados os resultados obtidos nas reações de esterificação com o cloreto de ácido, sendo que os procedimentos usados foram adaptados da literatura (Ahmad *et al.* 2014, Chortyk *et al.* 1996, Ames 1960, Yoshimoto *et al.* 1979).

Tabela 7. Reação de esterificação de açúcares com cloreto de ácido 9.



Açúcares	Nº mmol Açúcares	Nº mmol Éster	Condições de reação	Tempo (h)	T (°C)	Produtos
<b>Glicose 1</b>	5	5	Piridina (15 mL) Dioxano	5	80 °C	<b>10 (R<sub>1</sub>) (39%)</b> <b>11 (R<sub>2</sub>) (35%)</b>
<b>Glicose 1</b>	5	7,5	Piridina (15 mL) Dioxano	5	80 °C	<b>10 (15 %)</b>
<b>Glicose 1</b>	5	5	Piridina (10 mL) Dioxano	5	100 °C	-
<b>Glicose 1</b>	5,8	5,8	Ácido fórmico (5 mL)	1	45 °C	-
<b>Galactose 2</b>	5	5	DMF NaOH	2	65 °C	-
<b>Galactose 2</b>	5,8	5,8	Ácido fórmico (2,4 mL)	1	75 °C	-
<b>Galactose 2</b>	5,8	5,8	Ácido fórmico (5 mL)	1	45 °C	-
<b>Galactose 2</b>	5	5	Piridina (15 mL) Dioxano	5	80 °C	<b>12 (R<sub>1</sub>) (30%)</b> <b>13 (R<sub>2</sub>) (29%)</b>
<b>Frutose 3</b>	5	5	Piridina (15 mL) Dioxano	5	80 °C	<b>14 (R<sub>1</sub>)</b> (não calculado)
<b>Sacarose 4</b>	5	5	Piridina (15 mL) Dioxano	5	80 °C	-
<b>Sacarose 4</b>	5	5	DMF (5 mL) Piridina Acetonitrilo	1	65 °C	-

			DMF (10 mL)			
Sacarose			Piridina		65 °C	-
<b>4</b>	5	5	Acetonitrilo	1		
			DMF (10 mL)			
Sacarose			K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		65 °C	<b>15 (R<sub>1</sub>)</b>
<b>4</b>	5	5	Dioxano	24		(não calculado)



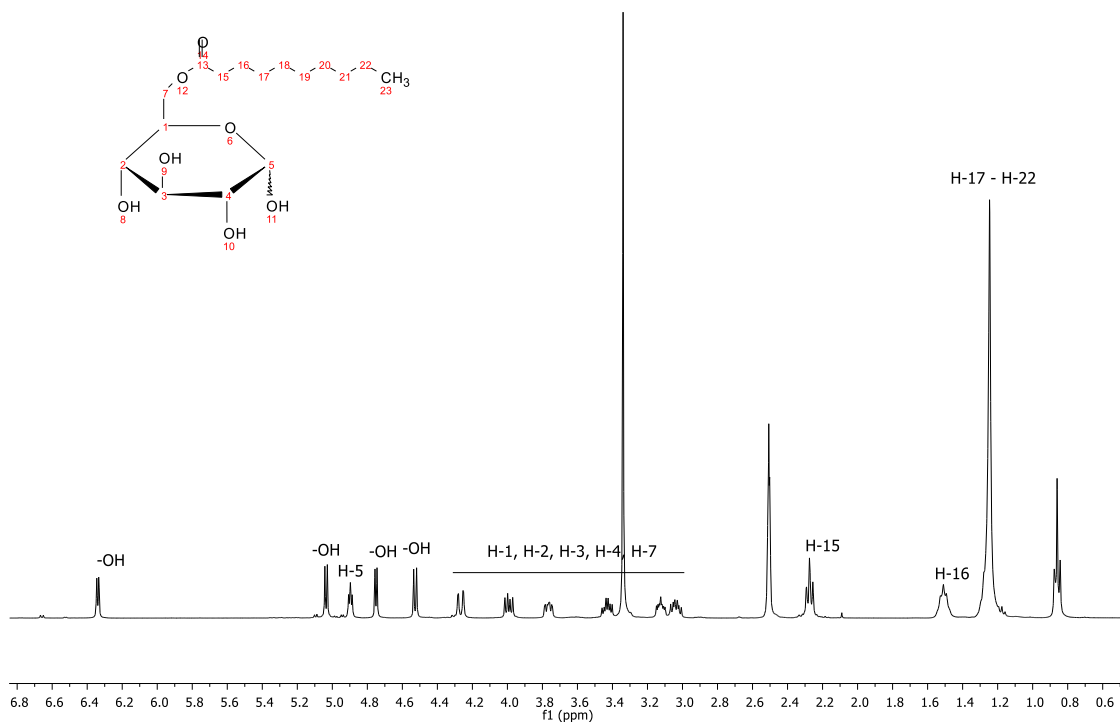
A reação de transesterificação usando o cloreto de ácido como reagente, mostrou-se mais eficiente na síntese de surfactantes de açúcares não-iônicos, com rendimentos razoáveis.

A piridina mostrou ser o solvente de reação mais eficiente, ao funcionar simultaneamente como catalisador e solvente. No caso da sacarose **4**, o uso da piridina cliva a ligação glicosídica existente entre os anéis de glicose **1** e frutose **3** ocorrendo, portanto, a degradação desta nesses subprodutos. Nessas circunstâncias, verifica-se que o cloreto de ácido vai atacar preferencialmente a molécula de glicose **1**, ocorrendo a formação dos produtos **10** ou **11**.

Verifica-se também que os produtos obtidos da reação da glicose **1** com os cloretos de ácido **9** são formados com maiores rendimentos, quando comparados com os produtos **12** e **13**, obtidos a partir da galactose **2**. Isto pode ser explicado devido à posição do grupo -OH do C4 de ambos os açúcares, uma vez que na glicose **1** este encontra-se na posição equatorial, e na galactose **2** o grupo hidroxila está na posição axial. O fato de ele se encontrar na posição axial parece criar algum tipo de impedimento estereo, não sendo tão eficiente o ataque do cloreto de ácido ao álcool primário presente nestes açúcares.

Na Figura 13 encontra-se representado um espectro de RMN protónico de um dos produtos obtidos, **10**, com a respetiva atribuição dos sinais.

**Figura 13.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do produto **10**.

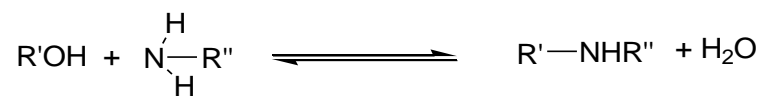


Através do espectro de RMN apresentado na Figura 13, é possível também verificar que se consegue efetuar a síntese e isolamento de um monoéster de açúcares. Isto prova que, apesar dos diferentes grupos hidroxila presentes no anel dos açúcares, a reação dá-se preferencialmente no álcool primário, ou seja, a reação apresenta bastante regioseletividade.

#### 4.1.1.2 Reação de síntese de alquilaminas de açúcares

A síntese de alquilaminas de açúcares foi realizada através da reação dos açúcares com aminas, usando álcoois como solvente. Nesta reação ocorre a condensação do grupo carbonila da molécula de açúcares com aminas, que resulta na formação de uma base de Schiff, seguida de um ataque do hidroxila do açúcares à imina, formando uma amina o que origina desta forma o surfactante de açúcares não-iônico. A reação geral encontra-se representada no Esquema 6.

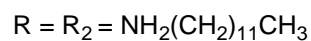
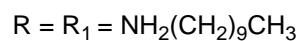
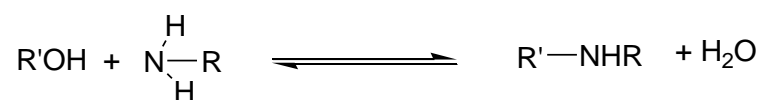
**Esquema 6.** Mecanismo geral da reação de Maillard.



Neste trabalho, a reação de Maillard foi usada para a produção de aminas à base de açúcares com base na reação usada por Li *et al* (Li *et al.* 2014).

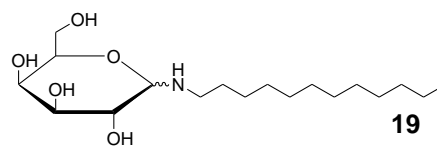
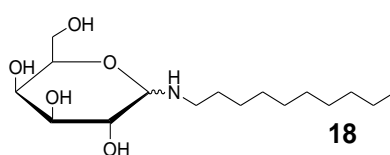
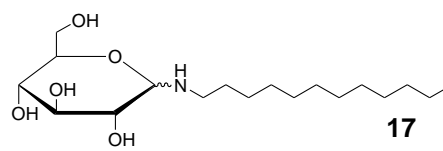
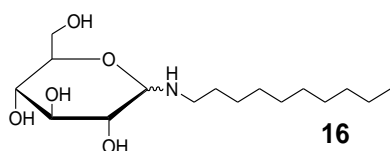
Na Tabela 8 são apresentadas as diferentes condições experimentais utilizadas e os rendimentos dos produtos obtidos.

**Tabela 8.** Reação de Maillard para a síntese de alquilaminas de açúcares.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Açúcares	Nº mmol Açúcar es	Amina	Nº mmol Amina	Solventes	Tempo (h)	T (°C)	Produtos																																																																								
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Metanol	12	30-35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (80 %)																																																																								
		R <sub>1</sub>			3	50-55 °C		<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Metanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (84 %)	R <sub>2</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (70 %)	R <sub>1</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (72 %)	R <sub>2</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (58 %)	R <sub>1</sub>	20	35 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)	R <sub>2</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Metanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (84 %)																																																																								
		R <sub>2</sub>			3	50-55 °C		<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (70 %)	R <sub>1</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (72 %)	R <sub>2</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (58 %)	R <sub>1</sub>	20	35 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)	R <sub>2</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>								
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (70 %)																																																																								
		R <sub>1</sub>			3	50-55 °C		<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (72 %)	R <sub>2</sub>	3	50-55 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (58 %)	R <sub>1</sub>	20	35 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)	R <sub>2</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>																			
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol	12	30-35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (72 %)																																																																								
		R <sub>2</sub>			3	50-55 °C		<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (58 %)	R <sub>1</sub>	20	35 °C	<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)	R <sub>2</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>																														
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	35 °C	<b>16 (R<sub>1</sub>)</b> (58 %)																																																																								
		R <sub>1</sub>			20	35 °C		<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)	R <sub>2</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>																																									
<b>Glicose</b> <b>1</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	35 °C	<b>17 (R<sub>2</sub>)</b> (49 %)																																																																								
		R <sub>2</sub>						<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)	R <sub>1</sub>			<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>																																																				
<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -decilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	24	50-55 °C	<b>18 (R<sub>1</sub>)</b> (51 %)																																																																								
		R <sub>1</sub>						<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)	R <sub>2</sub>																																																															
<b>Galactose</b> <b>2</b>	14	<i>n</i> -dodecilamina	21	Etanol/Água 90:10 (v/v)	20	50-55 °C	<b>19 (R<sub>2</sub>)</b> (44 %)																																																																								
		R <sub>2</sub>																																																																													



Através dos resultados apresentados na Tabela 8, é possível confirmar a eficiência da reação de Maillard para a obtenção de surfactantes alquilaminas de açúcares na sua forma não-iônica, com elevados rendimentos associados.

No trabalho de Li *et al.* (2014), os surfactantes sintetizados foram obtidos usando apenas o metanol como solvente, que é por si só um solvente tóxico. Numa tentativa de aumentar a



sustentabilidade da reação, o metanol foi substituído pelo etanol, como solvente da reação. Embora a solubilidade dos açúcares em etanol seja menor do que em metanol, esta mostrou ser eficiente e os surfactantes de açúcares modificados com alquilaminas foram obtidos com bons rendimentos associados. Tanto quanto nos é possível saber, é a primeira vez que estes surfactantes são obtidos por um processo mais verde.

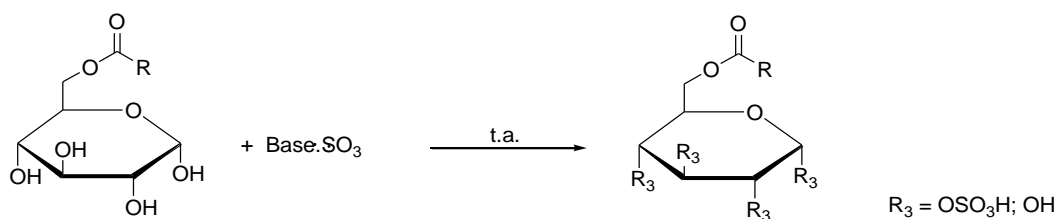
No caso da galactose **2**, esta mostrou ser insolúvel em metanol e etanol nas mais variadas proporções testadas e com aumento de temperatura. Perante isso, foi testada a reação de Maillard com a adição de uma pequena quantidade de água para a solubilização completa do açúcares e, posteriormente, a adição do álcool (metanol ou etanol) numa proporção 90:10 (v/v). Pela primeira vez, esta alteração no procedimento sintético mostrou ser eficiente na obtenção de amins de açúcares, cuja metade polar seja praticamente insolúvel em álcool.

Com esta modificação conseguiu-se não só ultrapassar os problemas da solubilidade de açúcares em álcool, como também criar um método sintético de amins de açúcares de elevada sustentabilidade e com rendimentos elevados associados.

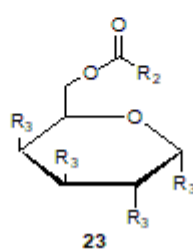
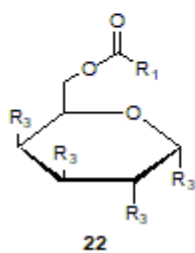
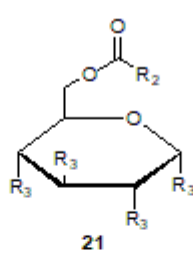
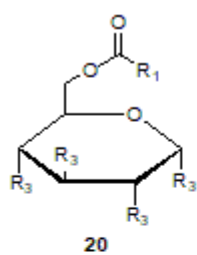
### **4.1.1.3 Reações de sulfonação para a síntese de surfactantes de açúcares aniônicos**

Os ésteres e amins de açúcares não-iônicos (**10**, **11**, **12**, **13**, **16**, **17**, **18** e **19**) sintetizados neste trabalho, que têm como metade polar os açúcares glicose **1** e galactose **2**, assim como os Span comerciais, foram sujeitos a reações de sulfonação com os complexos de trióxido de enxofre-trietilamina ( $\text{NEt}_3\cdot\text{SO}_3$ ) e trióxido de enxofre-piridina ( $\text{Pir}\cdot\text{SO}_3$ ), de modo a introduzir grupos ( $\text{SO}_3^-$ ) no anel do açúcares, conferindo carga negativa ao produto. Após o isolamento dos produtos de reação estes foram sujeitos a uma reação de troca iônica. Estes são dissolvidos em metanol e colocados a agitar com  $\text{NaHCO}_3$  sendo este adicionado em porções até pH básico.

Na Tabela 9 são apresentadas as diferentes condições de reação utilizadas para a sulfonação dos ésteres de açúcares não-iônicos sintetizados neste trabalho, com base nas reações descritas na literatura (Bazin 1998, Polat e Linhardt 2001b).

**Tabela 9.** Reação de sulfonação com os ésteres de açúcares sintetizados não-iônicos sintetizados.

Açúcares	R	Complexo	Condições da reação	Tempo (h)	Produto
<b>Glicose 1</b>	R <sub>1</sub>	NMe <sub>3</sub> ·SO <sub>3</sub>	DMF	24	<b>20</b>
<b>Glicose 1</b>	R <sub>2</sub>	NMe <sub>3</sub> ·SO <sub>3</sub>	DMF	24	<b>21</b>
<b>Glicose 1</b>	R <sub>1</sub>	Pir·SO <sub>3</sub>	Piridina	24	-
<b>Glicose 1</b>	R <sub>1</sub>	Pir·SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>20</b>
<b>Glicose 1</b>	R <sub>2</sub>	Pir·SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>21</b>
<b>Galactose 2</b>	R <sub>1</sub>	Pir·SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>22</b>
<b>Galactose 2</b>	R <sub>2</sub>	Pir·SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>23</b>



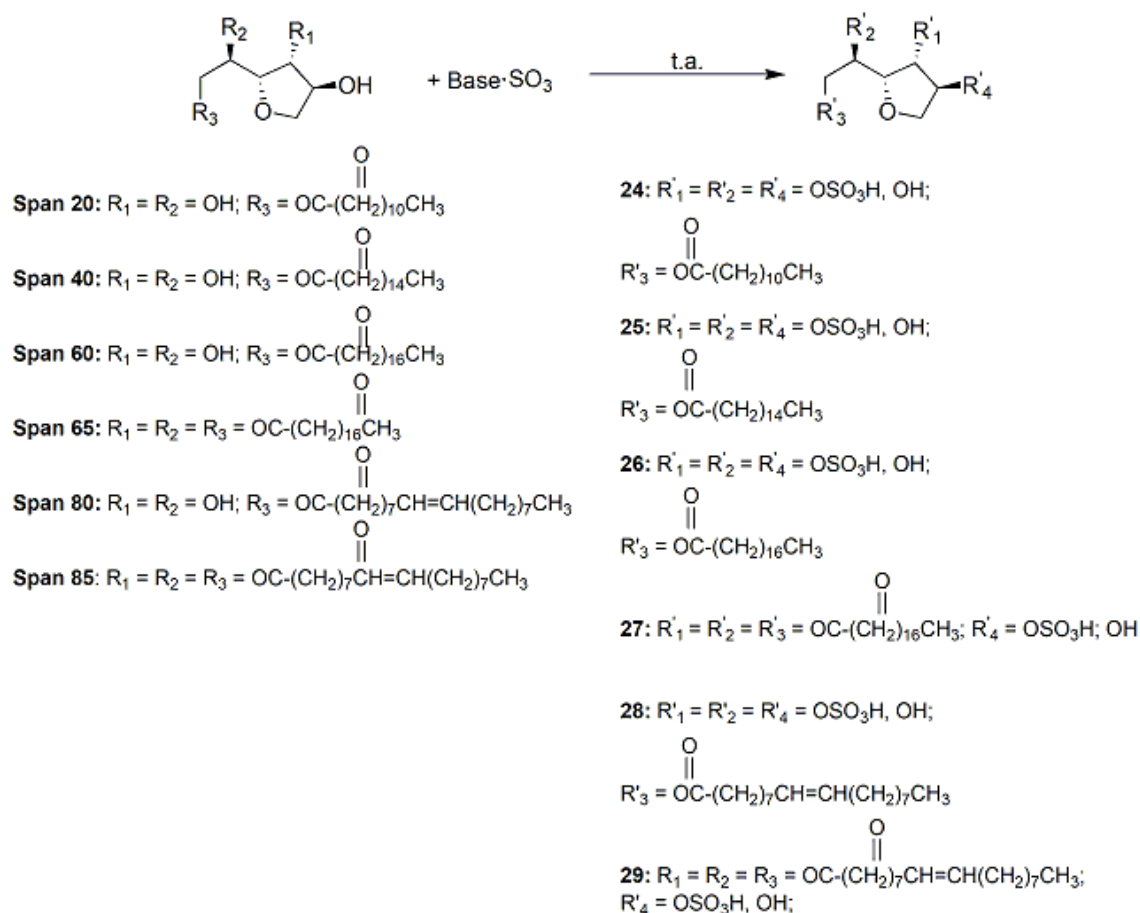
R<sub>1</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>  
 R<sub>2</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>CH<sub>3</sub>  
 R<sub>3</sub> = OSO<sub>3</sub>Na; OH

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois complexos usados para a sulfonação dos surfactantes de açúcares não-iônicos (Pir·SO<sub>3</sub> e NEt<sub>3</sub>·SO<sub>3</sub>) se mostraram eficientes na reação. No entanto, devido à maior reatividade do complexo de Pir·SO<sub>3</sub>, este permite efetuar a reação de sulfonação num tempo mais curto. Uma vez que os resultados foram mais satisfatórios com o complexo de piridina, este foi a escolha para as sulfonações seguintes.

Depois de otimizada a reação com os ésteres de açúcares sintetizados neste trabalho, esta foi aplicada aos ésteres de açúcares comerciais, estudados na primeira parte deste projeto, os Span. Foram obtidos, pela primeira vez, ésteres de sorbitano na sua forma aniônica, cujos resultados estão descritos na Tabela 10.

**Tabela 10.** Reação de sulfonação com os ésteres de sorbitano não-iônicos, comerciais.

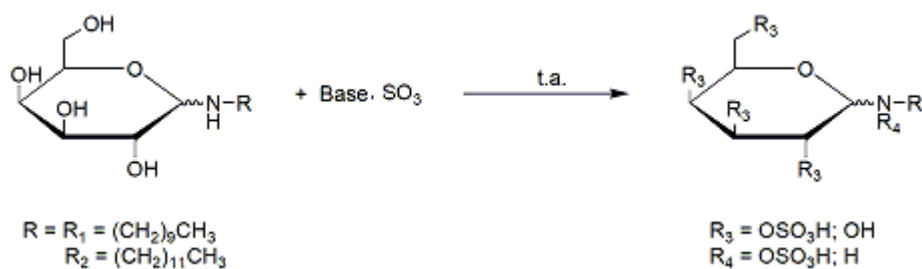


Span	R	Complexo	Condições de reação	Tempo (h)	Produto
Span 20	R <sub>1</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	24 (85%)
Span 40	R <sub>2</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	25 (70%)
Span 60	R <sub>3</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	26 (62%)
Span 65	3×R <sub>3</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	27 (57%)
Span 80	R <sub>4</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	28 (75%)
Span 85	3×R <sub>4</sub>	Pir-SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	29 (68%)

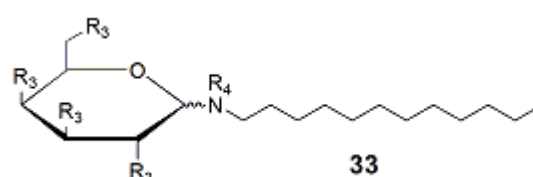
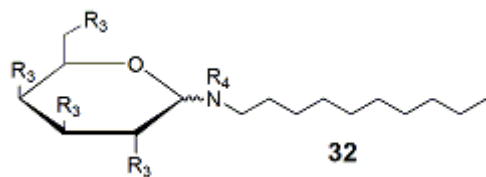
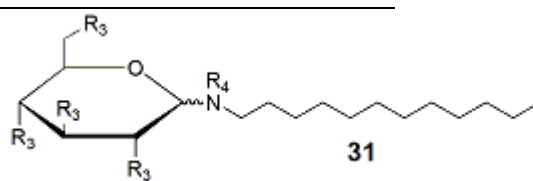
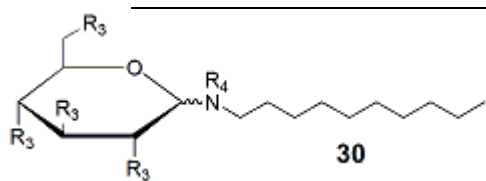
Com base nos resultados apresentados na Tabela 10, é possível confirmar a eficácia da reação de sulfonação com o uso do complexo de Pir-SO<sub>3</sub>. Pela primeira vez, foram sintetizados ésteres de sorbitano na sua forma aniônica, o que possibilita ampliar o número de aplicações desta classe de surfactantes.

Na Tabela 11, são apresentados os resultados da reação de sulfonação aplicada às alquilaminas de açúcares sintetizadas previamente neste trabalho, na forma não-iônica.

**Tabela 11.** Reação de sulfonação com as alquilaminas de açúcares sintetizadas.



Açúcares	R	Complexo	Condições da reação	Tempo (h)	Produto
<b>Glicose 1</b>	R <sub>1</sub>	Pir.SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>30</b> (70 %)
<b>Glicose 1</b>	R <sub>2</sub>	Pir.SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>31</b> (59 %)
<b>Galactose 2</b>	R <sub>1</sub>	Pir.SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>32</b> (63 %)
<b>Galactose 2</b>	R <sub>2</sub>	Pir.SO <sub>3</sub>	Piridina (N <sub>2</sub> )	3	<b>33</b> (59 %)



Através dos resultados apresentados na Tabela 11 e dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C descritos na Seção 2, é possível concluir que as alquilaminas de açúcares não-iônicas foram eficientemente substituídas, através de uma reação de sulfonação. Com este passo de síntese adicional foi possível a obtenção das alquilaminas de açúcares na forma aniônica. Com base na pesquisa bibliográfica efetuada previamente, acredita-se que este tipo de compostos foi desenvolvido pela primeira vez nesta tese e que as suas propriedades interfacial ainda não se encontram descritas.

Dado o número elevado de possíveis locais de substituição, uma vez que os anéis dos açúcares têm vários grupos hidroxila na sua estrutura e um grupo -NH suscetíveis de sulfonação, não é possível determinar por RMN qual(is) os grupos substituídos. No entanto, foram realizadas análises preliminares de microanálise que mostraram a presença de enxofre no produto, comprovando assim a substituição.

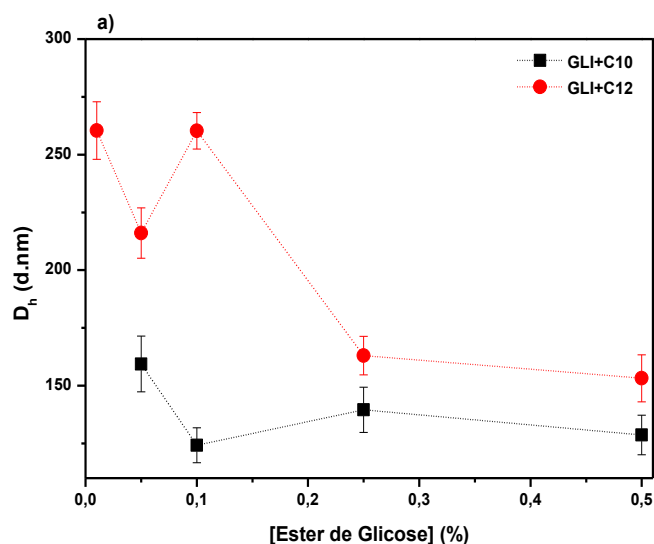
## 4.2 Propriedades físico-químicas e interfaciais de surfactantes de açúcares não-iônicos, sintetizados quimicamente

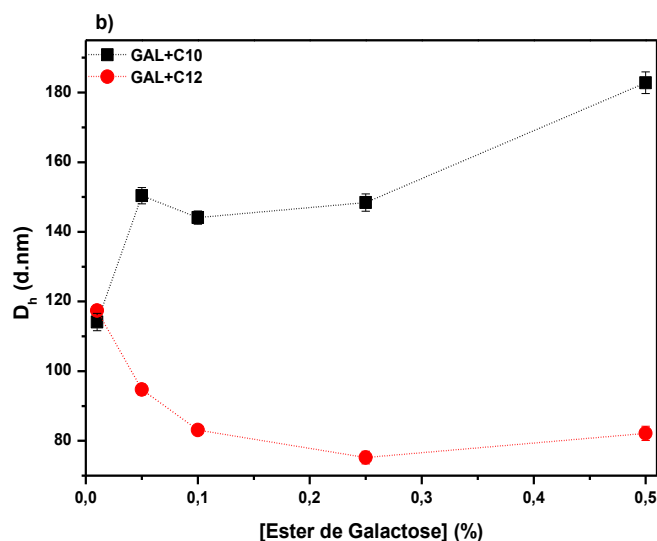
### 4.2.1 Ésteres de Açúcares não-iônicos

O comportamento em solução aquosa dos ésteres de açúcares sintetizados neste trabalho, através de reações de transesterificação, foi caracterizado. Foram realizados ensaios de DLS para a determinação do diâmetro hidrodinâmico ( $D_h$ ) dos agregados destes surfactantes em solução, foram determinados os valores de concentração em que estes surfactantes começam a formação de agregados (CET) através de tensiometria, assim como foram efetuados testes de emulsificação para determinar o poder destas moléculas na emulsificação de óleo de soja.

Na Figura 14 encontram-se representados os valores de  $D_h$  (nm) dos agregados dos ésteres de açúcares não-iônicos sintetizados neste projeto, obtidos nas concentrações de 0.01, 0.05, 0.1, 0.25 e 0.5% (p/p).

**Figura 14.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, de a) ésteres de glicose (caprilato e laurato de glicose) e b) ésteres de galactose (caprilato de laurato de galactose), em função da concentração (%), a 25 °C.





Conjuntamente com a capacidade de adsorver em superfícies e baixar a energia interfacial de sistemas, a principal propriedade dos surfactantes é a sua capacidade de formarem agregados quando são misturados em água.

Numa primeira análise da Figura 14, é possível concluir que o grupo hidrofílico dos 4 ésteres de açúcares em estudo parece assumir o principal papel no tamanho que os agregados formados terão. Apesar de, teoricamente, se ter estabelecido a relação de proporcionalidade entre o tamanho do grupo hidrofóbico de moléculas anfifílicas e o tamanho de agregados formados por essas moléculas, em que surfactantes com grupos apolares de maior comprimento formam agregados de maiores diâmetros, essa relação não é observada em todos os casos (Hamada e Einaga 2005).

No caso do diâmetro hidrodinâmico dos agregados dos ésteres de açúcares apresentados acima, verifica-se que no caso dos ésteres de glicose, essa relação estabelecida teoricamente se confirma. No entanto, quando analisamos o gráfico b) da Figura 14, é perceptível que os agregados dos ésteres de galactose que apresentam tamanhos maiores, são aqueles cuja metade hidrofóbica é menor, o caprilato de galactose. No entanto, pode considerar-se que a diferença de tamanho entre o caprilato e o laurato dos ésteres é irrisória, uma vez que é de apenas dois grupos  $-CH_2$ , e esta não é suficiente para ter uma grande influência no tamanho do agregado.

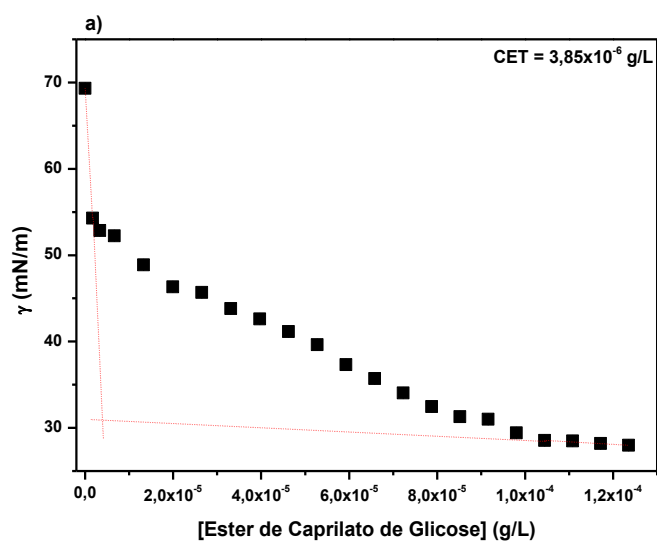
Assim, o grupo hidrofílico parece ser o responsável pelos tamanhos obtidos para estes surfactantes de açúcares.

Devido ao grande número de grupos hidroxila na constituição das moléculas de açúcares, estes conseguem formar facilmente ligações de hidrogênio com a água. O número de ligações formadas depende do número e posição dos grupos  $-OH$  dos açúcares, ou seja, a estereoquímica destas moléculas assume uma grande importância para justificar processos moleculares em que estes se encontram envolvidos.

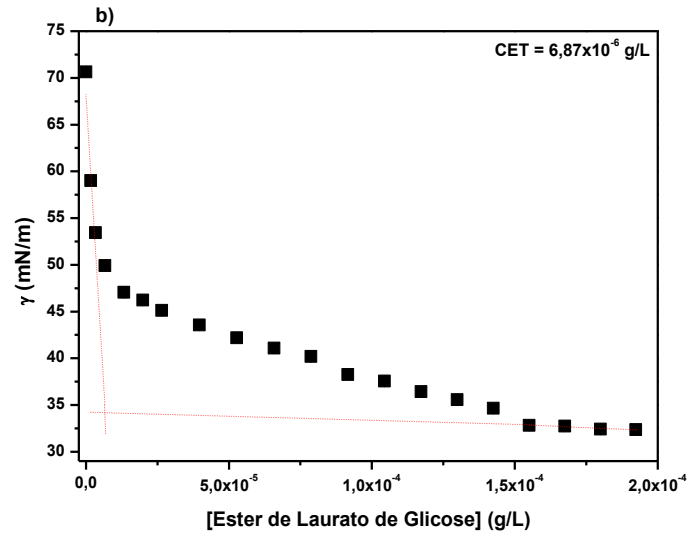
Como já foi referido anteriormente, o grupo -OH do C4 da molécula de glicose encontra-se na posição equatorial, e na galactose este encontra-se na posição axial (esta é a única diferença estrutural entre estes dois açúcares). O fato de na galactose o grupo -OH do C4 se encontrar nesta posição, faz com que a sua reatividade diminua devido ao impedimento estérico que o grupo do C5 cria. Ao existir este impedimento, é provável que a ligação de hidrogênio com a água não ocorra e, ao não ocorrer, a molécula de galactose vai adquirir alguma rigidez (Garofalakis *et al.* 2000). Essa rigidez vai fazer com que os agregados formados por ésteres de açúcares de galactose, apresentem um menor diâmetro quando comparados com os agregados formados com ésteres de glicose.

Foram também calculadas as concentrações nas quais os ésteres de açúcares sintetizados estabilizaram a tensão superficial da água, e iniciaram a formação dos agregados. Estes resultados foram obtidos através de medidas de tensiometria de anel Du Noüy, e são apresentados nas Figuras 15 e 16, assim como os valores das CET apresentados na Tabela 12.

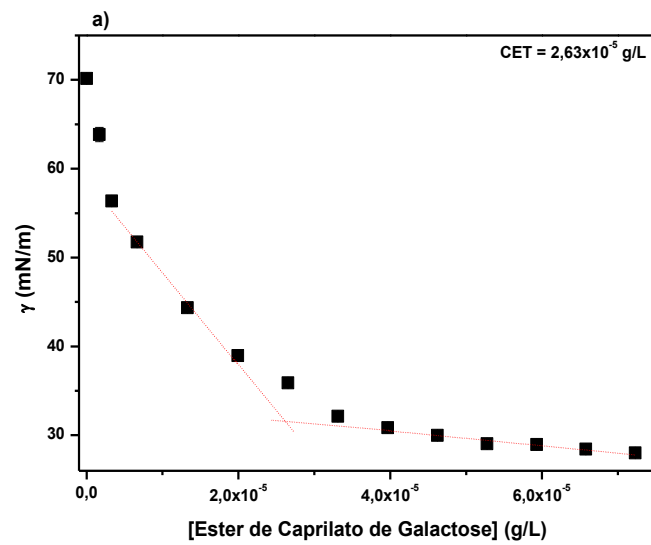
**Figura 15.** Tensão superficial da água com a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.

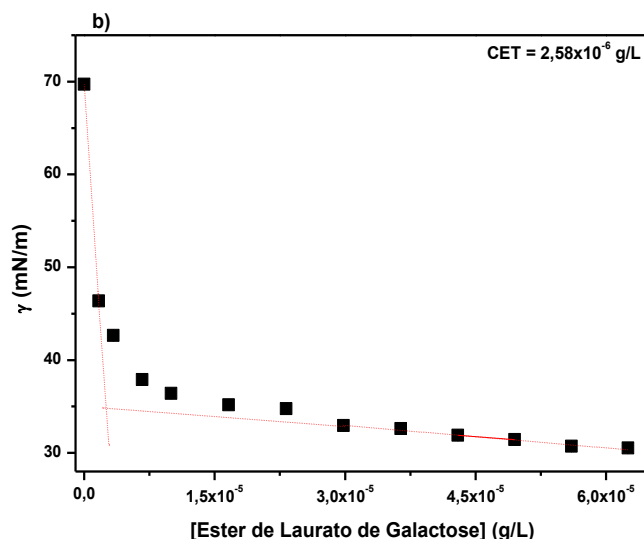






**Figura 16.** Tensão superficial da água com o a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Tabela 12.** Valores de CET dos ésteres de açúcares sintetizados, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

Éster de Açúcares	CET (g/L)
Caprilato de Glicose	$3,85 \times 10^{-6}$
Laurato de Glicose	$6,87 \times 10^{-6}$
Caprilato de Galactose	$2,63 \times 10^{-5}$
Laurato de Galactose	$2,58 \times 10^{-6}$

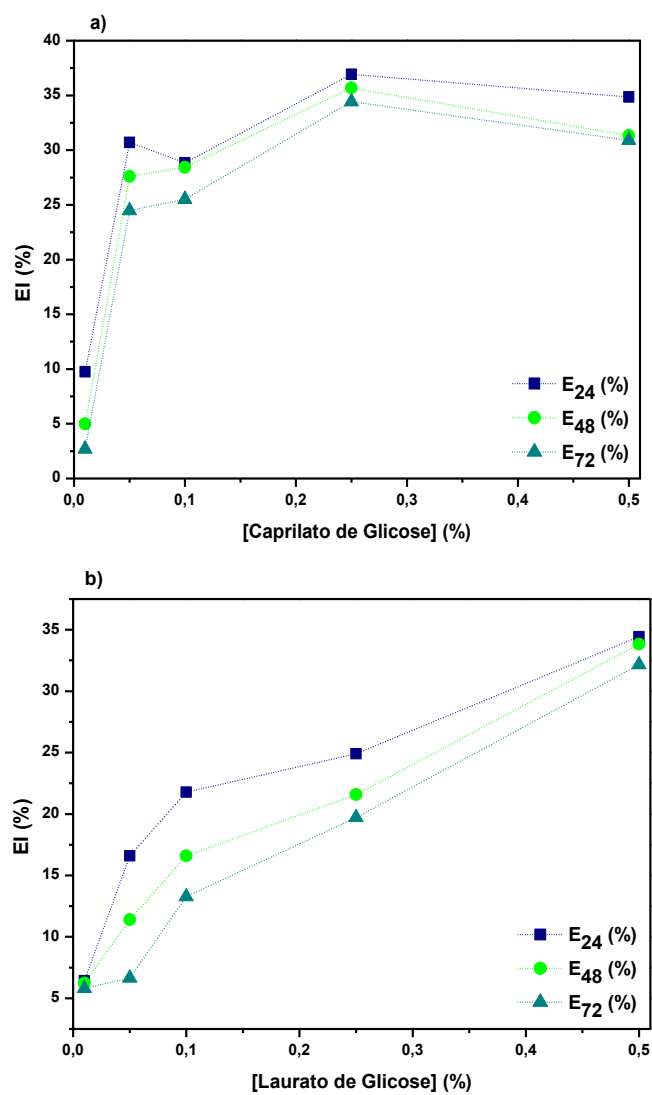
No caso de medidas relacionadas com a atividade superficial de surfactantes, como as que efetuamos por tensiometria, o fator mais importante diz respeito ao comprimento e número de grupos hidrofóbicos da molécula anfifílica.

Surfactantes com grupos hidrofóbicos maiores vão fornecer à molécula um caráter hidrofóbico mais acentuado e, conseqüentemente, esta terá menores valores de CET. Este processo acontece devido à maior tendência das moléculas de surfactante se auto-agregarem para diminuir o contato com a água.

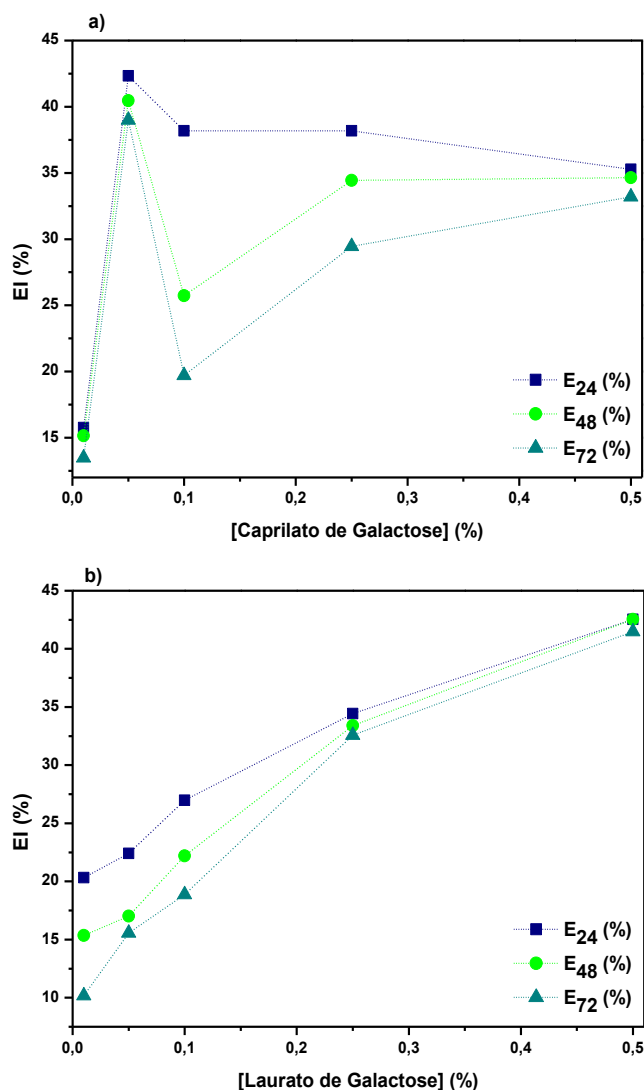
Apesar de no caso dos ésteres de glicose essa relação não se verificar, uma vez que o valor de CET do laurato de glicose (C12) é ligeiramente superior ao do caprilato de glicose (C10), no caso dos ésteres de galactose a relação entre o comprimento da cadeia e a concentração de estabilização da tensão superficial da água é clara: comprimento de cadeia hidrofóbica maior, menor valor de CET.

A última propriedade dos ésteres de açúcares sintetizados a ser estudada, foi a sua capacidade de emulsificação de gorduras hidrofóbicas (óleo de soja). Foram produzidas emulsões O/W com as soluções dos ésteres sintetizados, com óleo de soja e foram realizados ensaios e determinados os índices de emulsificação (EI) destes surfactantes após 24, 48 e 72 h, cujos resultados são apresentados nas Figuras 17 e 18.

**Figura 17.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para o a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose, em função da concentração de surfactante de açúcar, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.



**Figura 18.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para o a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose, em função da concentração de surfactante de açúcar, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.



Através da análise das Figuras 17 e 18 observa-se o potencial de emulsificação que os ésteres de açúcares sintetizados apresentaram, ao mostrarem valores relevantes de EI.

Uma vez que maior eficiência de atividade superficial está diretamente relacionada com uma maior capacidade de formação de emulsões (como já foi explicado neste trabalho), verifica-se que no caso dos ésteres de glicose, aquele que apresentou menor valor de CET, o caprilato de glicose, foi também aquele que apresentou um poder de emulsificação ligeiramente superior, quando comparado com o laurato de glicose.

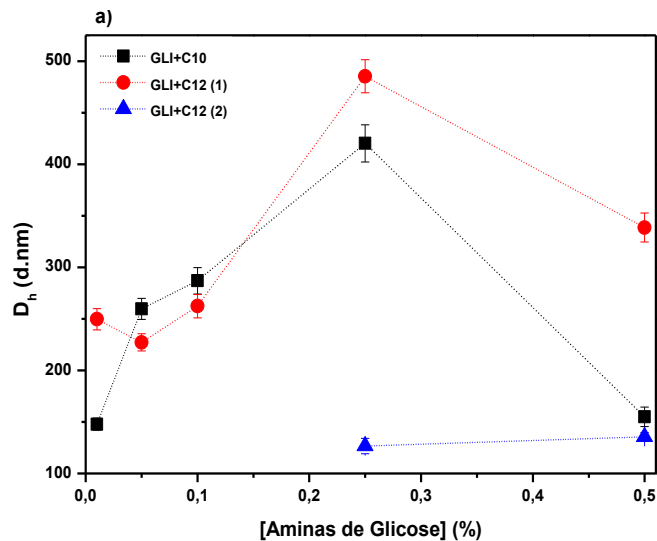
No caso dos ésteres de galactose, essa propriedade já não está tão evidente uma vez que apresentaram similar porcentagem de emulsificação de óleo de soja.

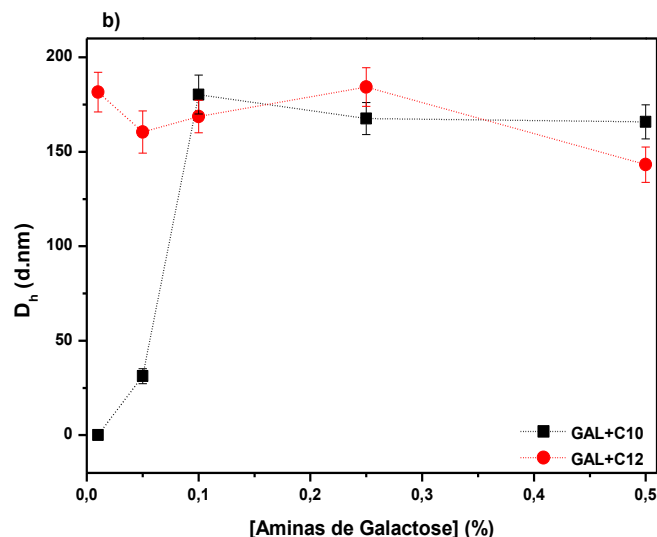
À exceção do caprilato de galactose, todos os ésteres de açúcares não-iônicos mostraram também uma boa capacidade de estabilização das emulsões O/W, uma vez que os valores dos EI pouco diminuíram com o tempo.

#### 4.2.2 Alquilaminas de Açúcares não-iônicas

Outra classe de surfactantes de açúcares sintetizados neste projeto foram as alquilaminas de açúcares não-iônicas. Assim como os ésteres de açúcares, também foram determinadas algumas das suas propriedades relacionadas com a atividade superficial e poder de emulsificação. Na Figura 19 são apresentados os resultados do diâmetro hidrodinâmico (nm) obtidos para os agregados formados por esta classe de surfactantes.

**Figura 19.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS, das a) alquilaminas de glicose (decilamina e dodecilamina de glicose) e b) aminas de galactose (decilamina e dodecilamina de galactose), em função da concentração de surfactante (%), a 25 °C.





Através da análise da Figura 19 verifica-se que no caso das aminas de glicose (gráfico a) o diâmetro hidrodinâmico dos agregados obtidos vão ao encontro ao estabelecido teoricamente, onde se observa que a dodecilamina de glicose (C<sub>12</sub>) formou agregados de tamanhos maiores, quando comparada com a decilamina. Observa-se também que a dodecilamina de glicose apresenta duas populações na sua curva de distribuição de tamanhos, nas concentrações maiores de surfactante (linha azul).

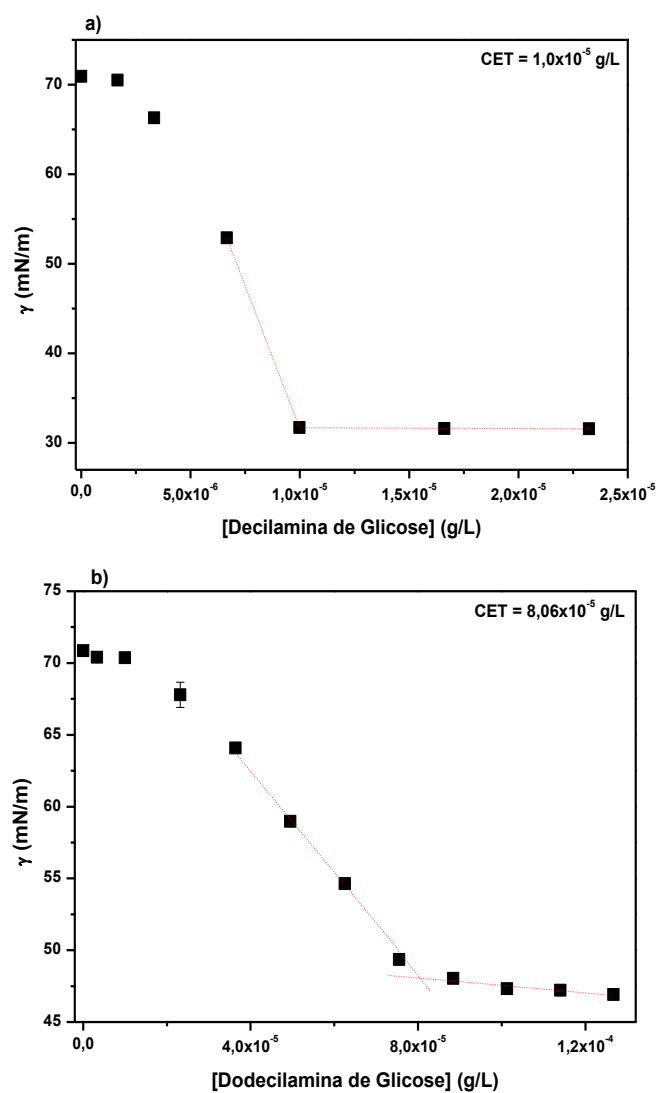
Em relação às alquilaminas de galactose, o tamanho mostrado na Figura 19 b), indicam de que o surfactante com cadeia de maior tamanho, a dodecilamina de galactose, é o que forma agregados de maior diâmetro. No entanto, essa relação é mais clara a concentrações de surfactante baixas, uma vez que nas concentrações mais elevadas os valores dos diâmetros foram similares em ambas as aminas.

De uma maneira geral, comparando os resultados de DLS dos ésteres e alquilaminas de açúcares sintetizados nesta tese, é possível verificar que as alquilaminas de açúcares formam agregados maiores, principalmente nas concentrações mais altas em estudo.

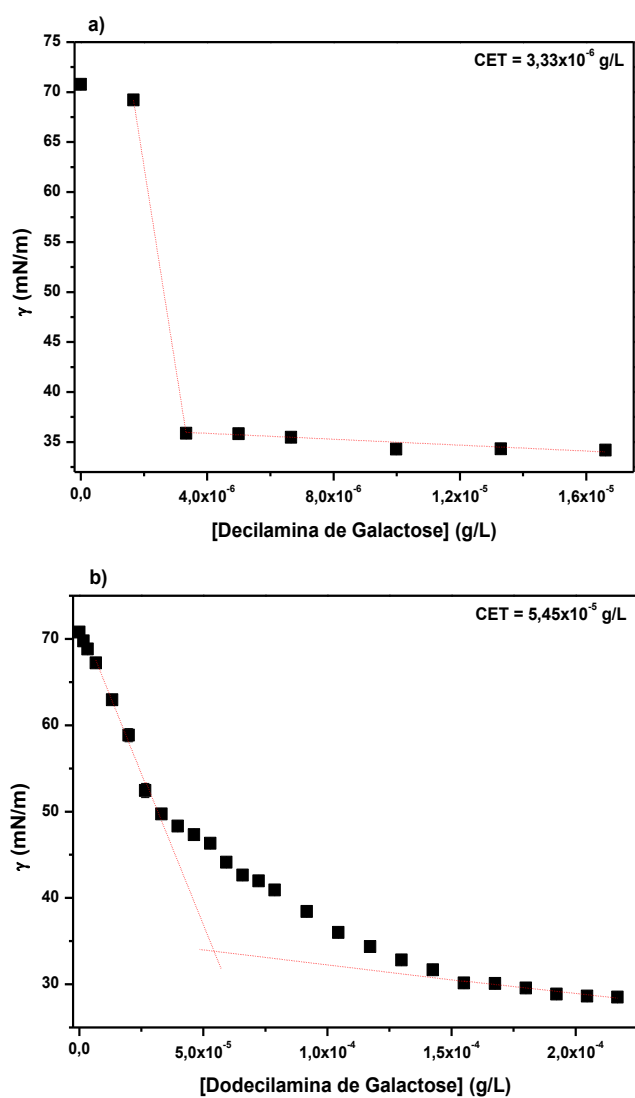
É, assim, perceptível que o tipo de grupo funcional presente nos surfactantes de açúcares influencie nas propriedades destas moléculas. Esta diferença no tamanho entre as duas classes de surfactantes de açúcares pode ser explicada pelo fato do grupo amina aumentar o caráter hidrofóbico do surfactante, uma vez que é uma ligação mais forte que a ligação éster e, conseqüentemente, irá reduzir a liberdade rotacional da molécula de surfactante, condicionando a sua conformação, resultando na formação de agregados maiores.

Na Figura 20 e 21 são apresentados resultados de tensão superficial da água pela ação das alquilaminas de açúcares sintetizadas, e na Tabela 13 encontram-se as CET para esta família de surfactantes de açúcares.

**Figura 20.** Tensão superficial da água com a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



**Figura 21.** Tensão superficial da água com a a) decilamina de galactose e b) dodecilamina de galactose, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



**Tabela 13.** Valores de CET obtidos para as alquilaminas de açúcares sintetizadas, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

Alquilamina de Açúcares	CET (g/L)
Decilamina de Glicose	$1,0 \times 10^{-5}$
Dodecilamina de Glicose	$8,06 \times 10^{-5}$
Decilamina de Galactose	$3,33 \times 10^{-6}$
Dodecilamina de Galactose	$5,45 \times 10^{-5}$

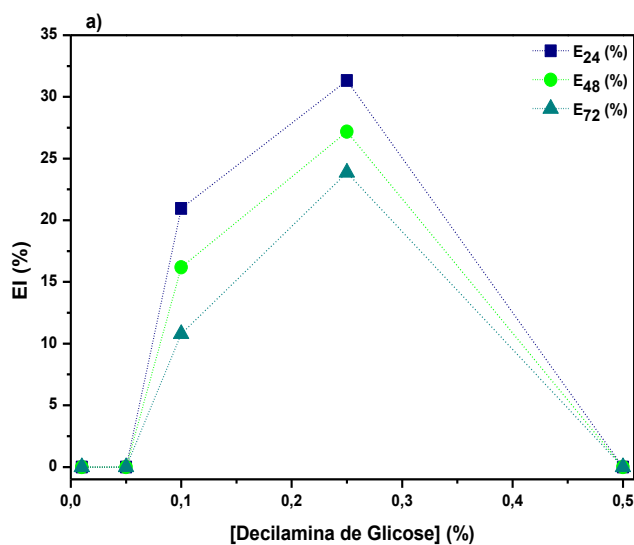


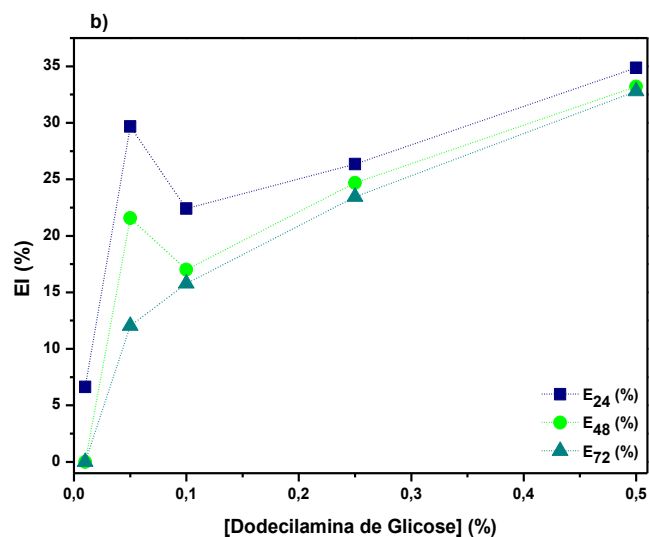
Com base nos resultados acima apresentados, verifica-se que os surfactantes com um grupo hidrofóbico maior não foram os que apresentaram maior capacidade de diminuir a tensão superficial da água, resultando em menores valores de CET. Dado que a diferença no comprimento das aminas é de apenas dois grupos  $-CH_2$ , isso pode ser a justificação para o que se obteve, visto que a diferença não é significativa.

Relativamente às metades hidrofílicas, a glicose e galactose, é possível concluir que as alquilaminas de galactose são as que apresentam menores valores de CET. Mais uma vez, isso é motivado pelo fato de, devido a impedimentos estereoquímicos, a galactose apresentar menor afinidade para formar ligações de hidrogênio com a água, o que aumenta a hidrofobicidade do surfactante como um todo.

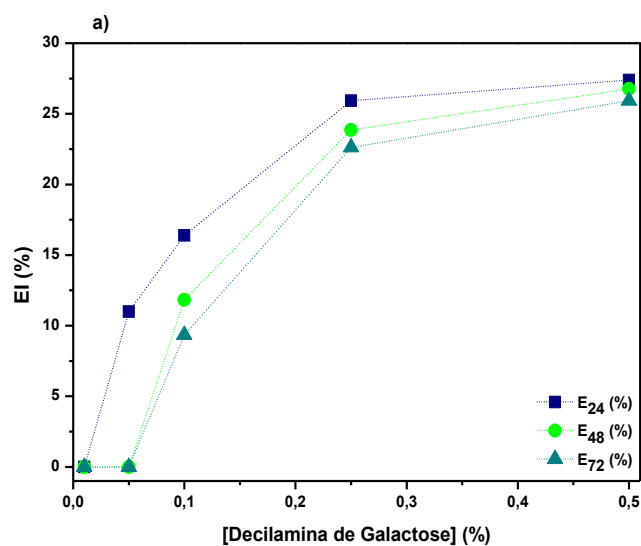
As alquilaminas de açúcares, à semelhança dos ésteres de açúcares sintetizados, também foram avaliadas quanto ao seu poder de formação de emulsões O/W com o óleo de soja. Os resultados dos EI calculados são apresentados nas Figuras 22 e 23.

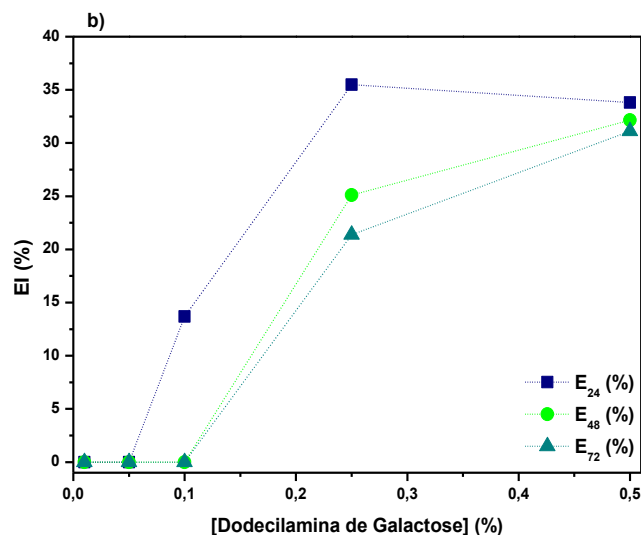
**Figura 22.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.





**Figura 23.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) decilamina de galactose e b) dodecilamina de galactose, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.





De acordo com as Figuras acima pode-se concluir que as aminas de açúcares com grupos hidrofóbicos maiores são aquelas que apresentaram maior eficiência na emulsificação do óleo de soja. Isto era expectável dado que surfactantes mais hidrofóbicos deslocam-se mais rapidamente para as interfaces (líquido-ar, líquido-líquido) e adsorvem mais eficientemente nas mesmas, provocando uma diminuição das energias associadas. No caso das emulsões O/W obtidas com as soluções das alquilaminas sintetizadas e óleo de soja, essa relação é clara.

Observa-se também uma relação proporcional entre o aumento da concentração de surfactante e o aumento da capacidade de emulsificação dos mesmos, à exceção da decilamina de glicose (Figura 22 a), onde na concentração mais elevada não ocorreu a formação de emulsão. Isto pode ser justificado pela presença de alguns precipitados causando diminuição na quantidade de surfactante efetiva em solução disponível para formar emulsão.

### 4.3 Propriedades físico-químicas e interfaciais dos surfactantes de açúcares aniônicos, sintetizados quimicamente

Depois de sintetizados quimicamente os ésteres e alquilaminas de açúcares na sua forma não-iônica, estes surfactantes foram submetidos a novos passos sintéticos para lhes conferir carga negativa, nos grupos de açúcares que os constituem. Paralelamente, foram também aplicados esses passos sintéticos nos ésteres de sorbitano (Span).

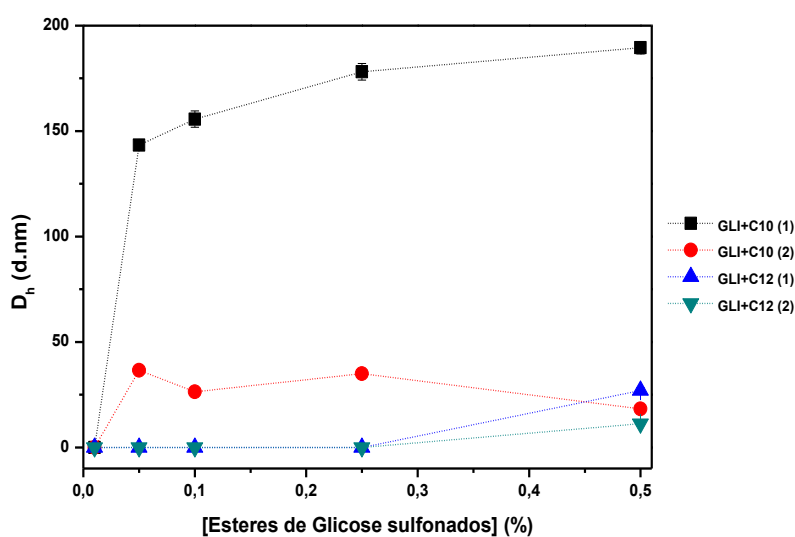
Todas estas famílias de surfactantes de açúcares, sintetizados nesta tese, e comerciais, foram submetidos a reações de sulfonação e de troca iônica (o que lhes conferiu a presença do

contra-íon  $\text{Na}^+$ ), para a sua obtenção na forma aniônica. Nos próximos pontos são apresentados os resultados da sua caracterização.

#### 4.3.1 Ésteres de Açúcares aniônicos sintetizados

O comportamento em água dos surfactantes caprilato e laurato de glicose e galactose aniônicos foi avaliado através dos métodos utilizados na caracterização dos seus homólogos na forma não-iônica. A Figura 24 mostra o diâmetro dos agregados formados em solução aquosa para os ésteres de glicose na forma aniônica. Relativamente aos surfactantes caprilato e laurato de galactose, não foi possível a obtenção de sinal no DLS por parte destas soluções, em nenhuma das concentrações testadas. Isto poderá ser devido ao fato de estes surfactantes formarem micelas de tamanhos muito reduzidos e se encontrarem fora da faixa de tamanhos detetada pelo aparelho.

**Figura 24.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, do caprilato e laurato de glicose aniônicos, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



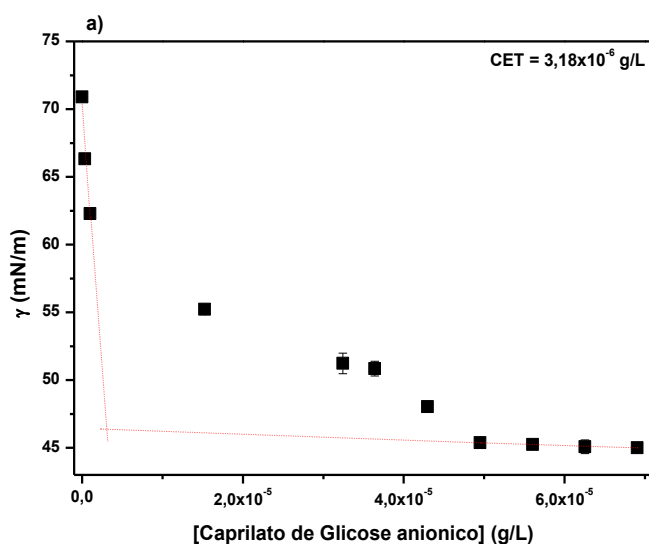
De acordo com a Figura 24 tanto o caprilato (linhas preta e vermelha) como o laurato de glicose (linha azul e turquesa) na forma aniônica mostram a presença de duas populações de tamanhos diferentes. Enquanto o caprilato de glicose aniônico forma agregados de tamanhos de vesículas e de micelas, o laurato de glicose aniônico, consiste de duas populações de micelas com tamanhos diferentes.

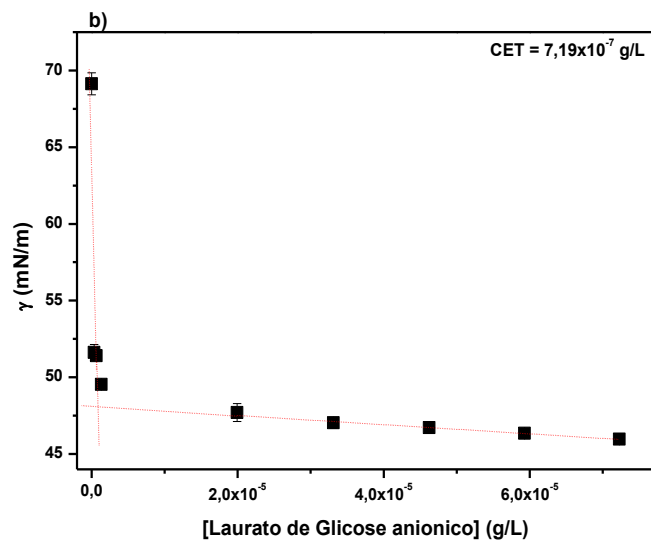
Mais uma vez não se observa a relação estabelecida teoricamente entre os grupos hidrofóbicos e os tamanhos dos agregados. Neste caso, o surfactante que apresentou a capacidade de formação de agregados de maior diâmetro é o que apresenta um grupo hidrofóbico menor.

Como seria expectável, verifica-se que para ambos os surfactantes o tamanho dos agregados formados é proporcional à concentração de surfactante utilizado.

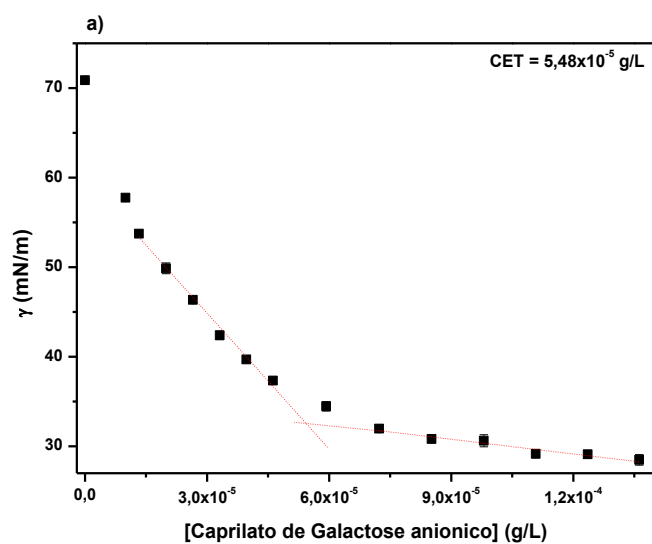
Nas Figuras 25 e 26 são apresentados os resultados resultantes das medidas da tensão superficial da água na presença dos ésteres de açúcares aniônicos sintetizados neste trabalho. Na Tabela 14 encontram-se descritos os valores de CET (no caso do laurato de glicose é a sua CMC, devido ao fato de os diâmetros hidrodinâmicos dos agregados obtidos com este surfactante serem condizentes com o tamanho de micelas esféricas) destes compostos.

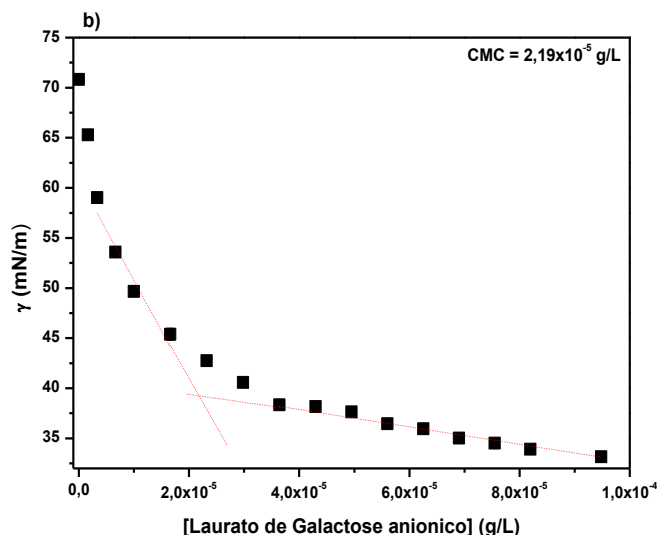
**Figura 25.** Tensão superficial da água com a) caprilato de glicose e b) laurato de glicose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Figura 26.** Tensão superficial da água com a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Tabela 14.** Valores de CET obtidos para os ésteres de açúcares aniônicos sintetizados, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

Éster de Açúcares	CET (g/L)
Caprilato de Glicose	$3,18 \times 10^{-6}$
Laurato de Glicose	$7,19 \times 10^{-7}$
Caprilato de Galactose	$5,48 \times 10^{-5}$
Laurato de Galactose	$2,19 \times 10^{-5}$ (CMC)

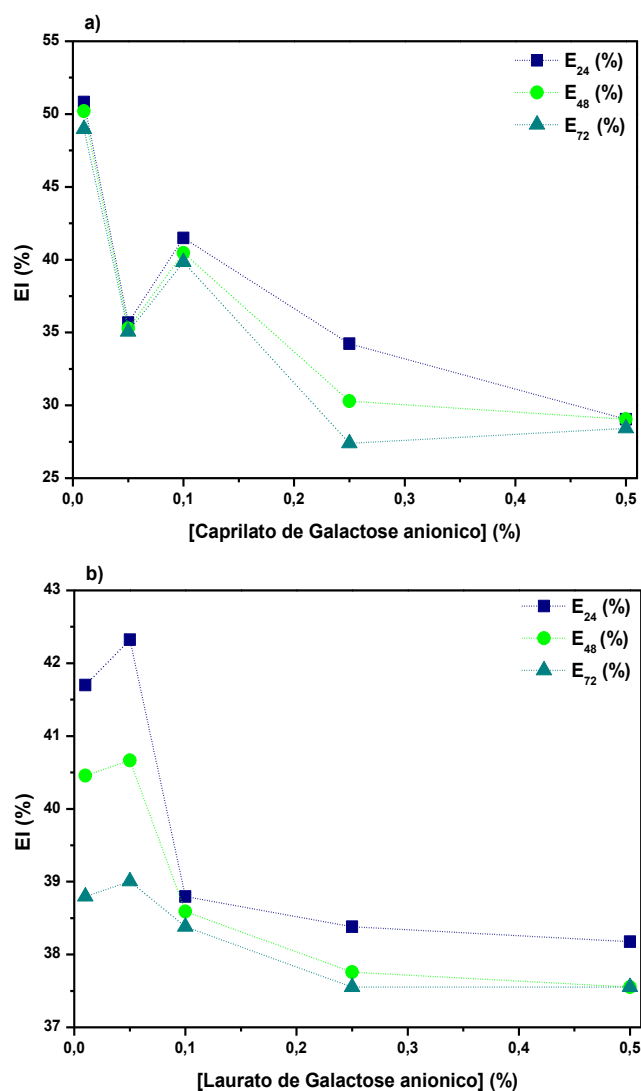
Os ésteres de açúcares aniônicos sintetizados mostraram capacidade para reduzir a tensão superficial da água para valores aceitáveis. Tanto no caso dos surfactantes com a glicose como grupo polar, como a galactose, os valores de CET obtidos corroboram o fato de serem os surfactantes mais hidrofóbicos com maior capacidade de adsorver em interfaces.

Neste caso em que os ésteres de açúcares se encontram na forma aniônica, é possível também observar a grande diferença nos valores de CET entre os surfactantes com os grupos hidrofílicos diferentes: os ésteres de glicose aniônicos, apresentam CET menores do que os constituídos por galactose. Este fato parece estar novamente relacionado com a única diferença estrutural entre os açúcares, a posição do grupo -OH no C4. O mais provável é que esse -OH da galactose não tenha sido substituído pelo grupo  $-\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$  uma vez que estava mais impedido, e que os restantes grupos -OH tenham todos sofrido essa substituição. Com esta substituição a hidrofiliicidade da molécula aumentou consideravelmente e estas não apresentaram ter tanta capacidade para reduzir a tensão superficial e, conseqüentemente, apresentaram valores de CET mais elevados.

Na Figura 27 são apresentados os valores de EI para o caprilato e laurato de galactose aniônicos com o óleo de soja. Os ensaios realizados com o caprilato e laurato de glicose na sua

forma aniônica mostraram que estes surfactantes não apresentam capacidade de emulsificação do óleo de soja, e em nenhum dos tempos de análise ocorreu a formação de emulsão.

**Figura 27.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) caprilato de galactose e b) laurato de galactose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.



Através da Figura 27 pode-se concluir que para ambos os ésteres de galactose aniônicos, eles apresentam capacidade de emulsificar maiores quantidades de óleo de soja quanto menor for a sua concentração.

Observa-se, mais uma vez, que o surfactante com maior hidrofobicidade conseguiu maior eficiência em baixar a TIF entre o óleo e a água e em formar a emulsão O/W. Estes resultados corroboram os valores de CET obtidos para as CET destes surfactantes.

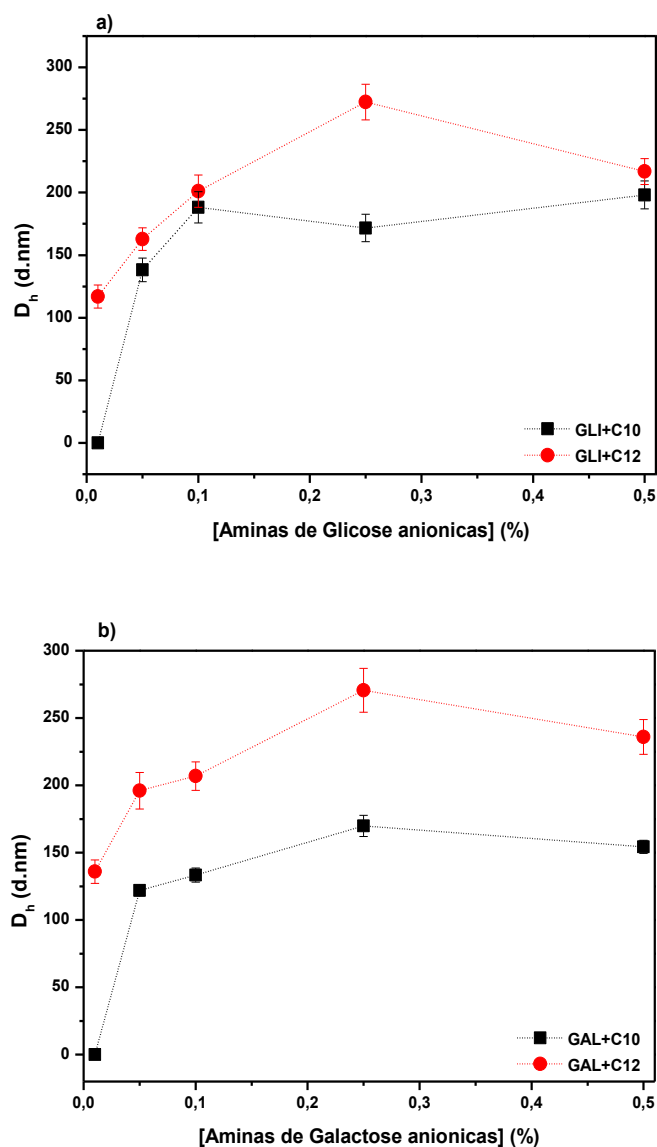


### 4.3.2 Alquilaminas de Açúcares aniônicas sintetizadas

Neste ponto serão apresentados e discutidas as propriedades interfacial das alquilaminas de açúcares aniônicas, previamente sintetizadas através de reações de sulfonação. Existe pouca informação na literatura acerca do comportamento desta classe de surfactantes em água.

Na Figura 28, tem-se o diâmetro hidrodinâmico dos agregados formados por estes surfactantes de açúcares aniônicos.

**Figura 28.** Diâmetros hidrodinâmicos (nm) dos agregados em água, obtidos por DLS, das a) alquilaminas de glicose (decilamina e dodecilamina de glicose) aniônicas e b) aminas de galactose (decilamina e dodecilamina de galactose) aniônicas, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



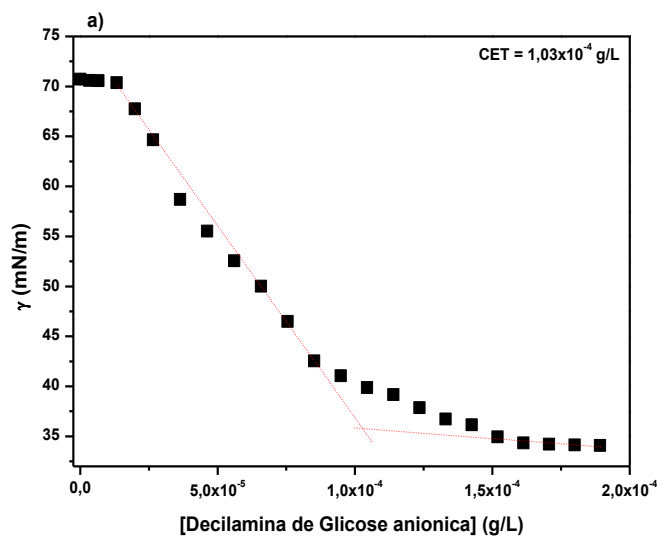
Como esperado, as alquilaminas de açúcares aniônicas obtidas neste trabalho apresentam uma relação proporcional entre os tamanhos dos agregados formados e a concentração de surfactante utilizada. O caprilato de glicose, assim como o de galactose, na concentração mais baixa de 0.01% (p/p), indica a formação de micelas em solução. Em concentrações superiores, todos os surfactantes apresentam populações de vesículas.

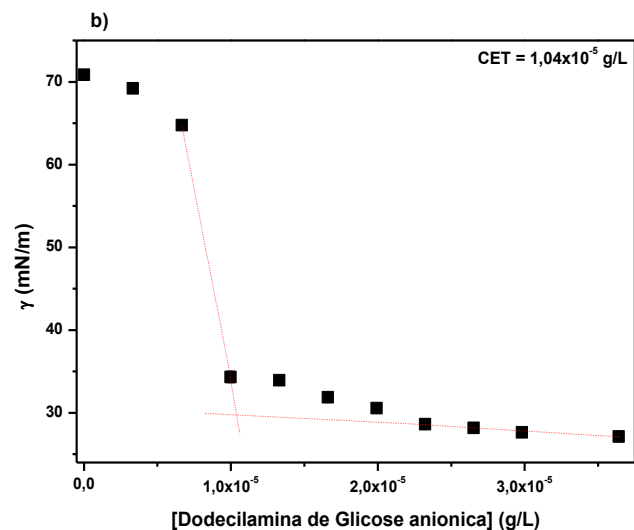
Conclui-se também que quanto maior for o tamanho do grupo hidrofóbico, maior será o diâmetro da estrutura formada em solução.

Em relação à diferença estrutural dos açúcares, verifica-se que essa não é significativa nos tamanhos medidos, e que o grupo hidrofóbico assume o papel principal no processo de agregação.

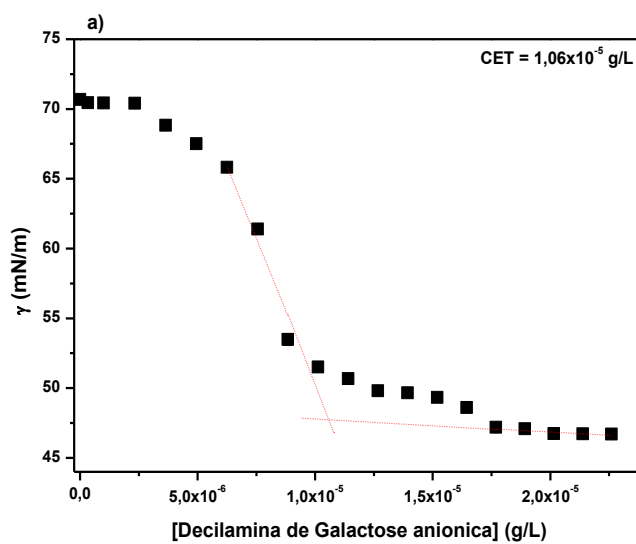
Nas Figura 29 e 30, assim como na Tabela 15, são apresentados os resultados obtidos por tensiometria relativos à tensão superficial da água, com a ação destas novas moléculas de surfactantes.

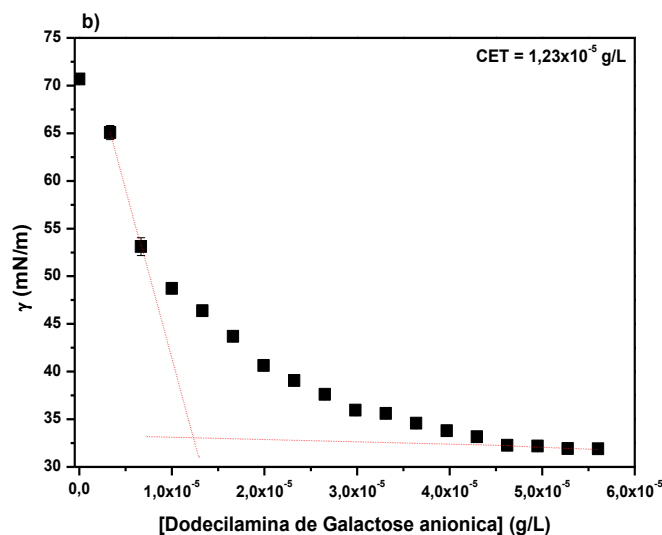
**Figura 29.** Tensão superficial da água com a) decilamina de glicose aniônica e b) dodecilamina de glicose aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Figura 30.** Tensão superficial da água com a) decilamina de galactose aniônica e b) dodecilamina de galactose aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Tabela 15.** Valores de CET obtidos para as alquilaminas de açúcares aniônicas sintetizadas, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

Alquilamina de Açúcares	CET (g/L)
Decilamina de Glicose	$1,03 \times 10^{-4}$
Dodecilamina de Glicose	$1,04 \times 10^{-5}$
Decilamina de Galactose	$1,06 \times 10^{-5}$
Dodecilamina de Galactose	$1,23 \times 10^{-5}$

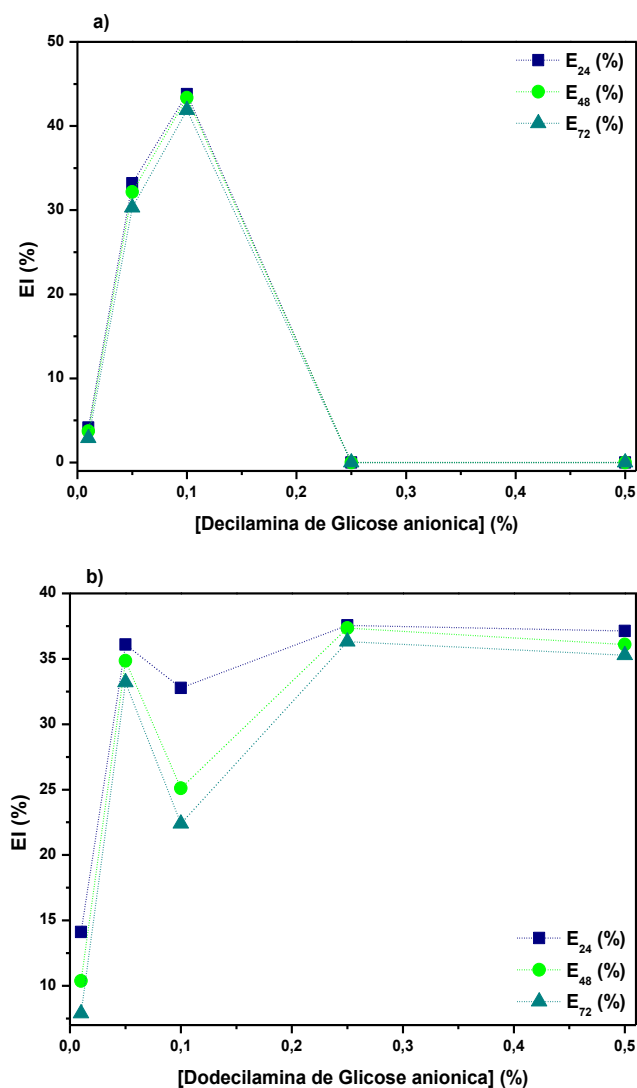
Observa-se novamente que os valores de CET obtidos para os surfactantes com grupos hidrofóbicos maiores são menores do que os obtidos para os surfactantes com grupos hidrofóbicos com menos grupos  $-\text{CH}_2$  (no caso das aminas de galactose não foi verificada essa relação, mas a diferença entre ambos é irrisória).

Mais uma vez, o tamanho do grupo hidrofílico mostra não ter grande relevância nesta propriedade do surfactante embora, comparando os valores de CET das aminas de açúcares não-iônicas e aniônicas, seja clara que a presença de uma carga no grupo polar do surfactante afeta a sua capacidade de baixar a tensão superficial da água. Cabe observar que as aminas de açúcares na sua forma aniônica apresentaram maior solubilidade em água, do que as não-iônicas, sendo que esta característica também está diretamente relacionada às concentrações de estabilização da tensão superficial da água. No caso de surfactantes aniônicos (assim como dos catiônicos) vão existir interações eletrostáticas entre os grupos hidrofílicos, motivadas pela presença de carga, o que irá diminuir a eficiência destes surfactantes em baixar a tensão superficial da água e aumentar as CET (ou as CMC no caso dos surfactantes formarem micelas).

Dado que surfactantes aniônicos são os mais utilizados em formulações de produtos de limpeza, foi também avaliada a capacidade de emulsificação de óleo de soja por parte das aminas

de açúcares aniônicas sintetizadas. Esses resultados são apresentados na Figura 31 e apenas para as aminas de glicose aniônicas uma vez que, à semelhança dos ésteres de glicose aniônicos, as aminas de galactose aniônicas não mostraram capacidade para formar e estabilizar emulsões O/W com o óleo de soja.

**Figura 31.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) decilamina de glicose e b) dodecilamina de glicose na sua forma aniônica, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.



Analisando os resultados dos índices de emulsificação obtidos para as alquilaminas de glicose aniônicas, com o óleo de soja, é possível verificar que a dodecilamina de glicose apresentou maior eficiência de emulsificação e estabilização da emulsão formada, quando comparado com o seu homólogo com um grupo hidrofóbico de C<sub>10</sub>.

Estes resultados corroboram os de tensiometria e para as CET calculadas, uma vez que a dodecilamina de glicose aniônica mostrou um valor de CET muito inferior ao da decilamina de glicose.

Como seria expectável, o surfactante mais hidrofóbico apresentou maior capacidade de adsorver na interface água-óleo e reduzir a tensão interfacial entre ambos, como aconteceu com a interface água-ar (valores de tensão superficial).

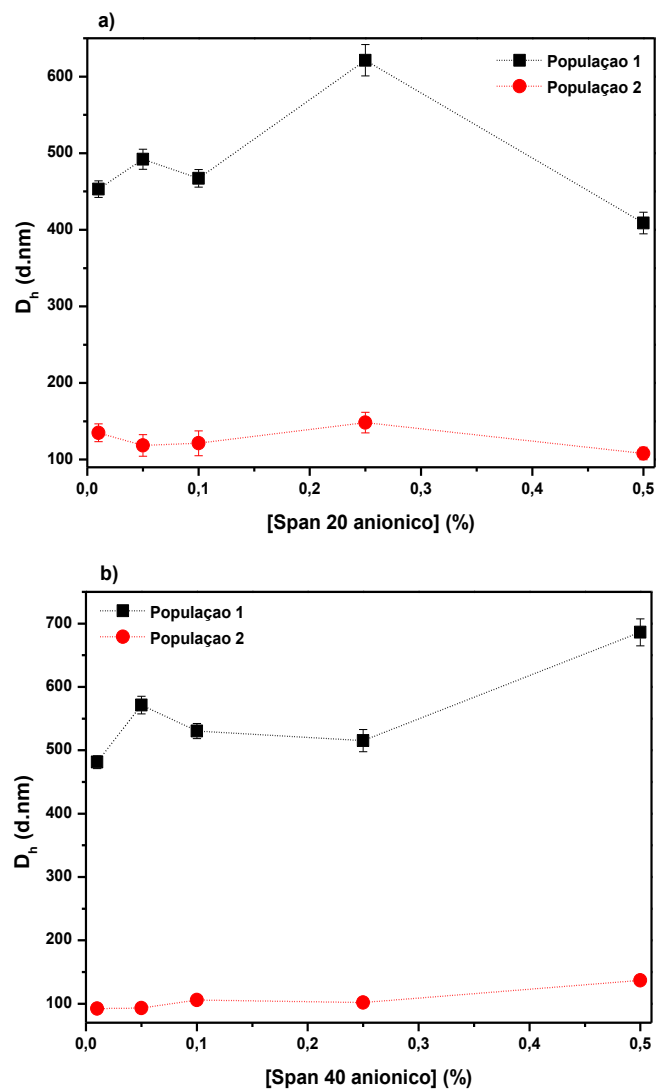
### 4.3.3 Ésteres de sorbitano aniônicos

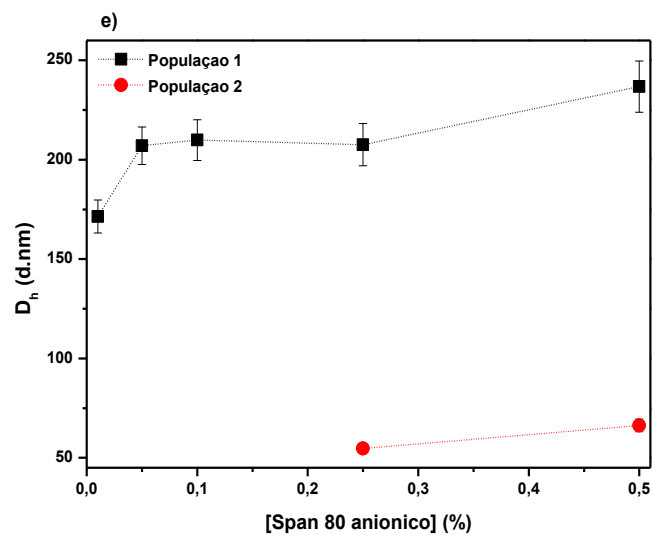
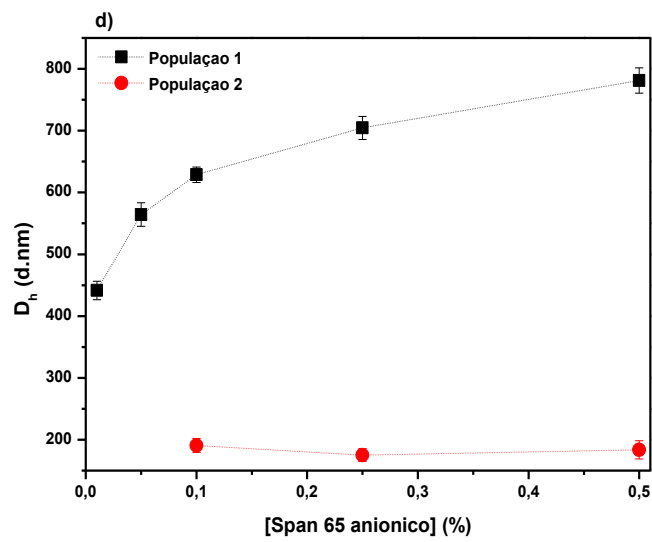
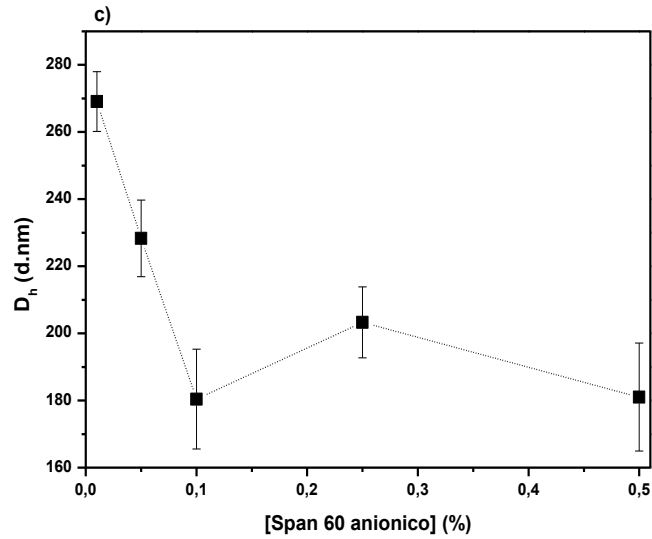
Os ésteres de sorbitano comerciais (Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85), usados nesta tese na produção de vesículas e meulsões em solução aquosa utilizando o método de injeção alcoólica, foram também submetidos a reações de sulfonação para adquirirem carga negativa. Tanto quanto sabemos, este tipo de surfactantes nunca foi produzido antes na forma aniônica.

A primeira característica que salta à vista com a substituição estrutural ocorrida através da sulfonação destes compostos, é o aumento considerável da sua solubilidade em água, motivado pelo aumento da hidroflicidade das suas metades polares.

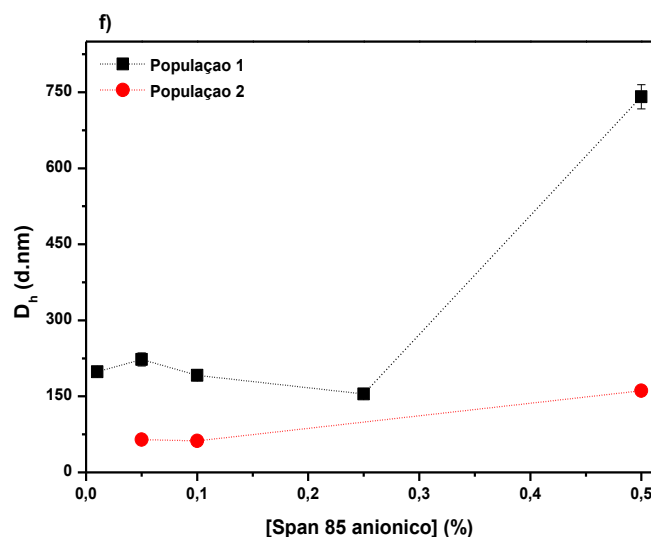
Na Figura 32 encontram-se representados os diâmetros hidrodinâmicos dos agregados obtidos para cada um dos Span aniônicos, através da técnica de DLS, em função da concentração de surfactante até 0,5% (p/p).

**Figura 32.** Diâmetro hidrodinâmico (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS do a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85, todos na forma aniônica, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.







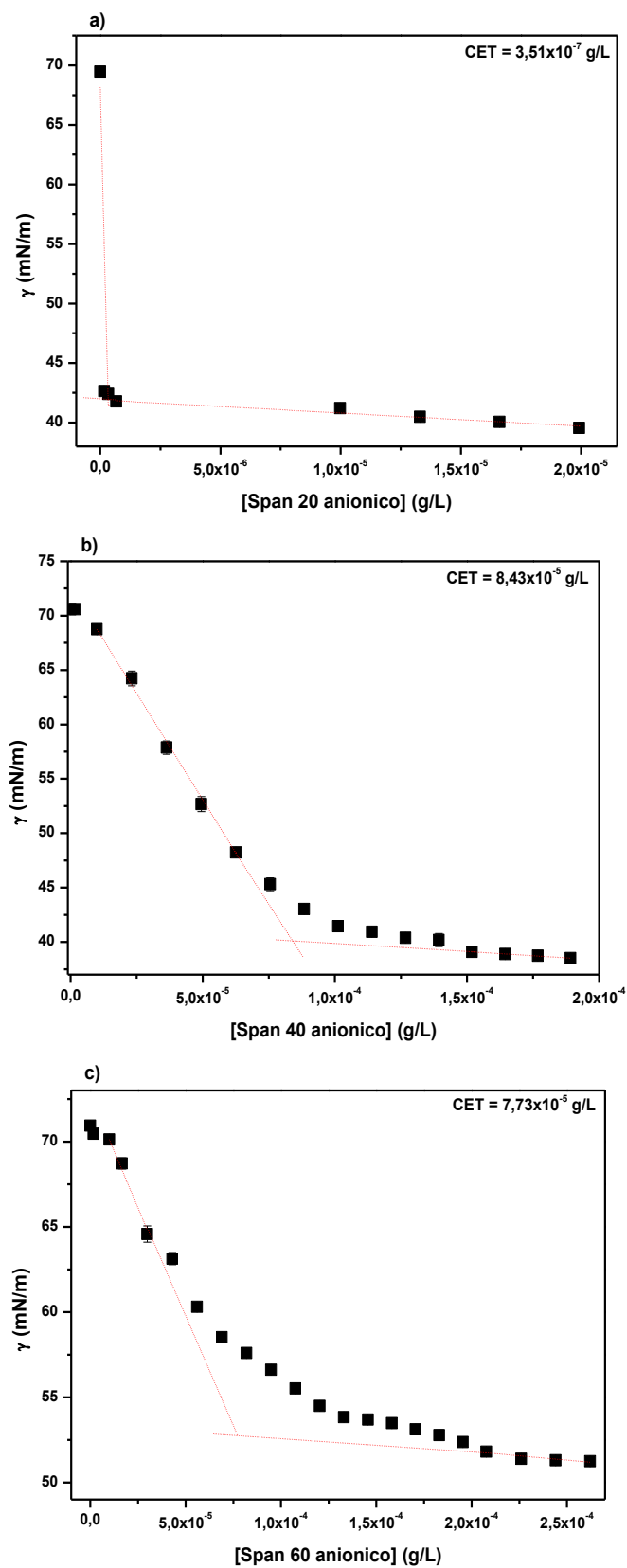


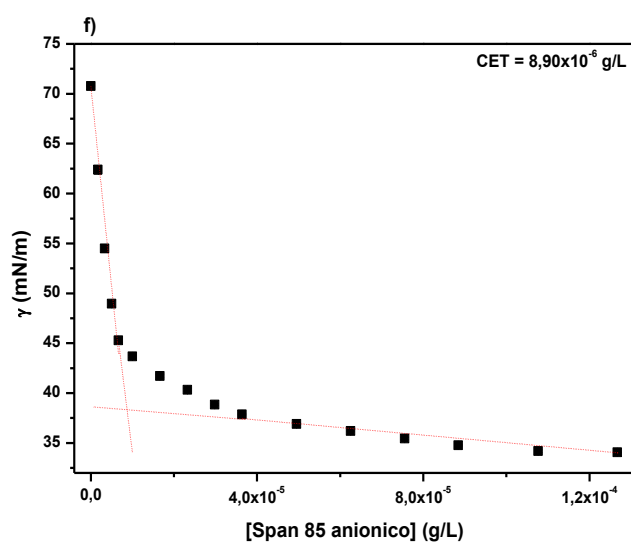
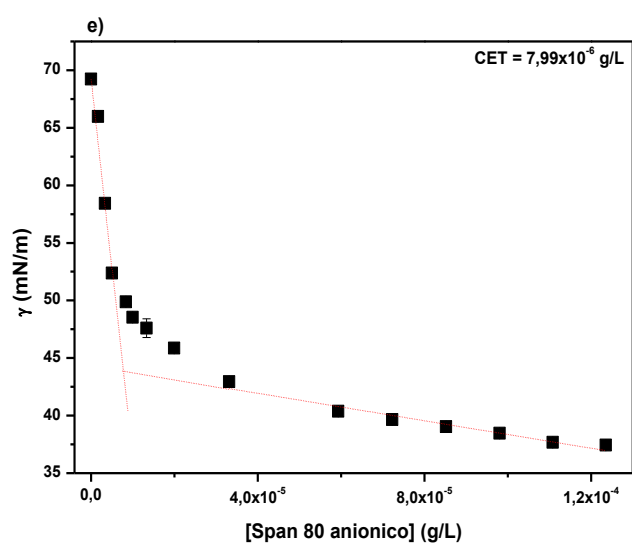
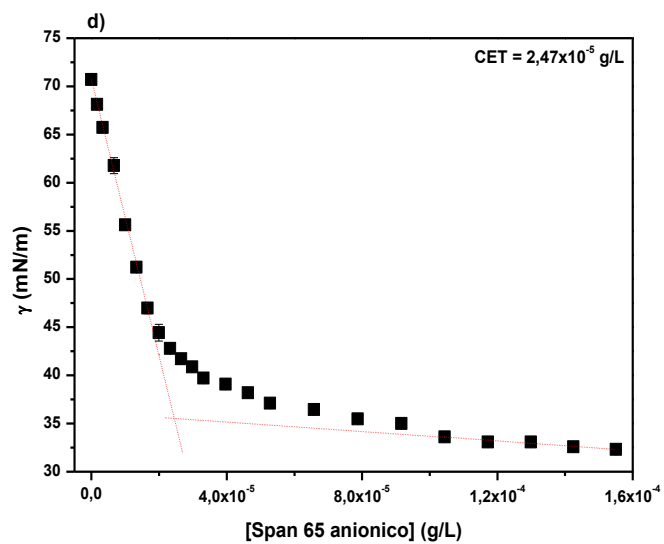
Analisando os gráficos da Figura 32, nota-se claramente que todos os Span em estudo (à exceção do Span 60) apresentarem duas populações de diferentes tamanhos. Para os Span sem insaturação nas suas cadeias hidrofóbicas, os Span 20, 40, e 65 (o Span 60 só tem uma população não foi comparado com os demais), é possível observar que os tamanhos são proporcionais ao comprimento e número de cadeias hidrofóbicas que os constituem. Para o Span 60, a justificativa para os agregados formados apresentarem valores tão dispare dos demais surfactantes, e com barras de erro relativamente elevadas, pode estar relacionado à presença de agregados nas soluções uma vez que este, mesmo após a inserção de grupos  $-\text{OSO}_3\text{Na}^+$ , mostrou ser pouco solúvel em água.

Em relação aos Span com insaturação, o Span 80 e 85, verifica-se que mesmo tendo as cadeias mais compridas, juntamente com o Span 60 e 65, os agregados formados foram os que apresentaram diâmetros menores. Esta diferença diz respeito à presença de insaturação nas ligações C9=C10, que diminui o ângulo de ligação e as cadeias têm tendência a dobrar, o que provoca a diminuição do seu comprimento. Isto resulta na formação de agregados de tamanhos menores.

Foi também avaliada a atividade superficial destes surfactantes, através da sua capacidade de reduzir a tensão superficial da água e, conseqüentemente, foram determinadas as CET desses sistemas. Os resultados são apresentados na Figura 33 e Tabela 16.

**Figura 33.** Tensão superficial da água com a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85 aniônicos, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.





**Tabela 16.** Valores de CET obtidos para os Span aniônicos, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

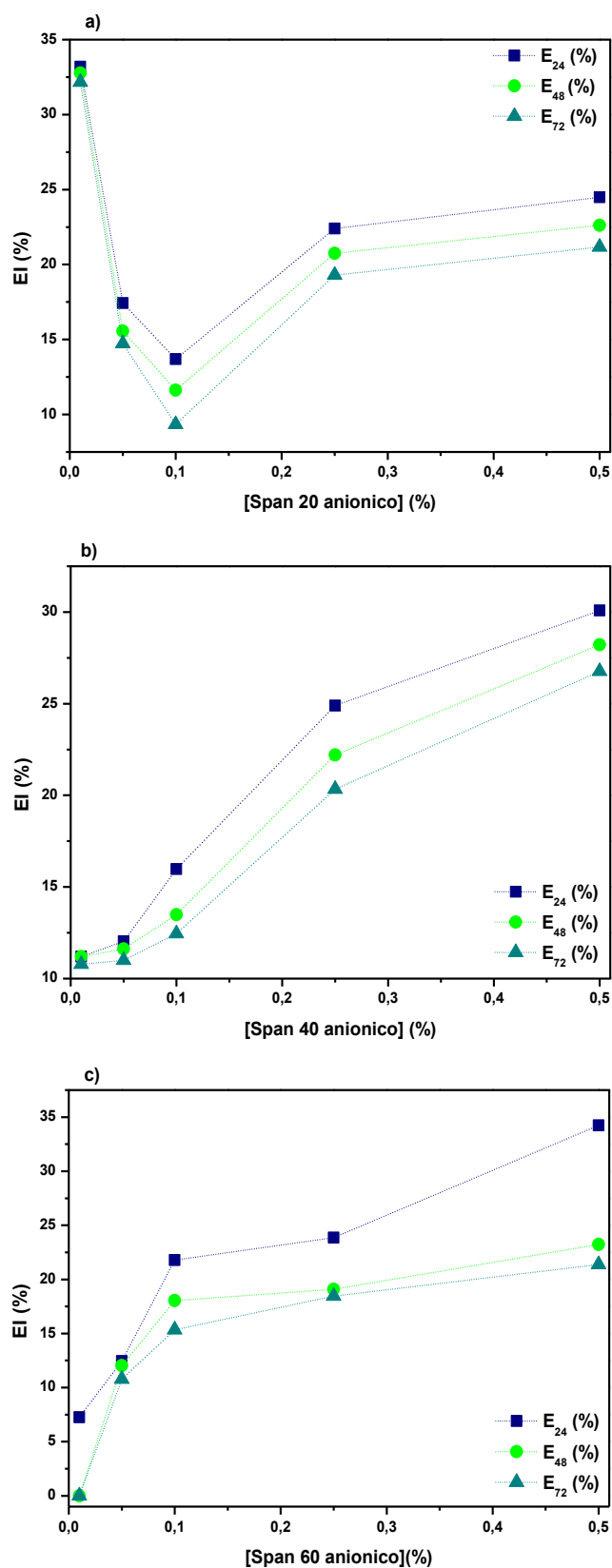
Ésteres de Sorbitano	CET (g/L)
Span 20	$3,51 \times 10^{-7}$
Span 40	$8,43 \times 10^{-5}$
Span 60	$7,73 \times 10^{-5}$
Span 65	$2,47 \times 10^{-5}$
Span 80	$7,99 \times 10^{-6}$
Span 85	$8,90 \times 10^{-6}$

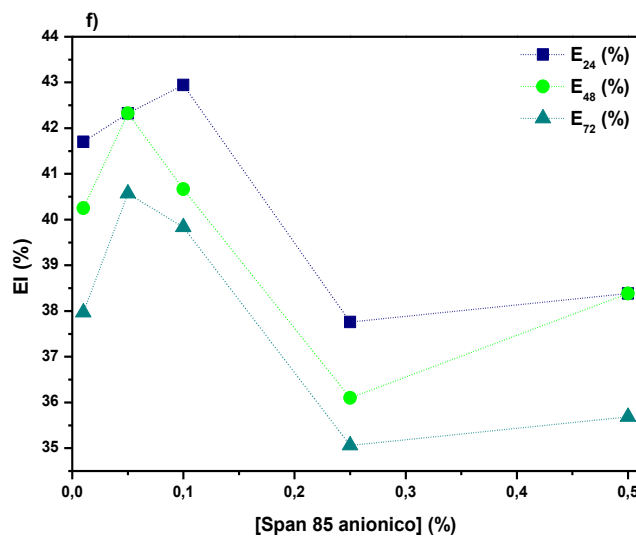
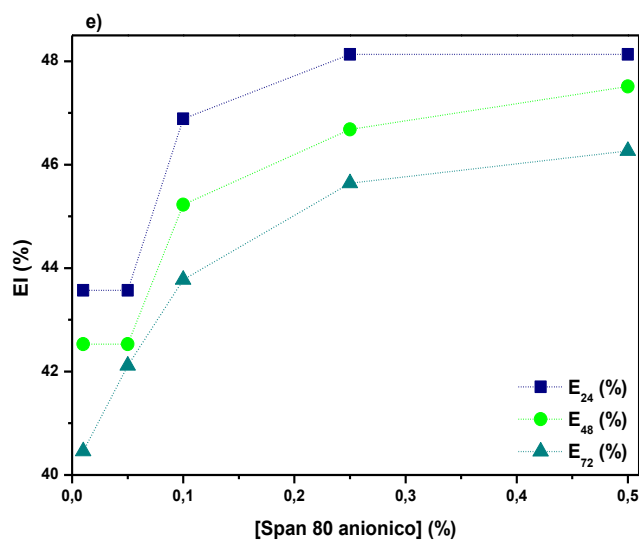
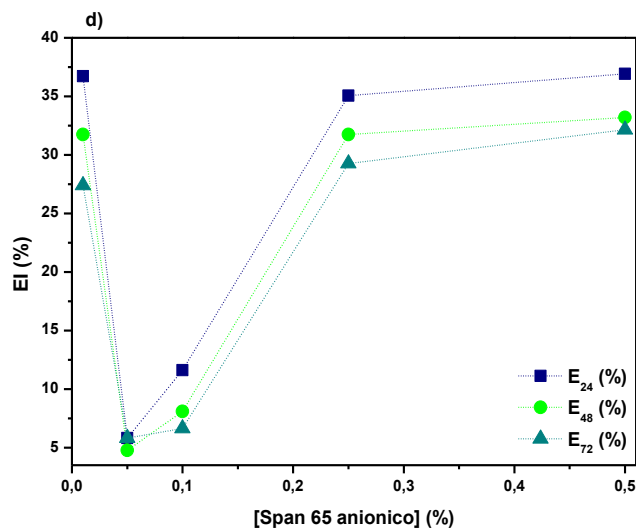
À semelhança do que foi observado e concluído na seção 4.1, aquando da caracterização dos Span não-iônicos, após aplicação do método de injeção de álcool, verifica-se que os Span 20, 80 e 85 aniônicos, apresentam menores valores de CET.

Conforme explicado anteriormente, o Span 20 apresenta o número de carbonos ideal na relação solubilidade/número de agregação para um surfactante não-iônico, enquanto os Span 80 e 85, por apresentarem uma insaturação em cada uma das suas cadeias hidrofóbicas, tornam-se mais hidrofóbicos quando comparados com os Span 60 e 65, os seus homólogos sem presença de insaturação.

Para corroborar estas conclusões, foram realizados ensaios para determinar a capacidade de emulsificação de óleo de soja por parte destes surfactantes. Assim, na Figura 34 estão representados graficamente os valores dos EI dos Span aniônicos sintetizados, em função da concentração de surfactante, obtidos com o óleo de soja.

**Figura 34.** Índices de emulsificação (EI) obtidos para a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85 aniônicos, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.





Analisando os gráficos da Figura 34, conclui-se que todos os Span aniônicos mostraram boa capacidade de emulsificar o óleo de soja, embora os Span 80 e 85 tivessem o melhor desempenho, com valores de EI entre 40 e 50%.

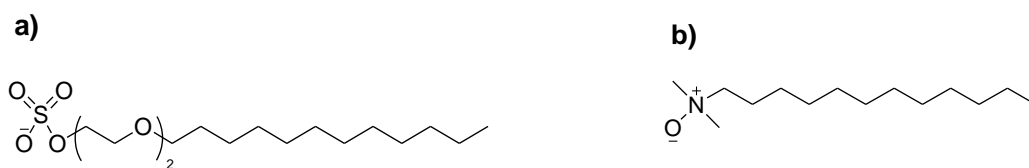
O Span 65, que apresenta o menor valor de CET a seguir aos Span 20, 80 e 85, também apresenta uma capacidade de emulsificação elevada, motivada pelo fato de ser constituído por três cadeias hidrofóbicas aumentando a eficiência de encapsulação da gordura no interior do agregado.

Contrariamente ao esperado, uma vez que foi o éster de sorbitano aniônico que apresentou maior eficiência em reduzir a tensão superficial da água, o Span 20 mostrou um desempenho semelhante aos Span 40 e 60. Em termos de energia livre de Gibbs de formação, a formação da emulsão O/W entre o Span 20 óleo de soja, mostrou ser um processo mais desfavorável, comparado à capacidade que este surfactante apresenta em adsorver na interface água-ar.

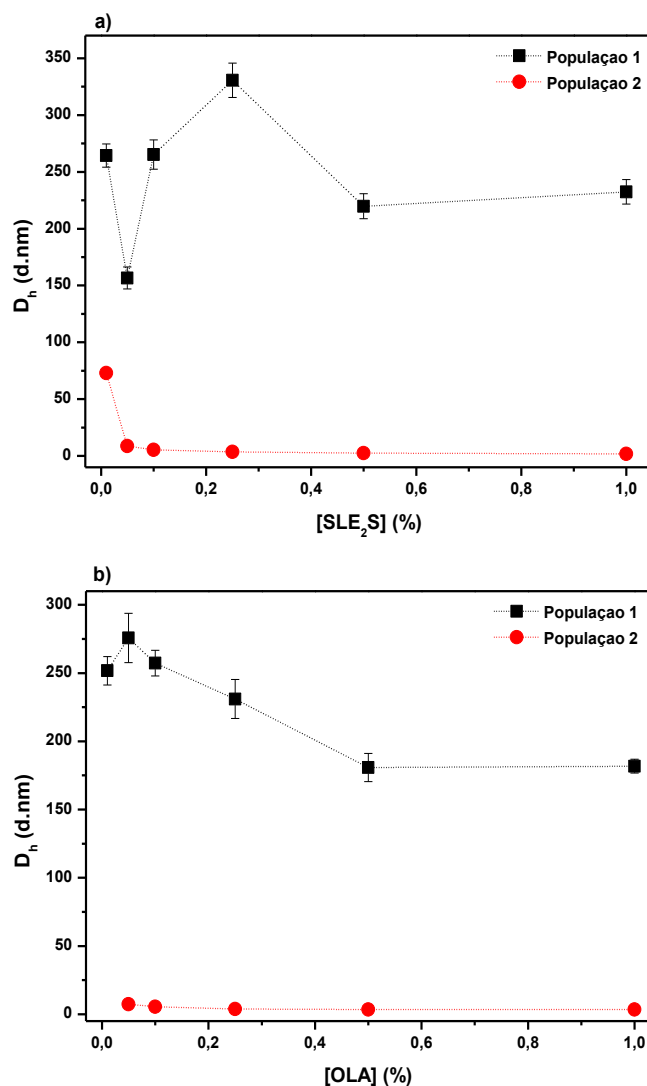
Comparando os resultados de EI obtidos pelos Span não-iônicos com os Span aniônicos, estes últimos mostraram ter uma capacidade de emulsificar e estabilizar as emulsões com o óleo de soja muito superior. Apesar dos Span não-iônicos serem fortemente utilizados na indústria alimentar e farmacêutica, principalmente para a formação e estabilização de emulsões W/O, ao conseguirmos a inserção de carga negativa na sua metade hidrofílica e tendo como base os resultados reportados nesta tese, pode-se concluir que os Span aniônicos são fortes candidatos à sua aplicação na indústria de produtos de limpeza, nomeadamente como constituintes de formulações de detergentes, dado o excelente desempenho na emulsificação de óleo de soja aqui reportado.

### **4.3.4 Surfactantes comerciais usados em detergentes**

Para avaliar o potencial dos surfactantes de açúcares sintetizados, tanto na sua forma não-iônica como aniônica, foram realizados os mesmos ensaios de caracterização mas para os dois surfactantes, cujos compostos de partida provêm de fontes não-renováveis, mais utilizados a nível industrial em formulações de detergentes: o óxido de laurilamina (OLA), surfactante não-iônico, e o lauriléter sulfato de sódio (SLE<sub>2</sub>S), surfactante aniônico, cujas estruturas se encontram representadas na Figura 35.

**Figura 35.** Estruturas moleculares dos surfactantes comerciais em estudo: a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA.

Na Figura 36, são apresentados os gráficos com os diâmetros obtidos para os agregados formados em água para os surfactantes referidos acima. As concentrações testadas foram de 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 e 1%.

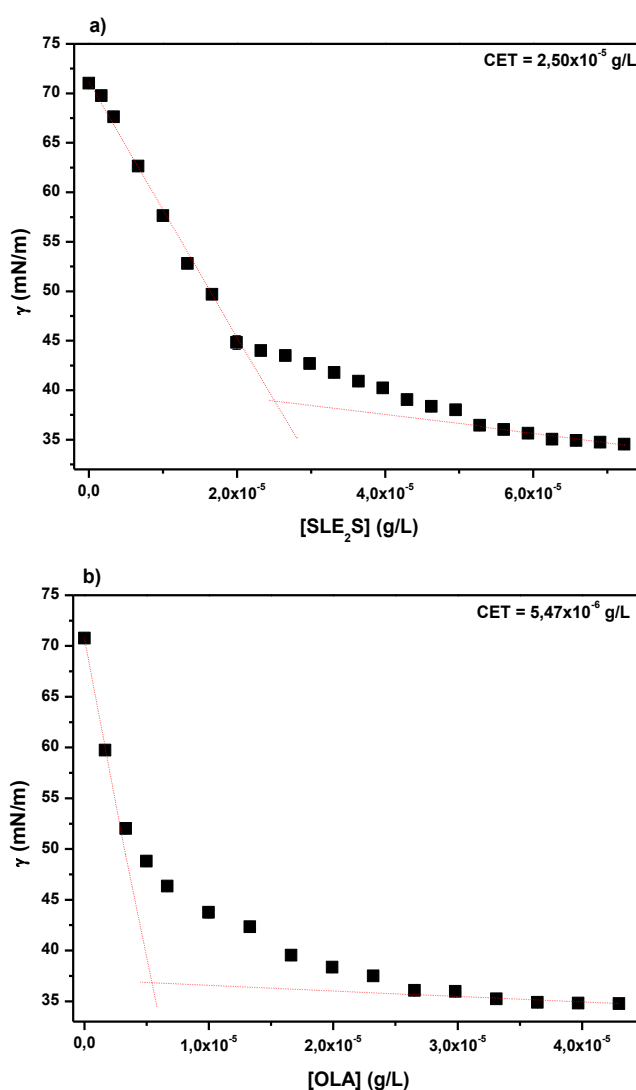
**Figura 36.** Diâmetros hidrodinâmicos (nm) dos agregados em água, obtidos por ensaios de DLS do a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



Através da análise dos gráficos acima verifica-se que ambos os surfactantes em água se agregam em duas populações de diferentes tamanhos. Em solução, estes formam vesículas e micelas, e ambos os agregados se encontram mais ou menos nas mesmas proporções em solução.

Foram também obtidos os valores das tensões superficiais da água, na presença destes surfactantes e foram também determinados os seus valores de CMC através do mesmo método utilizado para a determinação das CET. Os resultados são apresentados na Figura 37 e Tabela 17.

**Figura 37.** Tensão superficial da água com o a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, a 25 °C.



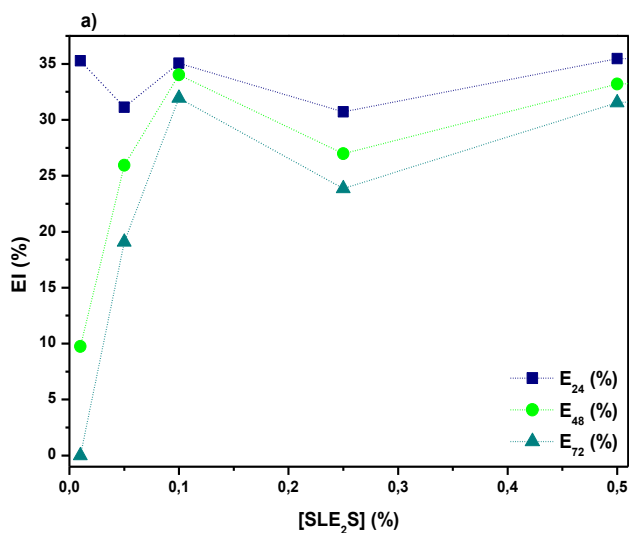
**Tabela 17.** Valores de CET obtidos para os surfactantes comerciais, SLE<sub>2</sub>S e OLA, através de tensiometria de anel, a 25 °C.

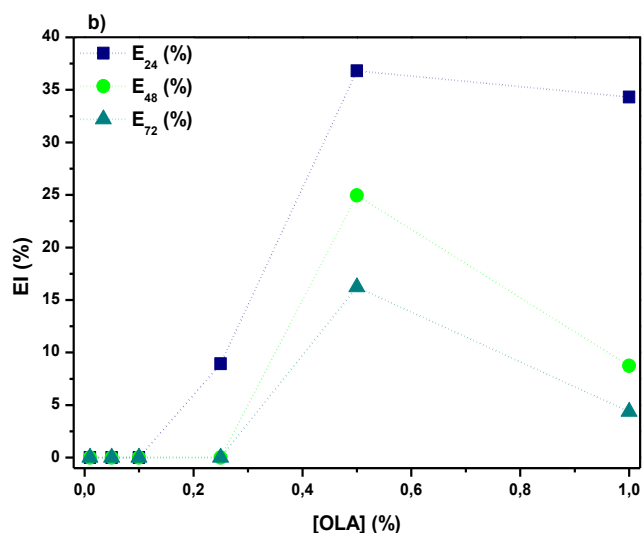
Surfactantes comerciais	CMC (g/L)
SLE <sub>2</sub> S	$2,50 \times 10^{-5}$
OLA	$5,47 \times 10^{-6}$

Como seria expectável, com base nos resultados acima apresentados, o óxido de laurilamina foi o que apresentou menores valores de CMC. Uma vez que o OLA é um surfactante não-iônico, e o SLE<sub>2</sub>S é aniônico, não ocorrem interações eletrostáticas causadas pela presença de carga, como no SLE<sub>2</sub>S. Essas interações vão diminuir a atividade superficial dos surfactantes, sendo esse o principal motivo pelo qual os surfactantes não-iônicos apresentam sempre menores valores de CMC, relativamente aos iônicos.

Foi também determinada a capacidade de formação de emulsões O/W com o óleo de soja, por parte destes surfactantes, uma vez que são os mais utilizados para a produção dos mais variados produtos de limpeza e higiene pessoal. Na Figura 38 estão representados os valores de EI calculados para estes sistemas.

**Figura 38.** Índices de emulsificação (%) obtidos o a) SLE<sub>2</sub>S e b) OLA, em função da concentração de surfactante, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.





Ambos os surfactantes apresentaram valores razoáveis de índices de emulsificação do óleo de soja, nas maiores concentrações em estudo. Nas menores concentrações, o SLE<sub>2</sub>S foi o que apresentou um comportamento de emulsificação mais eficiente. Foi também o SLE<sub>2</sub>S que conseguiu melhores resultados de estabilidade das emulsões formadas, motivado pela presença de cargas negativas na interface dos agregados, criando interações eletrostáticas e assim dificultando a separação da emulsão.

Relacionando todos os resultados obtidos da caracterização feita aos surfactantes à base de açúcares que foram sintetizados neste trabalho, com os resultados obtidos dos surfactantes comerciais de elevada aplicação industrial, pode concluir-se que o grande objetivo deste projeto foi alcançado.

Os surfactantes de açúcares não-iônicos, os ésteres de açúcares caprilato de glicose, laurato de glicose e laurato de galactose apresentaram valores de CET, correspondentes à CMC dos surfactantes comerciais, menores que o valor de CMC do óxido de laurilamina. Ou seja, os ésteres de açúcares referidos acima têm a capacidade de iniciar a formação dos agregados em água com menor quantidade de surfactante. Os ésteres de açúcares selecionados apresentaram também maior capacidade de emulsificar o óleo de soja, aquando dos testes dos índices de emulsificação efetuados, quando comparados com o OLA. Assim, estes surfactantes sintetizados mostram ser uma alternativa viável, do ponto de vista químico e sustentável, ao surfactante OLA para a sua aplicação na indústria de produtos de limpeza.

Em relação aos surfactantes de açúcares aniônicos sintetizados, o caprilato de glicose, o laurato de glicose, os Span 20, 80 e 85, todos na forma aniônica, apresentaram menores valores de CET, comparativamente com o valor de CMC do SLE<sub>2</sub>S. Paralelamente, estes surfactantes apresentaram também maiores índices de emulsificação do óleo de soja do que o SLE<sub>2</sub>S. Estes

surfactantes são também uma forte alternativa para a substituição do SLE<sub>2</sub>S nas mais variadas aplicações, visto que apresentam melhor atividade a nível superficial e interfacial.

### **4.4 Span: surfactantes de açúcar comerciais**

Ésteres de sorbitano (Span) são uma das principais classes de surfactantes não-iônicos à base de açúcar. Dada a sua capacidade de formação e estabilização de emulsões água-em-óleo (W/O) os Span são dos mais utilizados a nível industrial, nomeadamente na indústria alimentícia e cosmética.

Apesar da sua extensa utilização na formação de emulsões a nível industrial, ainda não se encontra completamente definida a relação estrutura-eficiência de emulsificação de surfactantes à base de açúcares.

Os baixos valores de HLB dos Span conferem-lhes compatibilidade para a formação de emulsões W/O, não se conhecendo, até ao momento, casos em que estes surfactantes tenham sido utilizados como emulsificantes em emulsões O/W.

Nesta sessão são apresentados resultados da formação de vesículas de Span, com diferenças estruturais na sua parte lipofílica, pelo método de injeção, do seu comportamento físico-químico e da sua capacidade de formação e estabilização de emulsões O/W, onde foram testadas diversas fases dispersas.

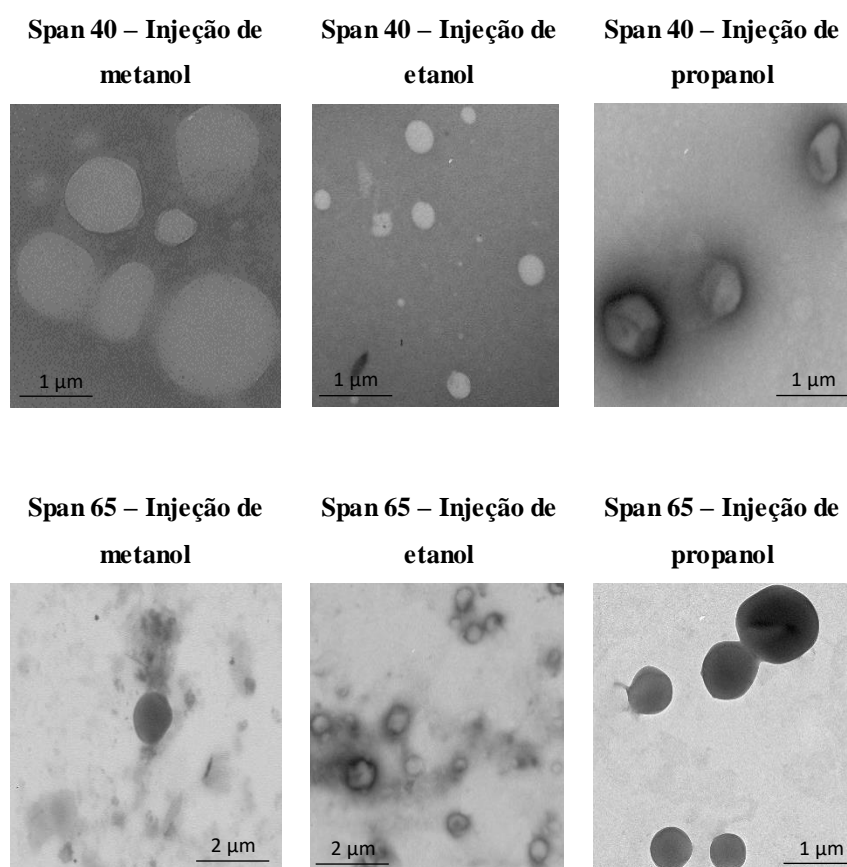
#### **4.4.1 Produção de vesículas de Span pelo método de injeção**

O método de injeção de álcool foi utilizado neste trabalho para a produção de vesículas de Span. Para isso, foram usados três álcoois com diferentes comprimentos da cadeia carbonada, o metanol, etanol e 2-propanol, onde os Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85 foram previamente solubilizados e injetados em água, numa temperatura acima do ponto de ebulição desses álcoois, a fim promover a auto-agregação dos surfactantes. Os diferentes álcoois foram utilizados para tentar entender a relação entre sua estrutura (ou de outros solventes que também podem ser aplicados neste método) e o tamanho dos agregados obtidos e, conseqüentemente, a influência deste fator no comportamento físico-químico das estruturas formadas.

Pela análise da literatura, é a primeira vez que o método de injeção é utilizado para a produção de vesículas de Span.

Para este estudo, foram selecionados dois sistemas de Span (Span 40 – com uma cadeia, e Span 65 – com três cadeias) devido à representatividade da arquitetura molecular desses compostos, no que diz respeito ao número e comprimento de cadeias. Na Figura 39, estão ilustradas imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos dois sistemas de Span selecionados, obtidos pelos métodos de injeção de metanol, etanol e 2-propanol.

**Figura 39.** Imagens de TEM mostrando a presença de vesículas de Span 40 e 65, obtidas pelo método de injeção de metanol, etanol e 2-propanol.

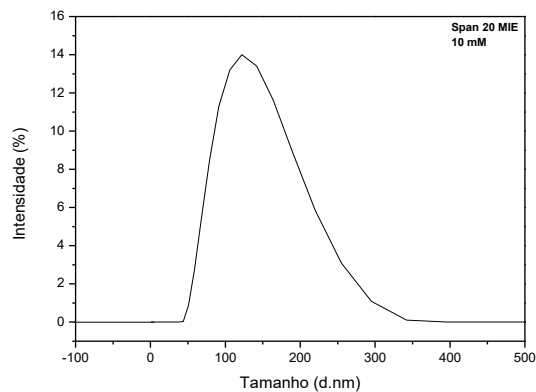


Através da análise da Figura 39, conclui-se que o método de injeção de álcool promove a formação de vesículas estáveis, dos surfactantes insolúveis em água, Span 40 e 65. Nota-se a presença de vesículas, com diâmetros na faixa de 100-700 nm. As amostras apresentaram polidispersidade moderada, mas apesar disso, os tamanhos observados por TEM estão em concordância com os determinados por DLS, mostrados em seguida.

Foram realizados ensaios de DLS para determinar o tamanho dessas vesículas, de modo a verificar se o comprimento dos álcoois influencia ou não o tamanho. Na Figura 40 é apresentada

uma curva característica de distribuição de tamanhos de vesículas de Span, obtidas por injeção de etanol (MIE).

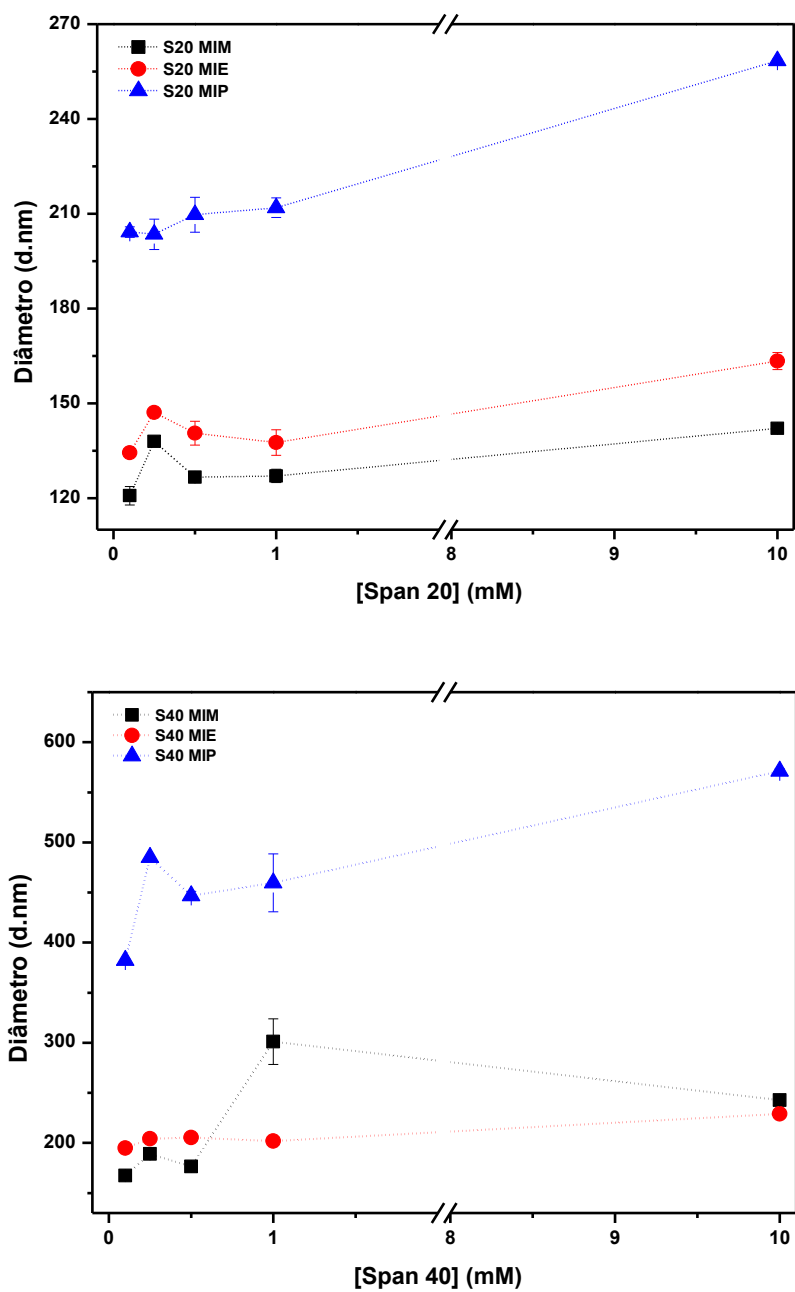
**Figura 40.** Curva de distribuição de tamanho (nm), obtida por DLS, de vesículas de Span 20.

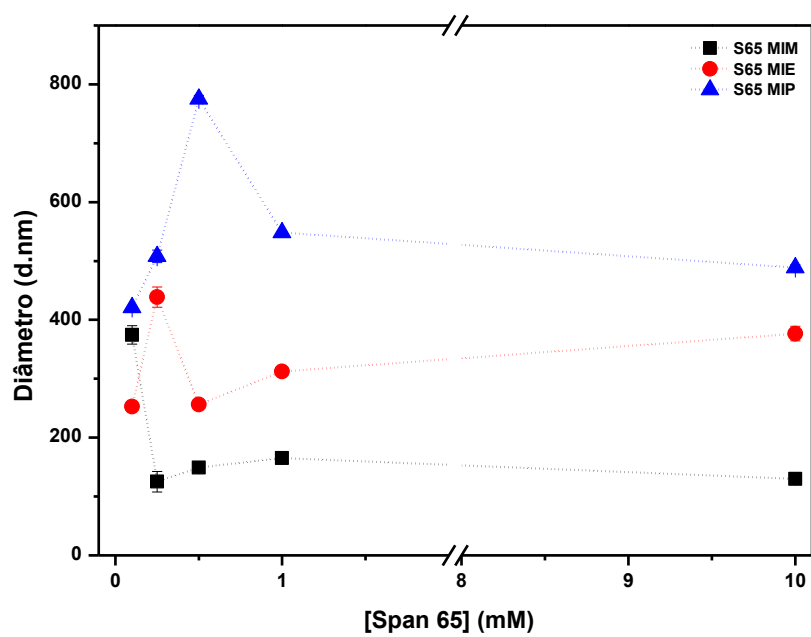
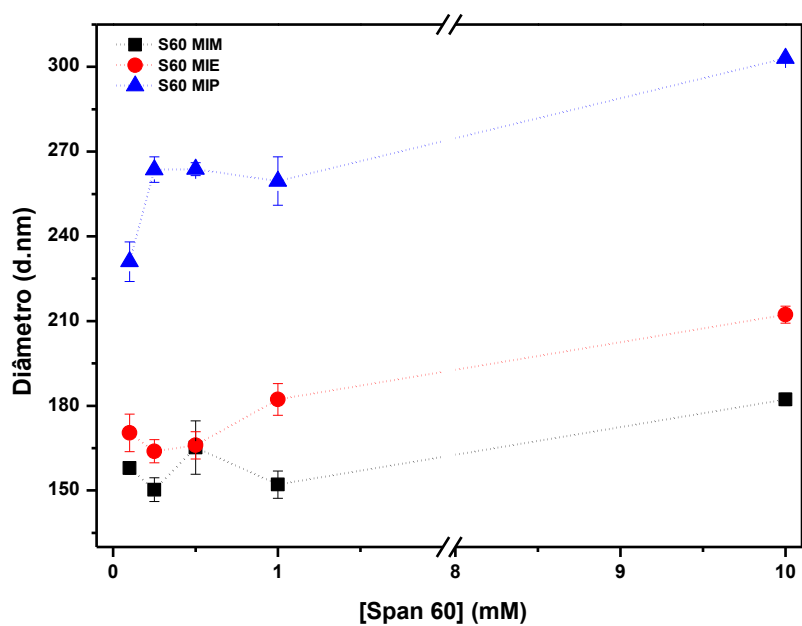


Através dos máximos das curvas de distribuição de tamanho obtidas para todos os sistemas de Span, como exemplificado na Figura 40, foi determinado o diâmetro hidrodinâmico das vesículas formadas pelo método de injeção. Esses resultados foram obtidos em triplicata e foi determinada a média para todos os sistemas.

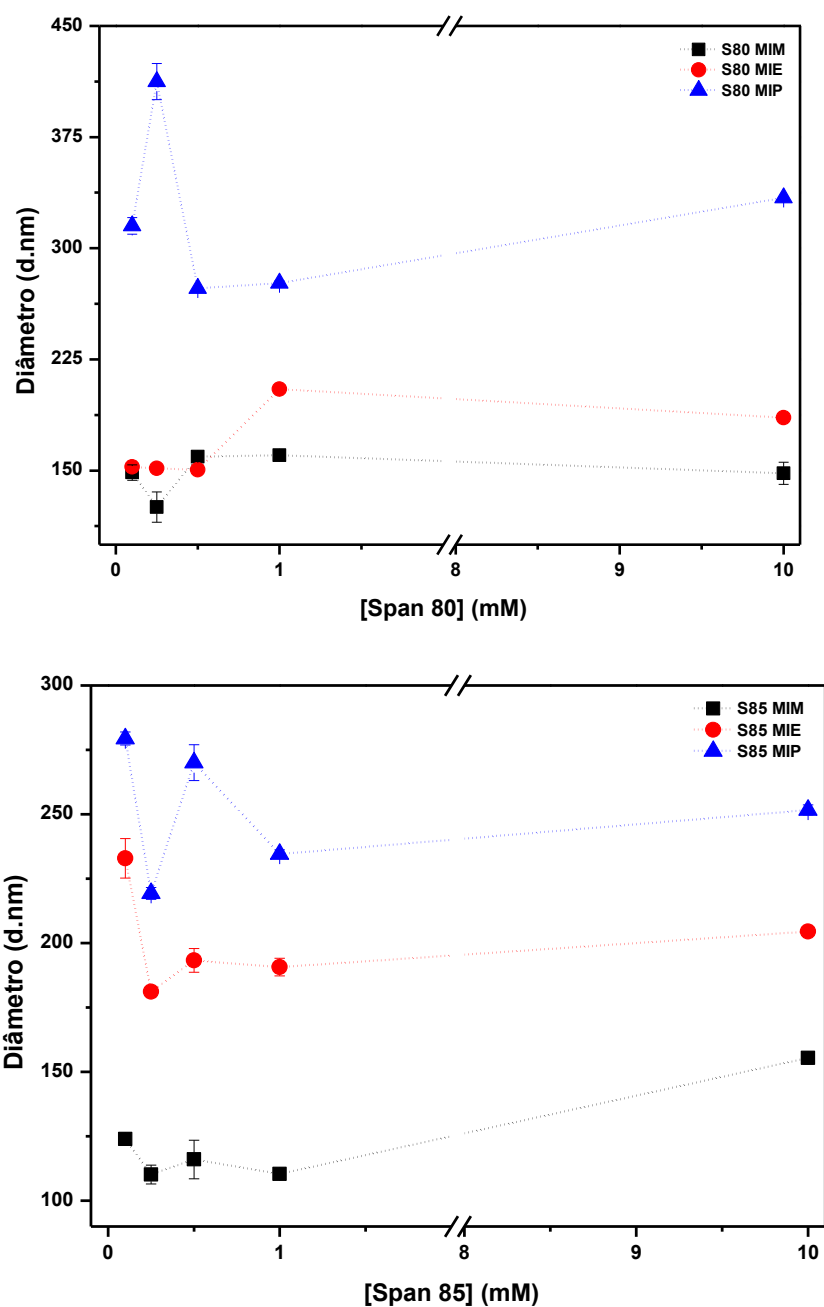
Na Figura 41 é apresentada a dependência do tamanho das vesículas de Span, obtidas pelo método de injeção de metanol (MIM), etanol (MIE) e 2-propanol (MIP), em função da concentração de Span.

**Figura 41.** Efeito da concentração de Span no diâmetro hidrodinâmico dos agregados formados pelo método de injeção de metanol (MIM, preto), etanol (MIE, vermelho) e 2-propanol (MIP, azul). a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85. Medidas realizadas a 25 °C.









De acordo com a Figura 41, é clara a influência dos diferentes tipos de álcoois no tamanho das vesículas: álcoois maiores levam à formação de agregados maiores, enquanto álcoois menores formam de agregados menores. Isto pode estar relacionado com o fato de alguma quantidade não-negligenciável de álcool permanecer na mistura, mesmo após o processo de evaporação que faz parte do procedimento teórico do método de injeção. Este fato pode estar relacionado com a maior penetração dos álcoois de cadeia menor na região polar do surfactante, o que provoca um aumento

mais pronunciado do segmento hidrofílico do Span, uma diminuição no parâmetro crítico de empacotamento (CPP) e, conseqüentemente, maior curvatura (menor tamanho do agregado).

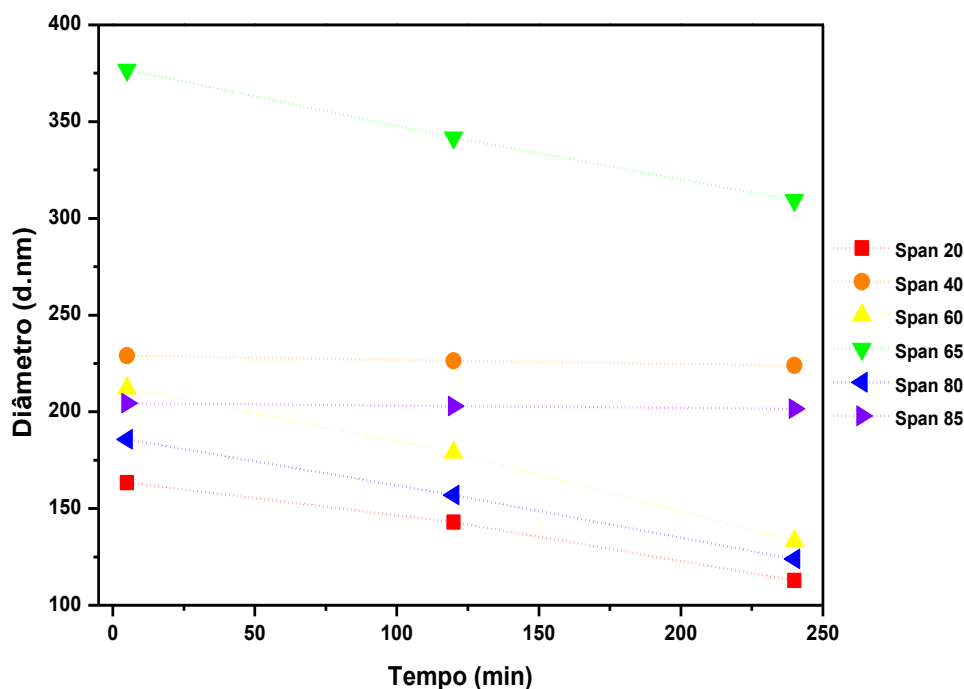
A concentração de Span afeta ligeiramente o tamanho dos agregados. Em baixas concentrações não há uma dependência linear desta relação, enquanto que em concentrações maiores o tamanho dos agregados aumenta com a quantidade de surfactante adicionada. Huang *et al.* (1997) e Lasic (1993), reportaram que o método de injeção leva à formação de vesículas unilamelares grandes (MLV's). Através dos resultados obtidos, é possível corroborar essa conclusão, uma vez que o tamanho das vesículas se encontram no intervalo de 100-1000 nm.

O mecanismo de formação de lipossomas foi explicado por Lasic, em 1988. Segundo ele, a formação de lipossomas é baseada na teoria dos fragmentos planares de bicamadas (FPB), que consiste no fato dos lípidos dissolvidos no etanol estarem auto-agregados, precipitarem na interface das fases água/solvente orgânico e, de sua indução resultar na formação de bicamadas. A formação das vesículas ocorre após a difusão completa do etanol na água, que provoca a aproximação e auto-associação das FPB (Lasic 1993, Phapal e Sunthar 2013).

Foi comprovado que a presença de etanol deteriora a ordem molecular das bicamadas lipídicas em água, embora uma pequena quantidade (6-7 %) induz interdigitação da bicamada e auxilia no processo de formação de vesículas (Dalton e Miller 1993, Huang *et al.* 1997). No entanto, a presença de etanol nas suspensões de lipossomas, mesmo após estas serem submetidas a temperaturas acima das temperaturas de ebulição do álcool, é uma desvantagem. Kremer *et al.* (1977), afirmaram que o etanol pode ser removido da solução através do processo de diálise, e que a caracterização de amostras dialisadas e não dialisadas mostrou que não há alterações significativas no tamanho das vesículas formadas.

Na Figura 42, são apresentados resultados de DLS onde é apresentada a dependência do diâmetro hidrodinâmico das vesículas com o tempo de agitação.

**Figura 42.** Dependência do diâmetro das vesículas de Span 20 (■), Span 40 (●), Span 60 (▲), Span 65 (▼), Span 80 (◄) e Span 85 (►) com o tempo de agitação, a 75 °C. As dispersões foram obtidas pelo método de injeção de etanol. Medidas realizadas a 25 °C.



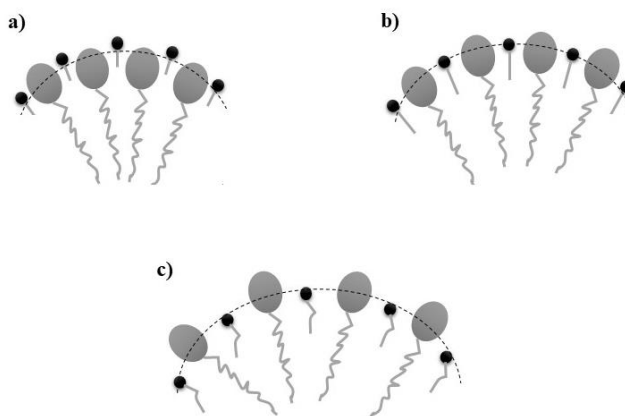
Através da análise da Figura 42, é possível verificar que o tamanho das vesículas diminui ligeiramente, exceto para Span 40 e Span 80, ao contrário do referido na literatura.

Isto pode ser explicado pela maior solubilidade do sorbitano (grupo polar dos Span) em água do que em etanol. O sorbitano perde contato direto com as moléculas de etanol presentes na água, assim como do etanol próximo à bicamada da vesícula que é progressivamente evaporado a 75 °C. A maior solubilidade do sorbitano em água leva a um maior volume de ocupação do grupo polar do Span na ausência de etanol. Assim, o CPP do Span aumenta e são observadas vesículas com tamanhos menores. A fração de etanol que induz interdigitação da bicamada resiste ao processo de evaporação e continua presente no interior da bicamada, devido ao seu ponto de ebulição mais elevado. Isto ocorre, possivelmente, devido à formação de interações intermoleculares, nomeadamente ligações de hidrogênio. Assim, consideramos que as moléculas de álcool usadas na injeção, atuam nestes sistemas como co-surfactantes. Isso justifica também o fato de moléculas insolúveis em água, como os Span, se manterem solúveis em solução aquosa mesmo após a remoção das moléculas de álcool do meio.

Álcoois com comprimentos de cadeias menores, como o metanol e etanol, vão apresentar menor capacidade de desestabilizar a bicamada das vesículas, fato reportado por outros autores (Ingólfsson e Eersen 2011).

Os álcoois têm o grupo hidroxila na região interfacial da bicamada e os grupos metila de caráter hidrofóbico na direção do núcleo hidrofóbico da bicamada, tendo assim um efeito no empacotamento das cadeias dos surfactantes, como esquematizado na Figura 43. Cada grupo -CH<sub>2</sub> adicional da cadeia do álcool aumenta o coeficiente de partição ( $K_p$ ) deste na bicamada, como descrito anteriormente (Ingólfsson e Eersen 2011).

**Figura 43.** Representação esquemática da influência do comprimento da cadeia de álcool no tamanho vesicular, para a) metanol, b) etanol e c) 2-propanol, onde estes atuam como co-surfactantes.



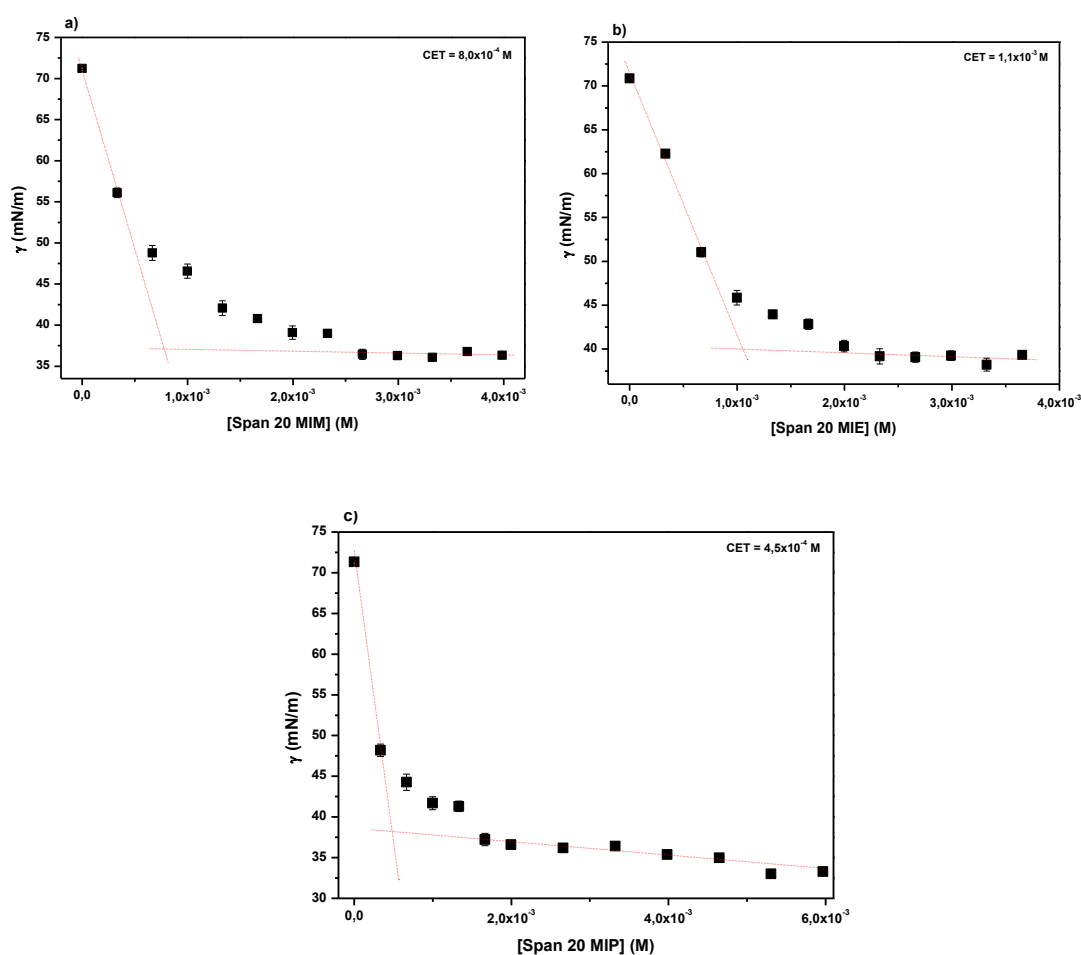
A tendência que os álcoois apresentam para se localizar dentro da bicamada é mais acentuada no etanol e propanol, do que no metanol. Patra *et al.* (2006), através de simulações computacionais, clarificaram o comportamento do metanol e etanol nas bicamadas. Concluíram que, para além da tendência dos álcoois se localizarem dentro da bicamada, as moléculas de etanol se localizam perto do oxigênio da ligação éster dos lípidos em estudo (POPC e DPPC), e que a maioria dessas moléculas estão envolvidas em ligações de hidrogênio com os lípidos. Já no caso do metanol, em nenhuma simulação realizada foram encontradas ligações de hidrogênio entre este e as moléculas lipídicas. Ou seja, o metanol não tem capacidade de penetrar na bicamada, uma vez que a ligação deste com moléculas de água é energeticamente mais favorável. Assim, o metanol está sempre localizado fora da bicamada lipídica (Dalton e Miller 1993).

Estas conclusões mostram-se de elevada relevância para a compreensão do comportamento dos sistemas de surfactantes em estudo. Álcoois com cadeias maiores apresentam maior afinidade para os segmentos hidrofóbicos dos surfactantes e, conseqüentemente, vão estar localizados preferencialmente no interior da bicamada. Isso deve afetar de forma determinante a arquitetura das vesículas formadas.

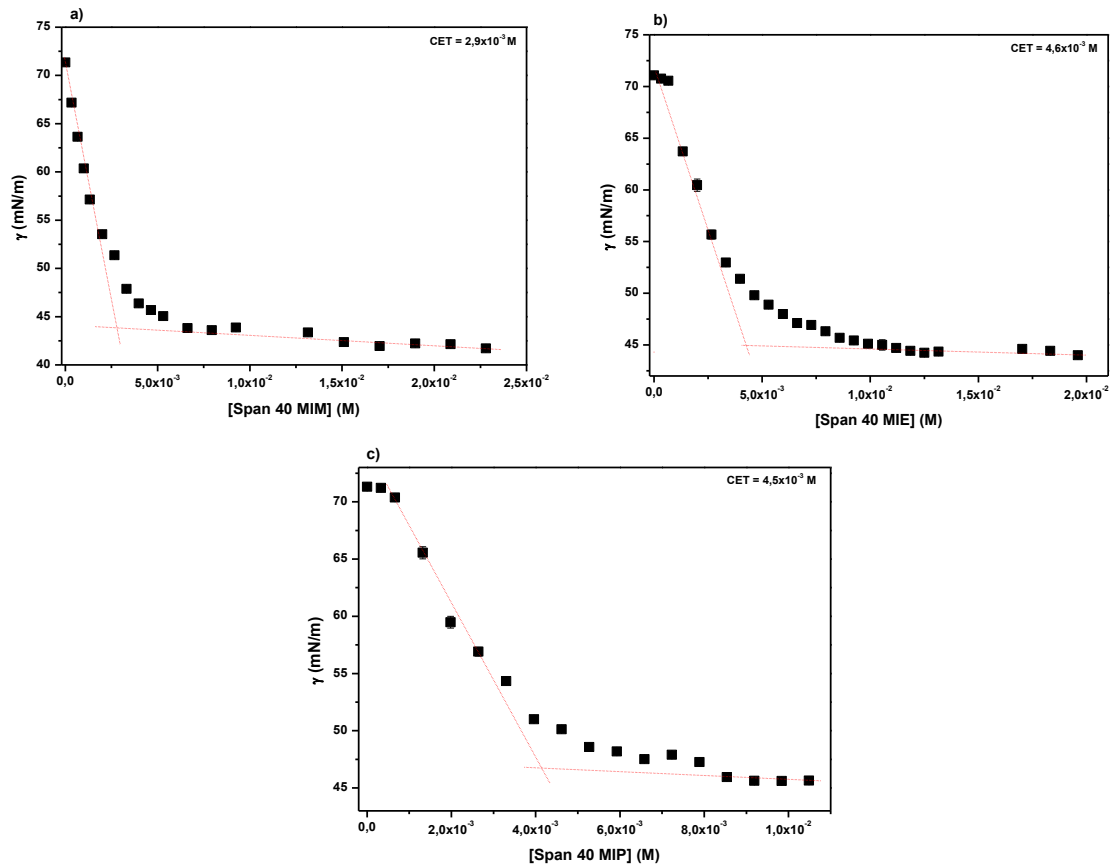
De modo a corroborar e racionalizar melhor a influência que este tipo de interação entre as moléculas de açúcar e do álcool têm na formação dos agregados vesiculares, foram medidas as

concentrações em que ocorre a estabilização da tensão superficial (CET), que poderá estar relacionada ao início da formação das vesículas dos Span com os diferentes álcoois, através de tensiometria de anel Du Noüy. As concentrações referentes ao início da formação das vesículas foi referida como CET, e não de CMC, dado que através de TEM verificou-se que os agregados obtidos não eram condizentes com estruturas micelares. Nas Figuras 44-49 são apresentados esses resultados para Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, respetivamente, obtidos por MIM, MIE e MIP, onde as retas vermelhas foram ajustadas aos dados experimentais e o cruzamento delas representa a concentração à qual se acredita ocorrer o início da formação das vesículas, ou concentração vesicular crítica (CVC).

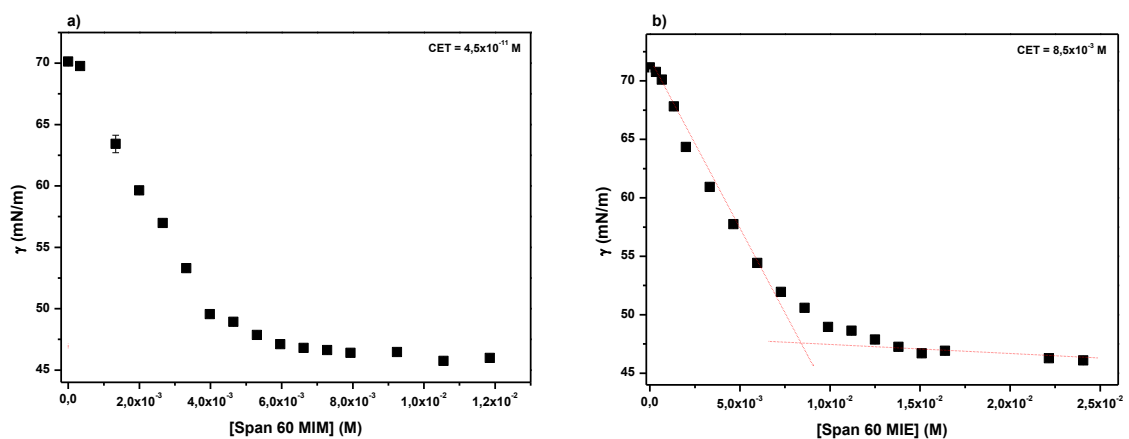
**Figura 44.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 20-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.

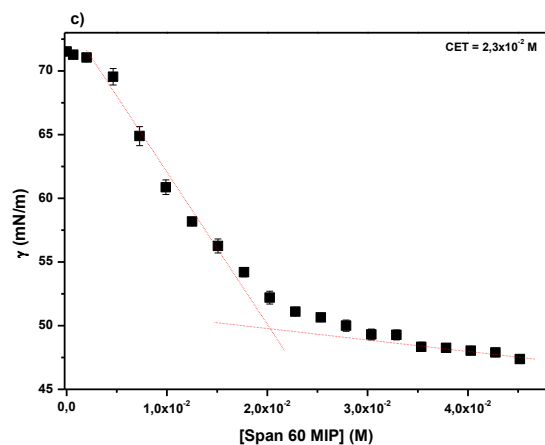


**Figura 45.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 40-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.

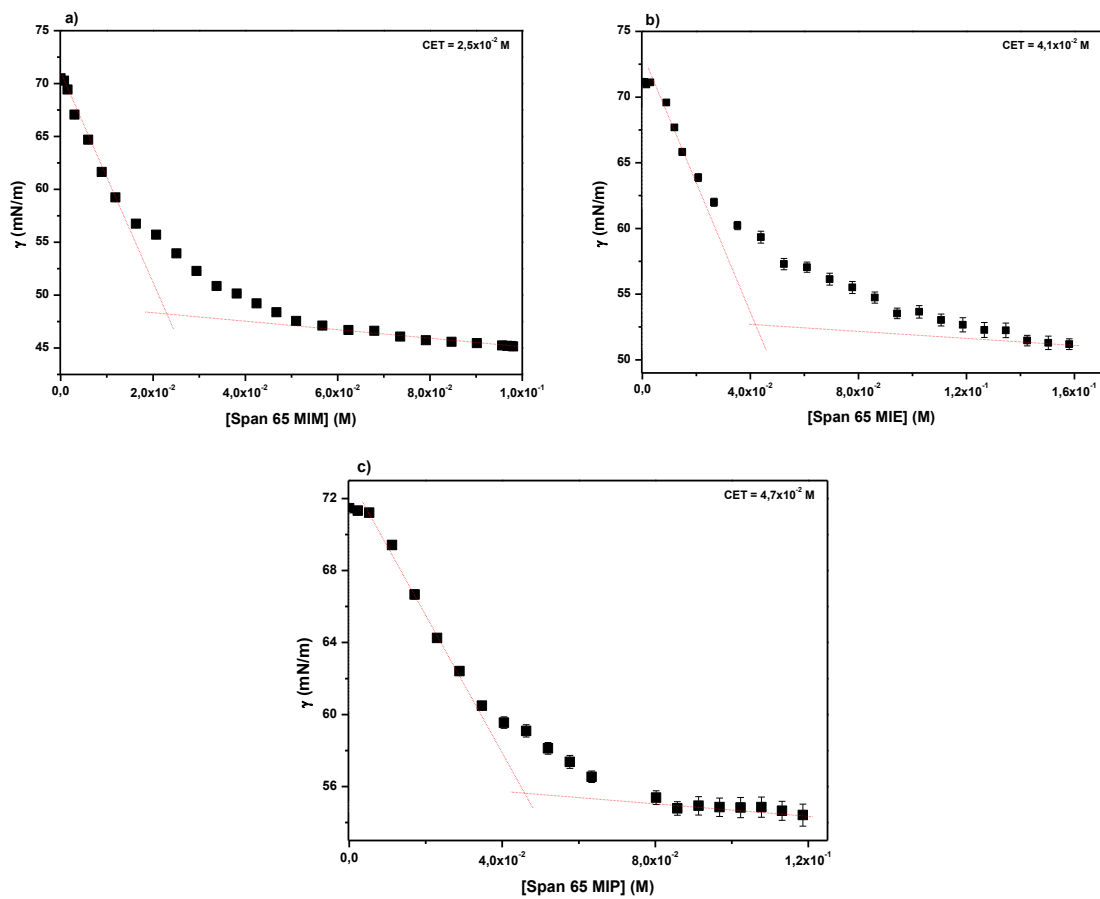


**Figura 46.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 60-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.

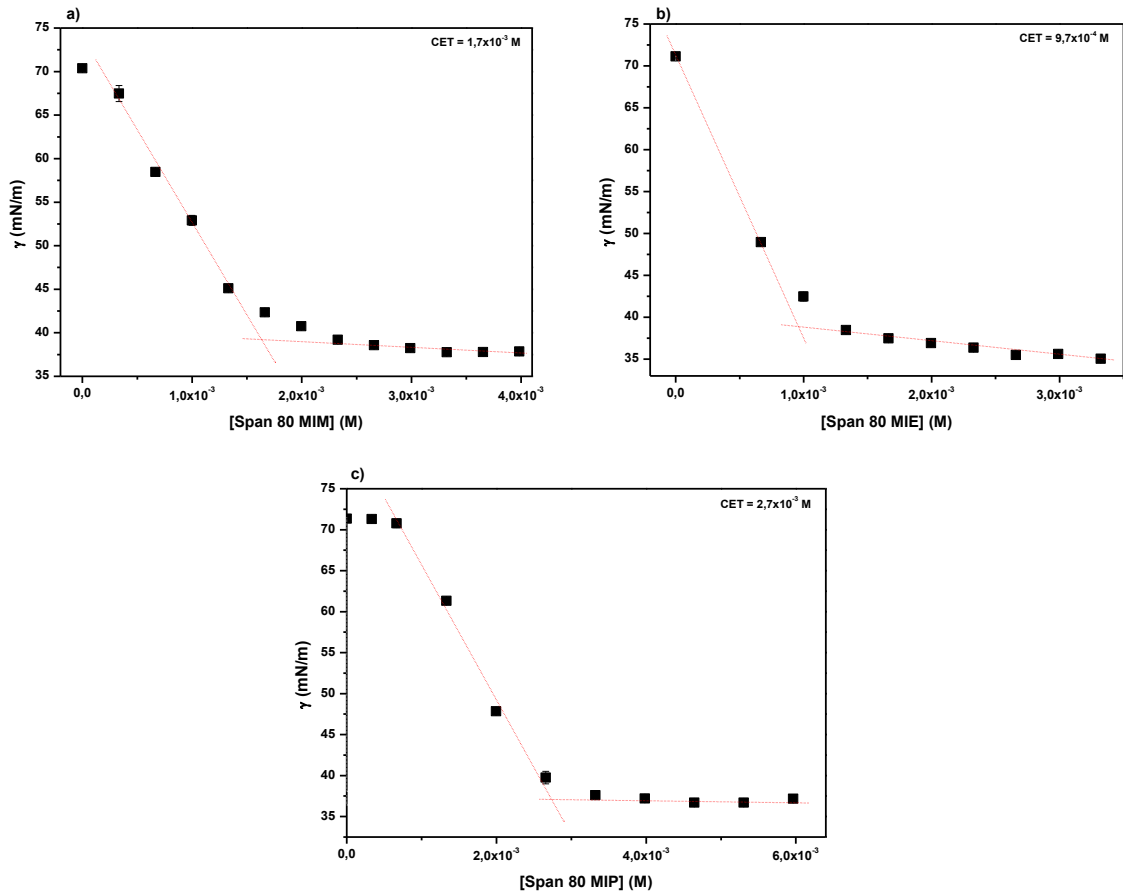




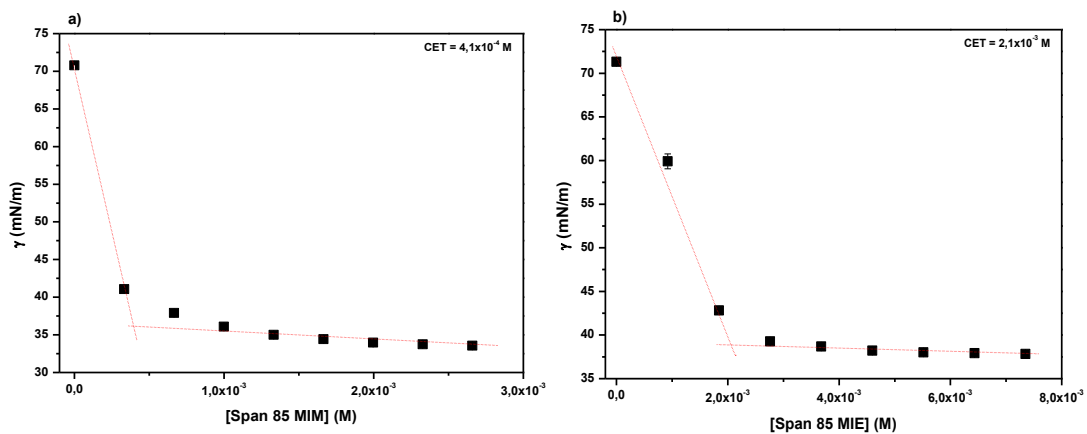
**Figura 47.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 65-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.



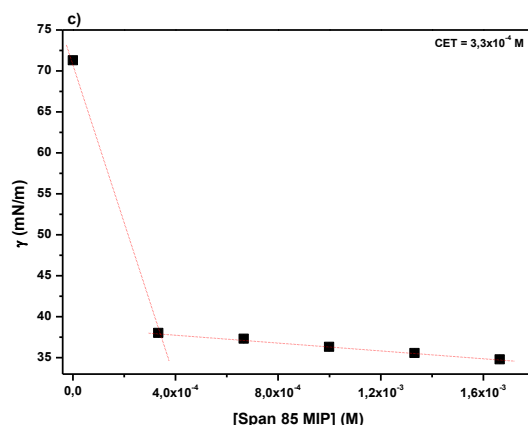
**Figura 48.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 80-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.



**Figura 49.** Curvas de tensão superficial de amostras de Span 85-água, obtidas por a) MIM, b) MIE e c) MIP. Medidas realizadas a 25 °C.







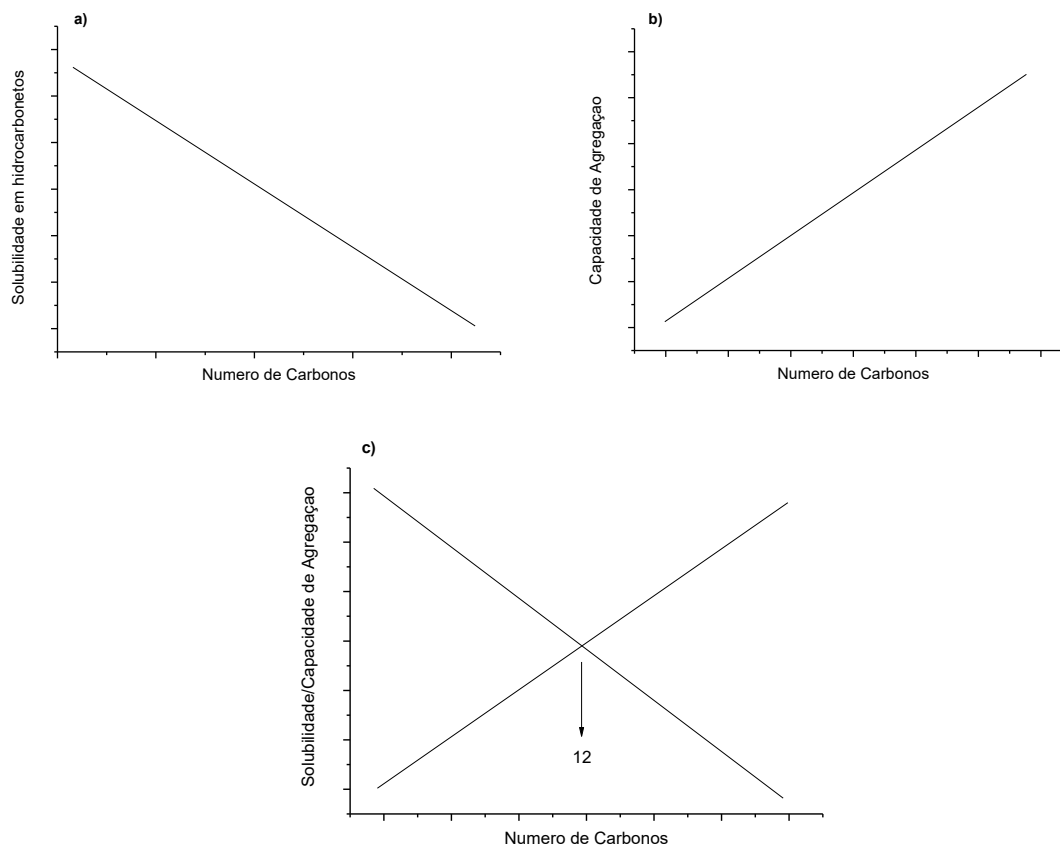
Na Tabela 18 são apresentados os valores de CET obtidos para cada sistema de Span em estudo, através do cruzamento das retas de cada gráfico.

**Tabela 18.** Valores de CET (em M) de amostras de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, obtidas por MIM, MIE e MIP, através das curvas de tensiometria, a 25 °C.

Span	MIM (M)	MIE (M)	MIP (M)
20	$8,0 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-3}$	$4,5 \times 10^{-4}$
40	$2,9 \times 10^{-3}$	$4,6 \times 10^{-3}$	$4,7 \times 10^{-3}$
60	$4,5 \times 10^{-3}$	$8,6 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-2}$
65	$2,5 \times 10^{-2}$	$4,1 \times 10^{-2}$	$4,7 \times 10^{-2}$
80	$1,7 \times 10^{-3}$	$9,7 \times 10^{-4}$	$2,7 \times 10^{-3}$
85	$4,1 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$3,3 \times 10^{-4}$

Os dados da Tabela 18 mostram que é possível verificar que os valores de CET são, como se esperava, inversamente proporcionais à hidrofobicidade dos Span. Assim, Span mais hidrofóbicos (Span 80 e 85) são os que apresentam menores valores de CET. O Span 20, o mais hidrofílico em estudo, também apresenta valores de CET da mesma ordem de grandeza dos Span 80 e 85. Isto pode ser explicado através dos gráficos apresentados na Figura 50. Convém salientar que os valores de CET obtidos para o Span 65, um dos surfactantes mais hidrofóbicos em estudo, e que apresenta os maiores valores de CET. Isto poderá estar relacionado ao fato deste surfactante, mesmo após aplicação do método de injeção, não ter sido solubilizado completamente em água, mostrando a presença de algumas partículas de pó pela solução.

**Figura 50.** Representação a) da solubilidade de hidrocarbonetos, b) da capacidade de agregação de surfactantes, e c) da relação entre solubilidade/capacidade de agregação em função do número de carbonos da parte apolar.



A Figura 50 possibilita um maior entendimento da grande capacidade do Span 20 de reduzir a tensão superficial da água, mesmo este sendo o surfactante mais hidrofílico em estudo. Essa redução eficaz da tensão superficial se deve ao fato deste surfactante ter uma parte apolar de 12 carbonos e, portanto, se encontrar efetivamente em solução uma vez que surfactantes com grupos apolares maiores, embora tenham maior capacidade de agregação, são menos solúveis em água, podendo ocorrer microprecipitação e, conseqüentemente, diminuição da sua efetividade em solução. Ou seja, 12 carbonos é o número de carbonos ideal, para a relação entre a solubilidade de hidrocarbonetos e a capacidade de agregação do surfactante.

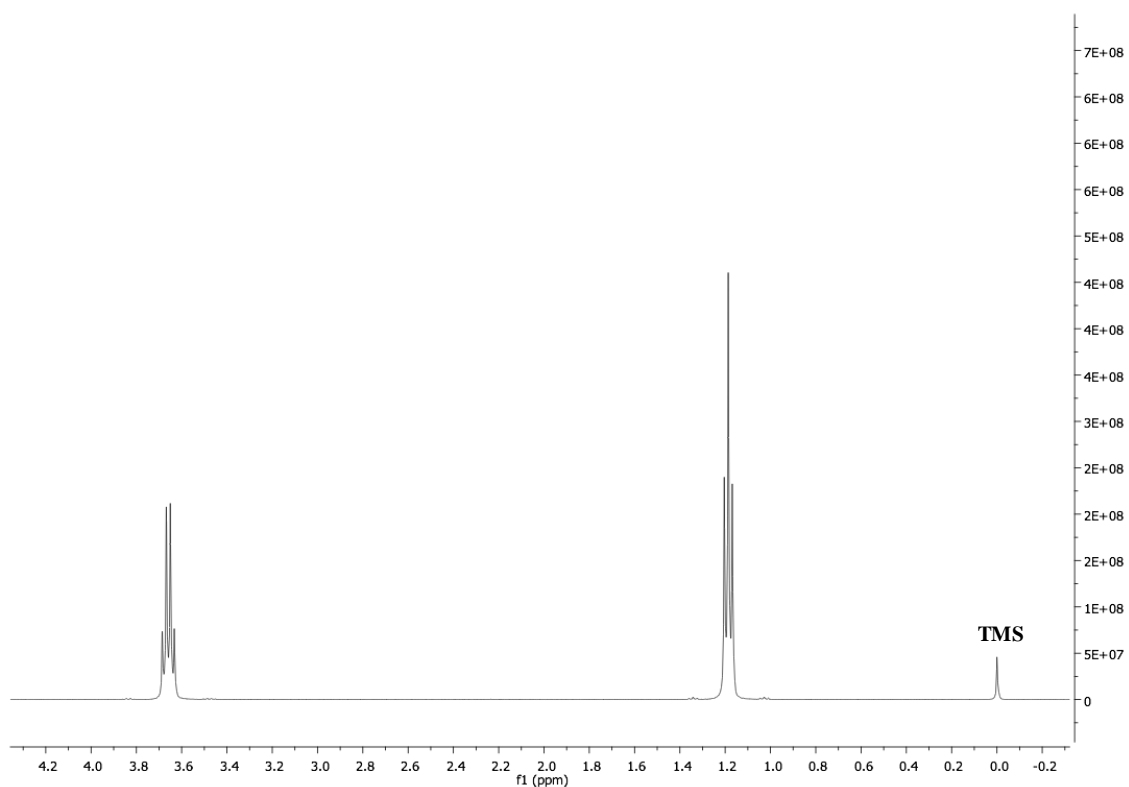
Álcool de cadeias pequenas, apresenta um caráter anfifílico, e a adição de grupos  $-CH_2$  tem um grande efeito na sua interação com bicamadas. Este conceito está relacionado à regra de Traube, que diz que para cada grupo  $-CH_2$  adicionado à cadeia do álcool (ou surfactante), a atividade superficial é triplicada (Piñeiro *et al.* 2004). Ou seja, o aumento do número de grupos  $-CH_2$  leva a uma maior capacidade de diminuição da tensão superficial, do surfactante. Isto vai ao encontro dos dados apresentados na Tabela 1, uma vez que os Span com maior número de grupos

-CH<sub>2</sub> (e neste caso com uma insaturação por cadeia), são os que apresentam os valores de CET menores. À exceção do Span 80, este conceito também é observado para os álcoois usados no método de injeção. Assim, na determinação da tensão superficial da água ultra-pura, com adição dos Span, formados pelo método de injeção, verifica-se que os sistemas formados com etanol e 2-propanol apresentam maior capacidade de diminuir a tensão superficial.

Outra razão possível para que álcoois maiores, com mais grupos -CH<sub>2</sub>, sejam capazes de penetrar a bicamada e, no caso deste trabalho, de demonstrarem potencial para diminuir a tensão superficial, juntamente com os surfactantes (Span) em estudo, diz respeito à sua polaridade. Surfactantes com cadeia mais curta são mais polares e, portanto, não penetram tanto no ambiente hidrofóbico da bicamada. Assim, o metanol situa-se, preferencialmente, mais na superfície da bicamada, enquanto que o etanol e o 2-propanol fixam-se mais no interior da bicamada, interagindo mais com os surfactantes (Holmberg *et al.* 2002, Patra *et al.* 2006).

### 4.5 Explicação teórica do método de injeção

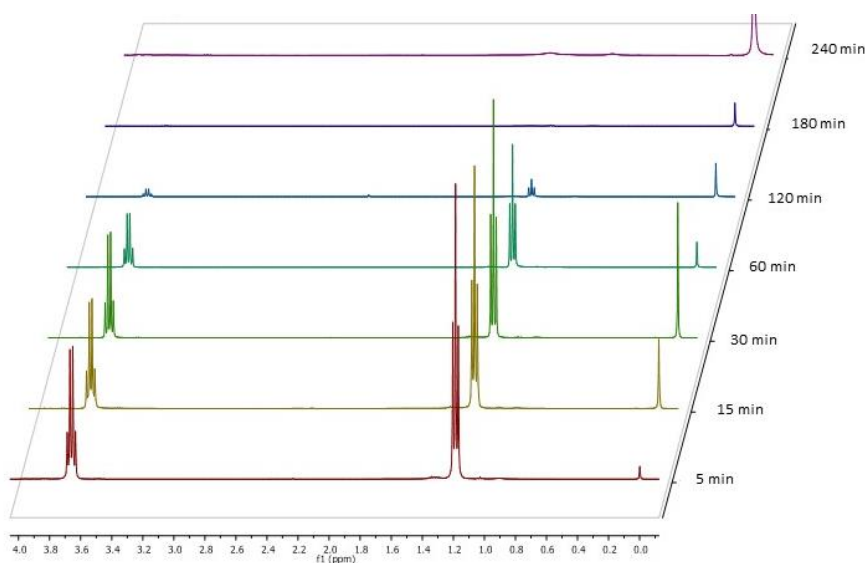
A formação de vesículas de Span através do método de injeção pode ser devido à presença de fração de moléculas de álcool ao redor do grupo polar dos surfactantes (mesmo após a evaporação dos álcoois usados na preparação do mesmo). Para avaliar esta hipótese, a presença de moléculas do álcool na bicamada foi avaliada pela mudança nos desvios químicos dos sinais da molécula de etanol em estudos de RMN <sup>1</sup>H, em função do tempo de agitação das soluções de Span, a 75 °C. Na Figura 51 é apresentado o espectro de RMN <sup>1</sup>H do etanol, onde se observam os picos representativos dos próton da cadeia -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> e os seus respetivos desvios químicos.

**Figura 51.** Espectro RMN  $^1\text{H}$  da molécula de etanol em  $\text{D}_2\text{O}$ .

Os prótons metílicos localizados em  $\sim 1.19$  ppm encontram-se na forma de tripeto. Os prótons metileno em  $\sim 3.66$  ppm formam um quarteto devido ao acoplamento com os prótons metílicos.

A influência do tempo de agitação (em min), a  $75^\circ\text{C}$ , no espectro RMN  $^1\text{H}$  das vesículas de Span 20, obtidas por injeção de etanol é apresentado na Figura 52. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  referentes aos sistemas de Span 40, 60, 65, 80 e 85 obtidos pelo mesmo método são apresentados no Anexo.

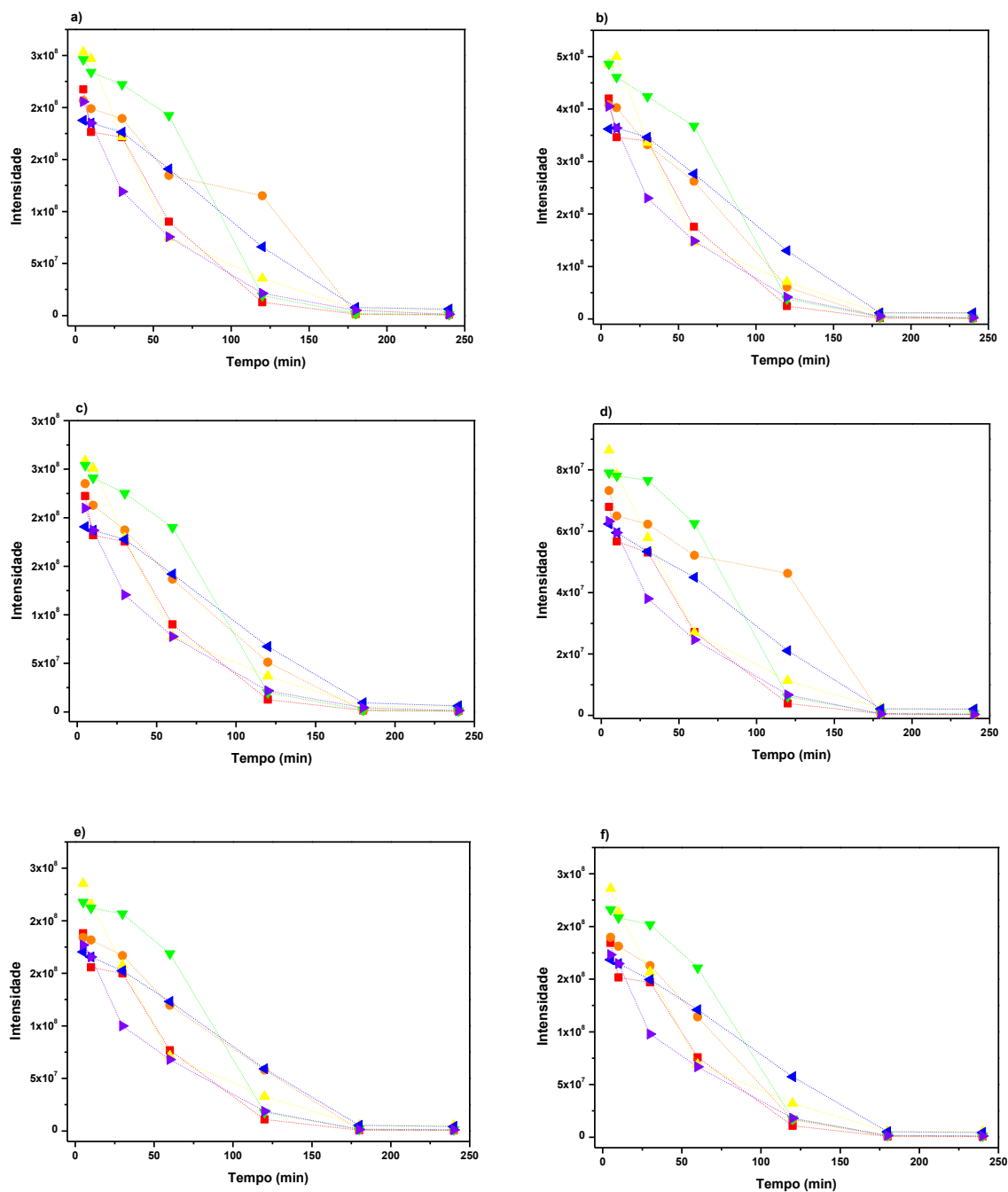
**Figura 52.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  de vesículas de Span 20 obtidas por injeção de etanol, a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ , após 5 min (---), 10 min (---), 30 min (---), 60 min (---), 120 min (---), 180 min (---) e 240 min (---) de agitação.

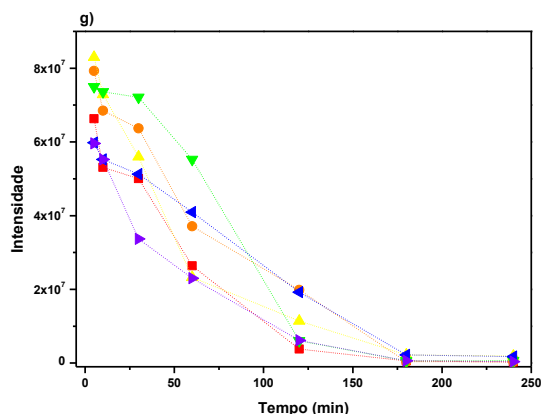


A Figura 52 claramente indica que a intensidade dos picos de etanol em solução aquosa diminui com o aumento do tempo de agitação, a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ . Após 5 min de agitação, grande quantidade de etanol continua presente nas dispersões. Para uma evaporação mais eficaz do etanol são necessários, no mínimo, 180 min de agitação a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ . Contudo, ao fim de 240 min, o etanol ainda é detectado pelo espectro de RMN. Isto corrobora a hipótese das moléculas de álcool induzirem estabilização das vesículas.

A fim de verificar essas variações na intensidade dos picos do etanol com o tempo de agitação, a Figura 53 mostra valores da intensidade de cada pico observados tanto no tripleto como no quarteto do espectro de etanol, em  $\text{D}_2\text{O}$ , para cada Span estudado.

**Figura 53.** Variação temporal da intensidade de pico constituinte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de etanol, a) pico 1,17 ppm; b) pico 1,19 ppm; c) pico 1,21 ppm; d) pico 3,63 ppm; e) pico 3,65 ppm; f) pico 3,67 ppm e g) pico 3,68 ppm, do Span 20 (■), Span 40 (●), Span 60 (▲), Span 65 (▼), Span 80 (◄) e Span 85 (◄).

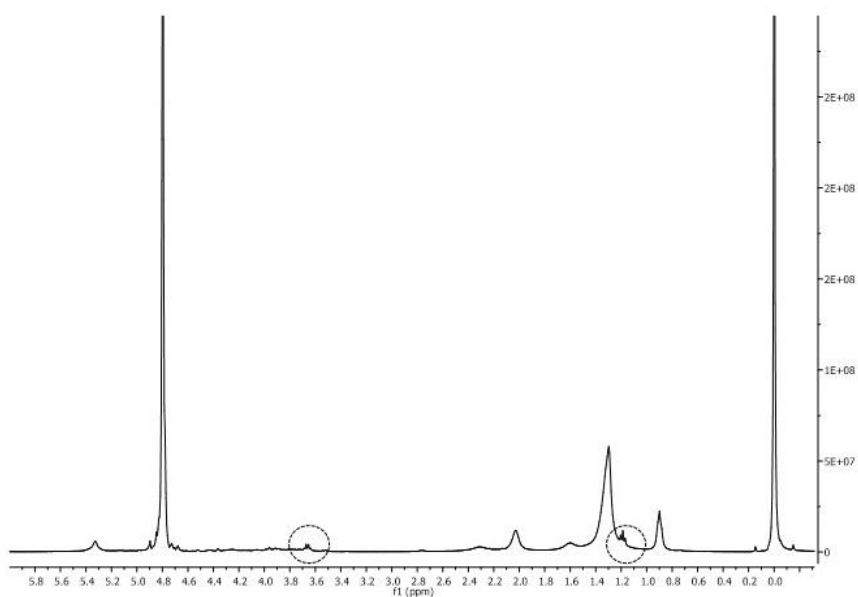




A Figura 53 comprova a diminuição da quantidade de etanol presente nas dispersões aquosas dos diferentes Span, com o aumento do tempo de agitação a 75 °C. Verifica-se também, através dos gráficos desta Figura que, a partir de 180 min de agitação, a intensidade dos picos reduz para valores próximos de zero, sem nunca atingirem o zero, indicando presença de moléculas de etanol nas dispersões vesiculares.

A Figura 54 apresenta, como exemplo, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  da dispersão aquosa de Span 20 obtida por injeção de etanol, confirma a presença de picos correspondentes ao surfactante, além de sinais característicos do espectro do etanol.

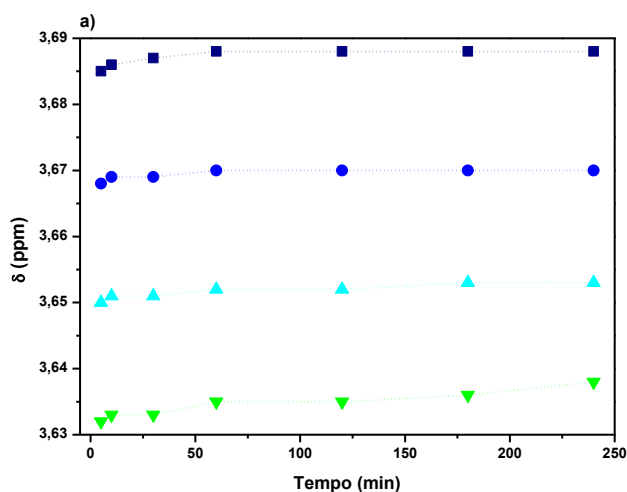
**Figura 54.** Espectro da dispersão aquosa de Span 20, após 240 min de agitação a 75 °C, obtida por injeção de etanol.



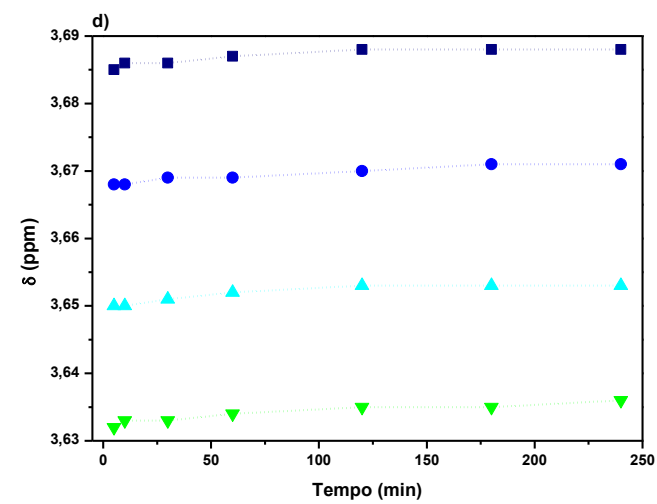
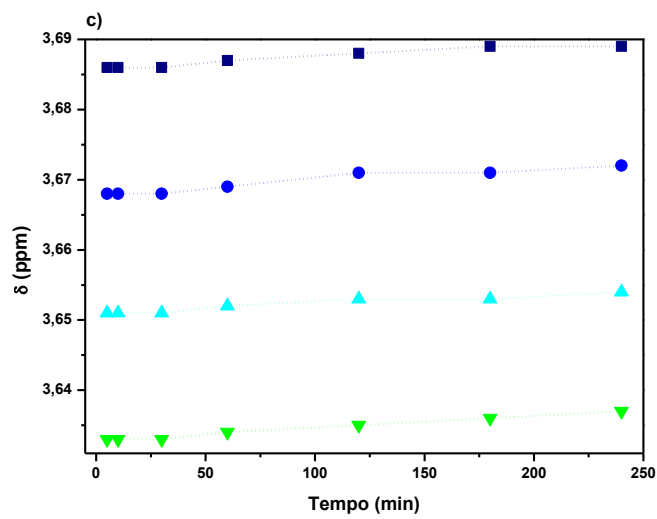
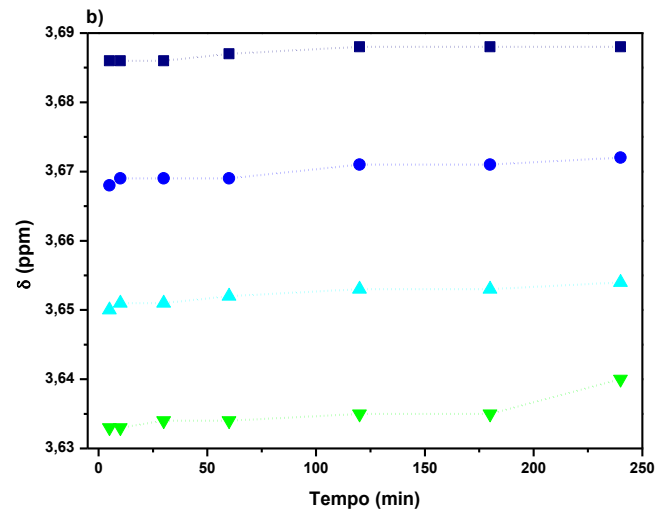
Verifica-se que estão presentes neste espectro o tripleto e quarteto característicos da moléculas de etanol (assinalados na Figura 54). Portanto pode-se concluir que até 180 min de agitação, os picos correspondetes às moléculas de todos os Span estudados não são observados, pois a quantidade de etanol presente na solução é grande. No intervalo de 180-240 min de agitação a 75 °C, a quantidade de etanol é residual devido à evaporação confirmando a presença das atribuições de cada surfactante nos espectros.

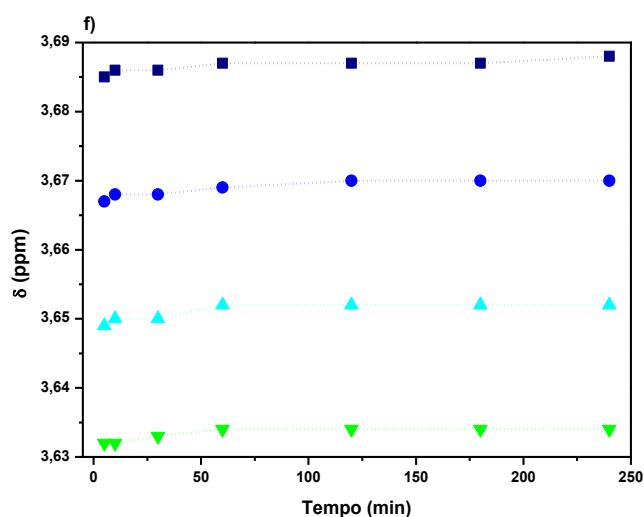
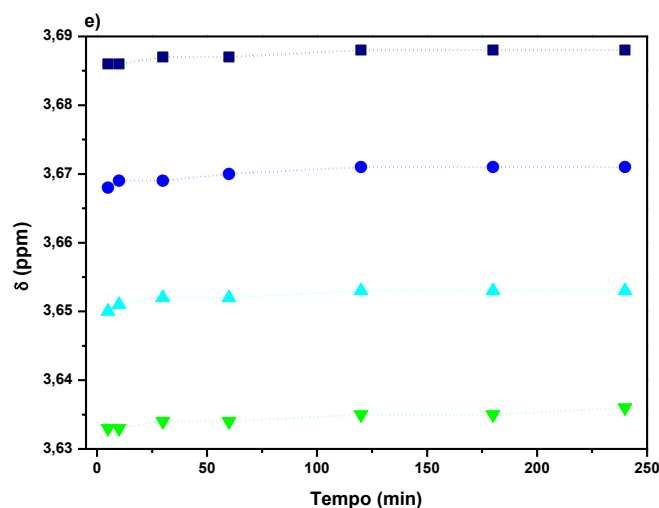
O indicador mais importante da presença de etanol na bicamada das vesículas, diz respeito às variações ocorridas nos desvios químicos dos sinais espectrais característicos do álcool. Na Figura 55 são representadas as variações no valor do desvio dos sinais correspondentes ao quarteto do espectro de etanol, em função do tempo de agitação, a 75 °C.

**Figura 55.** Representação da variação nos desvios químicos dos quatro picos constituintes do multipletto no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do etanol das soluções de a) Span 20; b) Span 40; c) Span 60; d) Span 65; e) Span 80 e f) Span 85, na concentração 10 mM, em função do tempo, a 75 °C.









Com base nesses resultados, observa-se que os desvios químicos dos sinais do quarteto (assim como dos picos do tripleto em anexo), característicos da molécula de etanol, são sensíveis ao aumento do tempo de agitação a 75 °C.

Após 5 min de agitação, os desvios químicos dos prótons do etanol em todas as dispersões de Span são iguais aos desvios químicos dos prótons do espectro de etanol puro. Este fato evidencia o papel do álcool na formação de estruturas auto-agregadas de Span, através do uso do método de injeção etanólica.

O desvio químico do quarteto do etanol das dispersões etanol-Span-água, após 5 min de agitação a 75 °C, é igual ao observado para o etanol puro. Contudo, tempos de agitação maiores levam a mudanças observáveis nos desvios químicos detectados. Como o etanol na solução evapora, as moléculas de etanol interagem com a parte polar dos surfactantes nas proximidades, tornando-se mais visível os sinais que começam a aparecer para desvios químicos ligeiramente superiores.

Os grupos hidroxila do etanol, que solvatam as moléculas de surfactante, podem interagir com os grupos hidroxila do grupo de açúcares dos Span através de ligações de hidrogênio. Essa ligação, afeta os prótons metilénicos do etanol explicando, assim o aumento dos desvios químicos. Por outro lado, os prótons metílicos (gráficos em anexo) do etanol, não são substancialmente afetados pelas ligações de hidrogênio.

Através destes resultados foi possível compreender a formação de vesículas por injeção alcoólica. Os grupos hidroxila dos álcoois se ligam aos grupos hidroxila do grupo polar dos surfactantes, através de ligações de hidrogênio. Além disso, provou-se que o tamanho das vesículas formadas pode ser controlado pelo comprimento da cadeia do álcool usado no método de injeção. Dependendo desse comprimento, moléculas do álcool localizam-se dentro ou fora da bicamada das vesículas, com impacto crucial na curvatura e tamanho das vesículas.

### **4.6 Estudo preliminar dos índices de emulsificação (EI) dos sistemas de Span obtidos pelo método de injeção de álcool**

As dispersões de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, obtidas pelos métodos de injeção de metanol, etanol e 2-propanol, foram usadas na formação de emulsões O/W, tendo sido feito um estudo preliminar e estas foram avaliadas quanto à sua capacidade de emulsificação de diferentes fases dispersas. Acredita-se que foram formadas emulsões O/W dado que, e como se concluiu na seção anterior, as moléculas de álcool usadas no método de injeção atuam como co-surfactantes e ao interagirem com as moléculas de Span, alteraram a sua lipofilicidade, e possibilitam a sua solubilização em água. Foram determinados os índices de emulsificação (EI) das vesículas dos Span estudados com alcanos com diferentes comprimentos de cadeias carbonadas, como o hexano, decano e hexadecano, e com óleo de soja refinado, constituído por uma mistura de ácidos graxos, embora os ácidos oleico e linoleico, presentes em cerca de 29 e 58%, respetivamente, sejam seus principais constituintes.

Foram estudadas variáveis como o tempo de análise (diretamente relacionado à estabilidade da emulsão), a concentração da fase contínua (soluções de Span), comprimento das cadeias das diferentes fases dispersas das emulsões, valores de HLB dos Span usados, e a variação estrutural das moléculas de Span. Foi analisada a relação entre todos estes fatores para melhor compreensão do papel dos Span na produção de emulsões O/W. Destaca-se aqui o fato de, pela primeira vez, serem formadas emulsões O/W com os Span como emulsificantes, pois apresentam um caráter lipofílico e, portanto, são usados como emulsificantes em emulsões W/O.

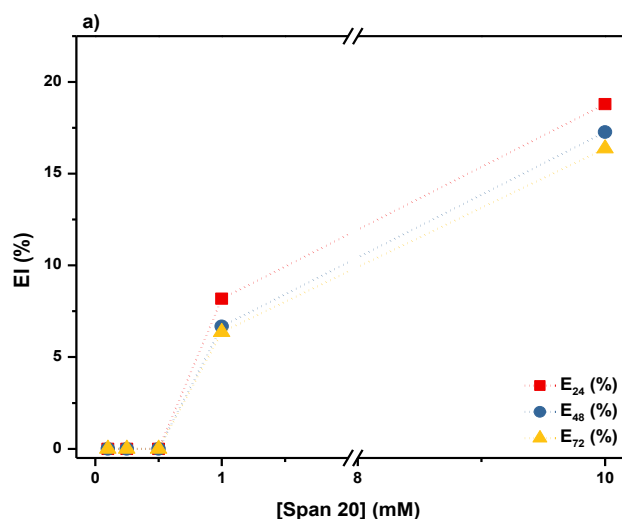
Nesta seção são apresentados os resultados para as emulsões formadas com as dispersões de Span obtidas por injeção metanólica, dado o volume considerável de dados e de relações feitas com os resultados de EI obtidos. Os resultados referentes aos EI das dispersões obtidas por injeção etanólica e propanólica encontram-se apresentadas nos Anexos, caso seja necessária a sua consulta.

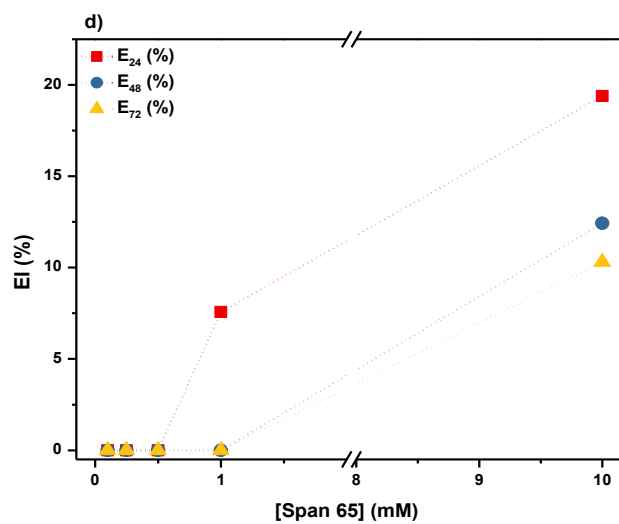
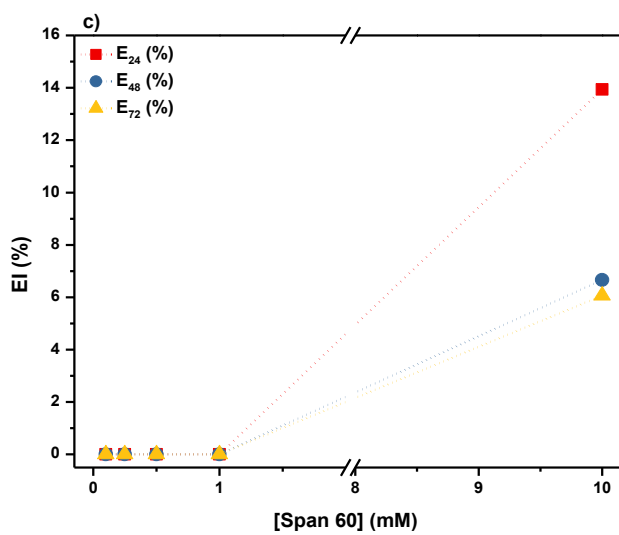
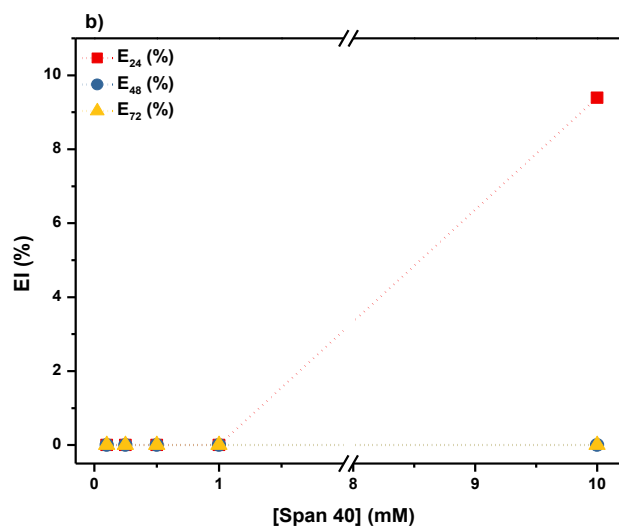
#### **4.6.1 Dispersões de Span obtidas pelo método de injeção de metanol**

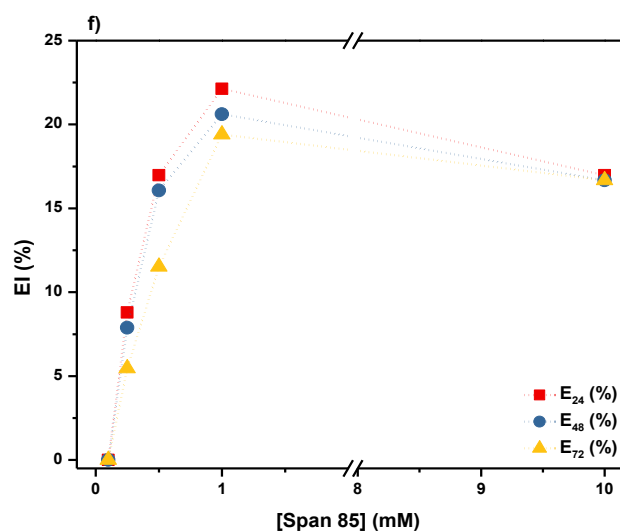
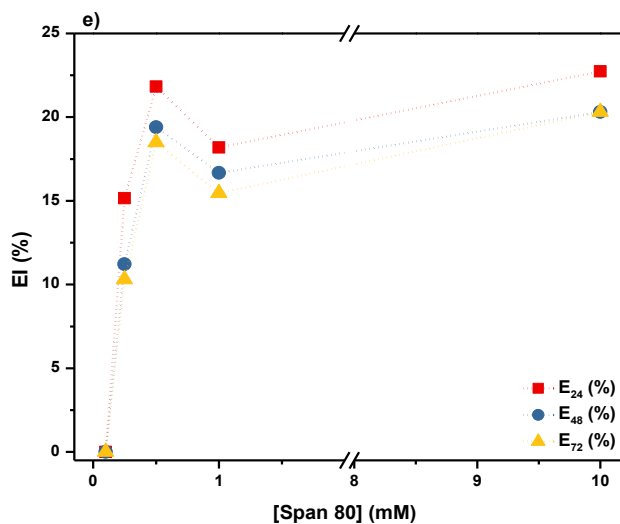
##### **4.6.1.1 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexano**

Na Figura 56 vemos a variação de EI das emulsões de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, em hexano, obtidas por injeção metanólica, em diferentes concentrações na fase aquosa, e tempo de análise de 24 h ( $E_{24}$ ), 48 h ( $E_{48}$ ) e 72 h ( $E_{72}$ ).

**Figura 56.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em hexano, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.







Verifica-se, para todos os Span a tendência do aumento da capacidade de emulsificação com o aumento da concentração do surfactante. Isto seria expectável, uma vez que em maiores concentrações há um número maior de moléculas de surfactante disponíveis para formação de emulsão.

Observa-se também que, em todos os sistemas aqui estudados, os valores de EI após 24 h, é sempre superior às medidas após 48 e 72 h. As emulsões são sistemas instáveis e é necessária a aplicação da força mecânica, essencial para sua formação. Após a aplicação de força mecânica, a tendência é que o sistema retorne ao estado inicial e ocorra a separação completa do óleo da água, com o passar do tempo, apesar da presença de surfactantes no sistema, que aumenta o tempo de estabilização e homogeneização das emulsões.

Os Span 20, 80 e 85, além de terem maior capacidade de formação de emulsão com hexano, o que está de acordo com a maior capacidade desses surfactantes de redução da tensão superficial da água, conforme discutido na Seção 4.4; são também melhores emulsificadores, pois

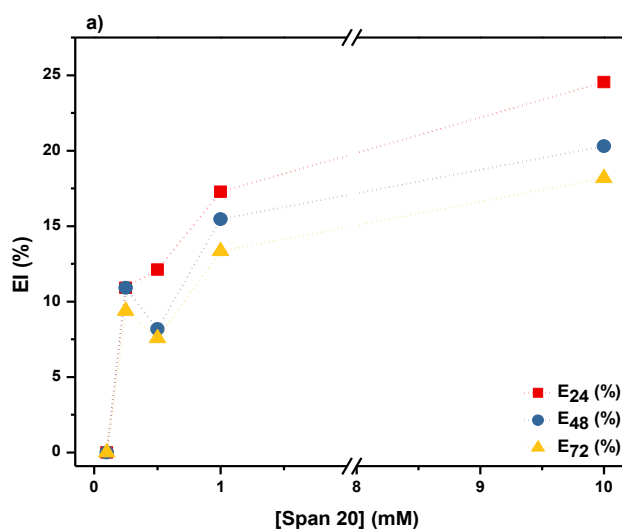
estabilizam mais as emulsões durante 72 h de análise. Isso pode ser explicado pelo aumento nas interações intermoleculares entre o alcano e as cadeias dos Span. Em relação ao Span 20, conforme já explicado anteriormente, essas interações se devem ao fato do Span 20 apresentar uma cadeia de 12 carbonos e de esse ser o número de carbonos ideal na relação solubilidade em hidrocarbonetos/capacidade de agregação. Com relação aos Span 80 e 85, as interações moleculares entre o hexano e as cadeias desses surfactantes, é promovida pela presença de insaturações na parte apolar dos Span. Essas insaturações promovem diminuição do ângulo de ligação onde se encontram, fornecendo à cadeia alguma flexibilidade e uma consequente capacidade de aprisionamento do alcano de maior comprimento.

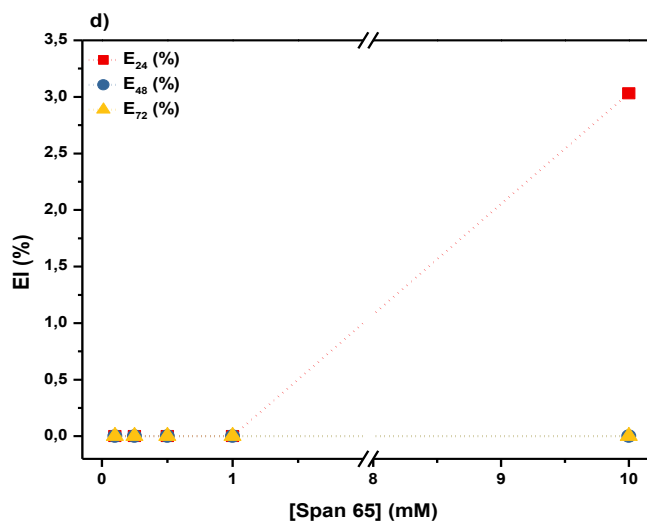
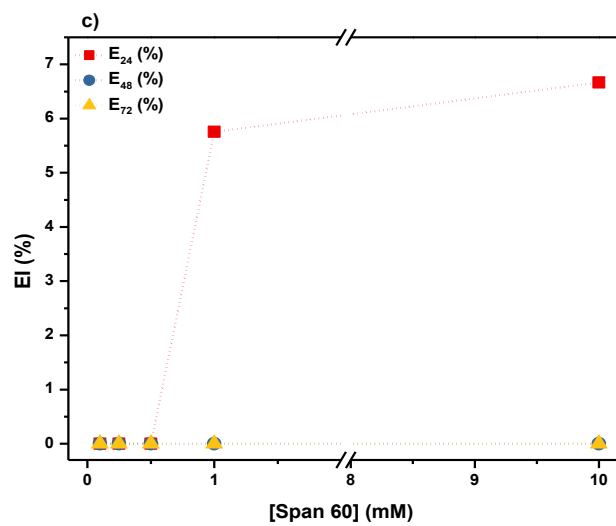
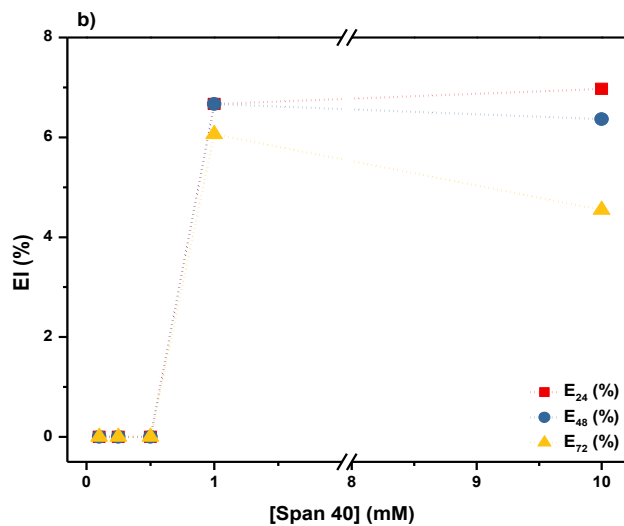
Salvo algumas exceções, as explicações teóricas para a capacidade de emulsificação dos Span 20, 80 e 85 com as outras fases contínuas em estudo, são as mesmas apresentadas acima.

#### 4.6.1.2 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em decano

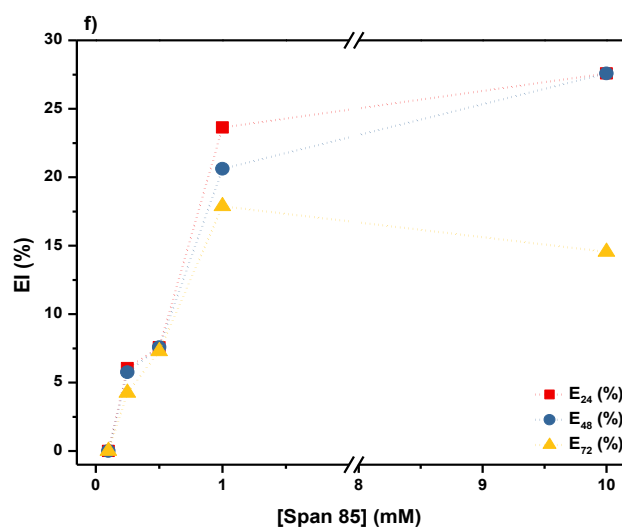
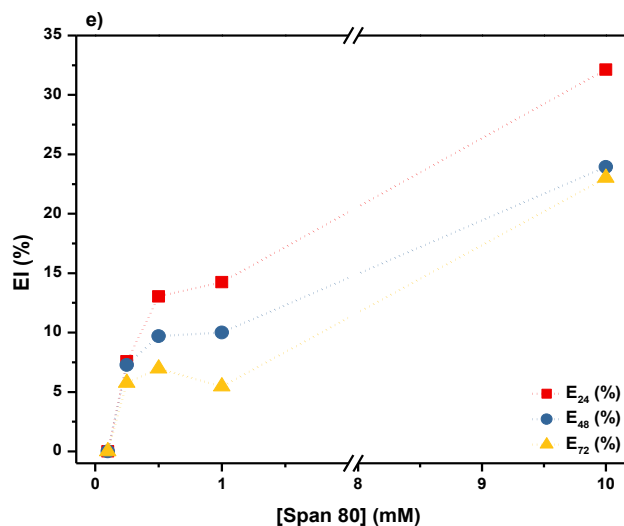
Na Figura 57, estão representados os valores de EI obtidos para emulsões de Span e decano, após 72 h de análise.

**Figura 57.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85 obtidas por injeção metanólica, em decano, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.







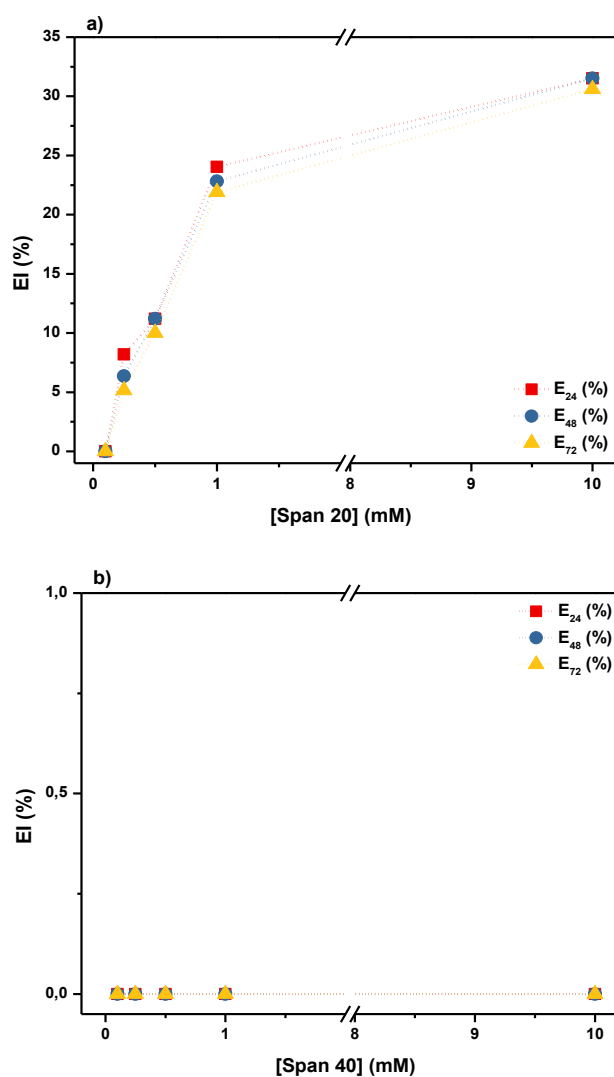


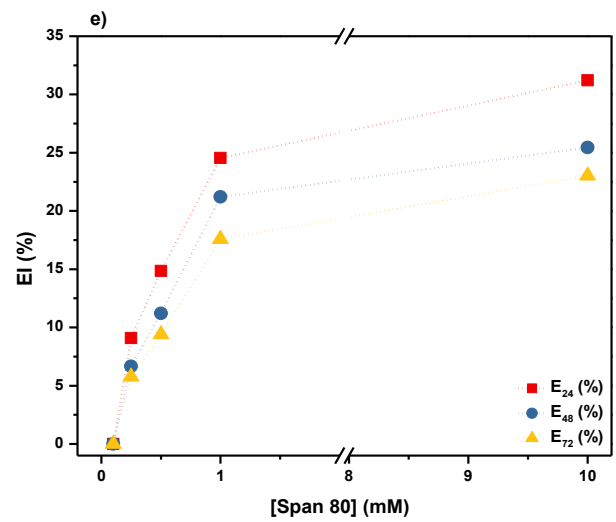
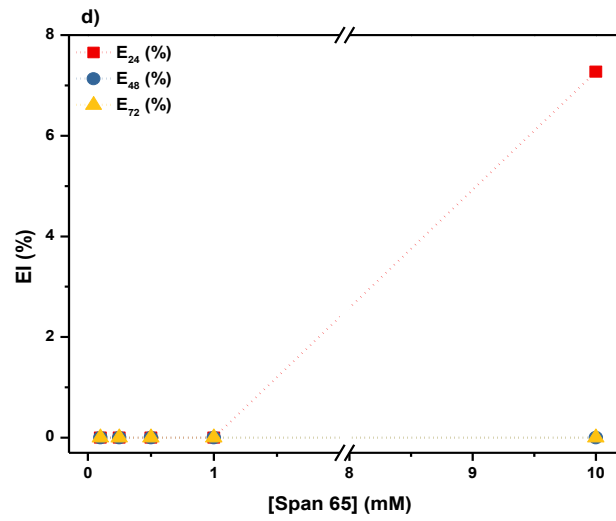
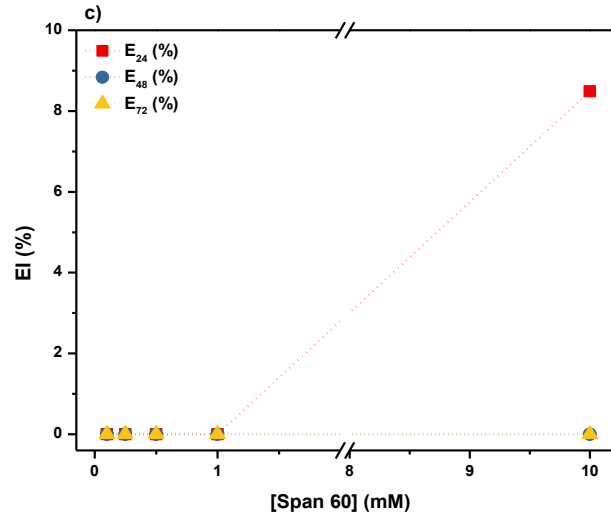
Mais uma vez, os Span 20, 80 e 85 apresentam os melhores valores de EI (entre 25-35 %), assim como da capacidade de manter a emulsão estabilizada ao longo de 72 h, o que seria expectável, com base na discussão feita sobre as emulsões formadas com hexano. Os Span 40, 60 e 65 permitiram a formação de emulsão com o decano, embora tenham apresentado valores de EI muito baixos, e os Span 60 e 65 só conseguiram manter a emulsão formada por 24 h. Embora Span 60 e 65 contenham hidrofiliçidade elevada, acredita-se que a ausência de insaturação nas suas cadeias hidrocarbonadas, como ocorre com os Span 80 e 85, não permita uma interação tão forte entre estas e a gordura a ser emulsificada, diminuindo a taxa de aprisionamento da gordura no agregado. Verifica-se também que as soluções de Span 60 e 65 apresentam alguma precipitação, motivada pela sua insolubilidade em água, o que diminui a quantidade efetiva de moléculas de surfactante na solução, afetando, assim, a sua capacidade de emulsificação. Em todos os sistemas analisados verifica-se, como esperado, a diminuição dos valores de EI com o aumento do tempo de análise.

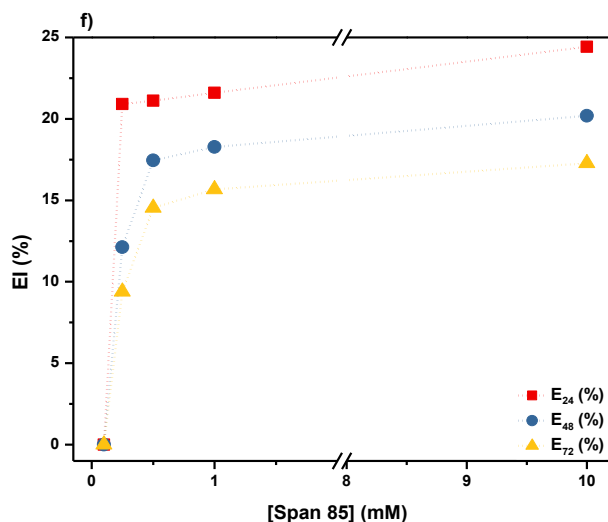
#### 4.6.1.3 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexadecano

Na Figura 58 são apresentados o comportamento de EI de emulsões de Span com hexadecano, nas diferentes concentrações do surfactante, ao longo de 72 h.

**Figura 58.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85 obtidos por injeção metanólica, em hexadecano, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.





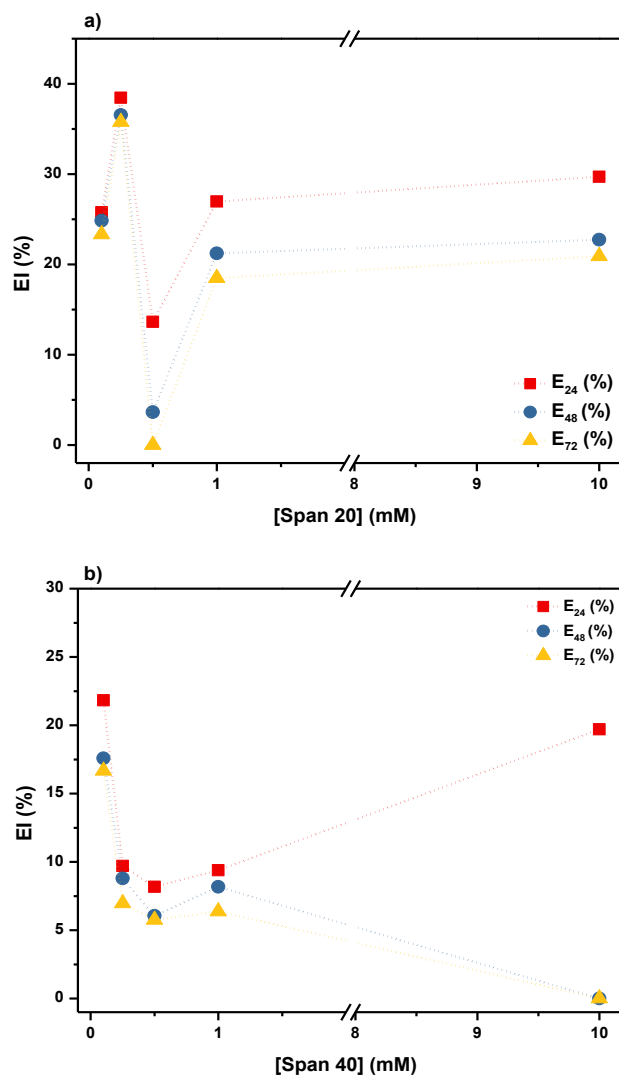


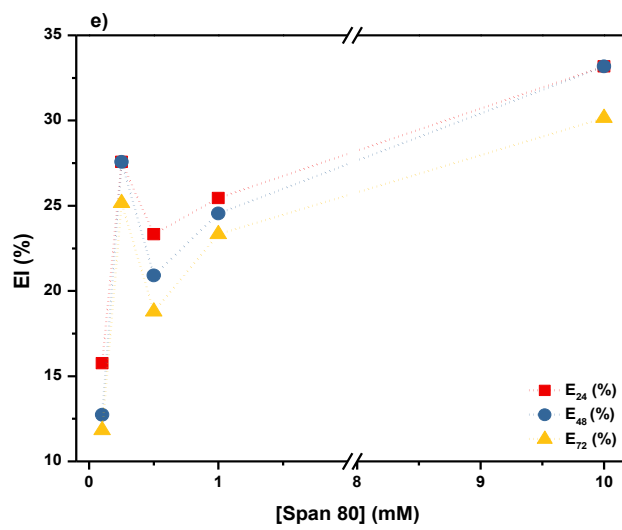
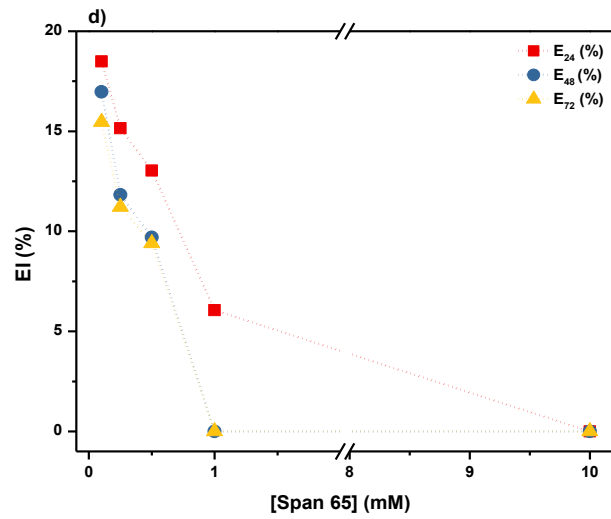
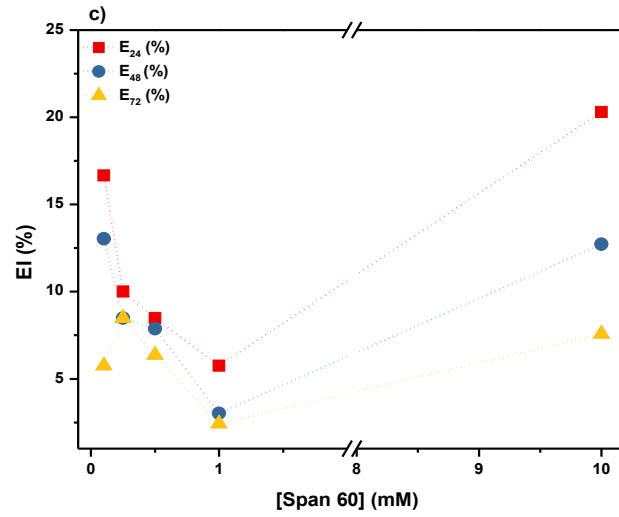
Tendo o hexadecano como fase dispersa, e sendo este o maior alceno em estudo, com o Span 40 não ocorreu formação de emulsão e, uma vez mais, os Span 60 e 65 voltaram a apresentar valores baixos de EI (8-9%), e a emulsão não se manteve estável, tendo ocorrido a coalescência total ao fim de 24 h. Os Span 20, 80 e 85 voltam a apresentar valores de EI mais elevados, mas o Span 20 foi o que apresentou os melhores valores, e a maior estabilidade, uma vez que praticamente não ocorreu separação da emulsão ao longo de 72 h, nas concentrações de 0,25-10 mM. Este fato se explica pelo fato de estes três surfactantes serem os mais hidrofílicos em estudo: o Span 20 por ser o que apresenta grupo apolar mais curto, e os Span 80 e 85 por apresentarem uma insaturação a meio da cadeia carbonada, o que faz com que as interações de van der Waals sejam mais fracas, aumentando assim a sua interação com moléculas de água e diminuindo a precipitação em solução.

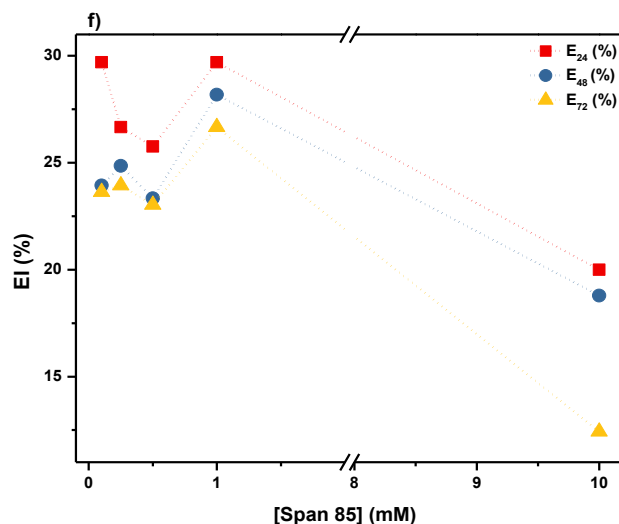
#### 4.6.1.4 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em óleo de soja

Na Figura 59 são apresentados o comportamento de EI de emulsões dos Span estudados com óleo de soja refinado, nas diferentes concentrações do surfactante, ao longo de 72 h.

**Figura 59.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em óleo de soja, após 24, 48 e 72h, a 25 °C.







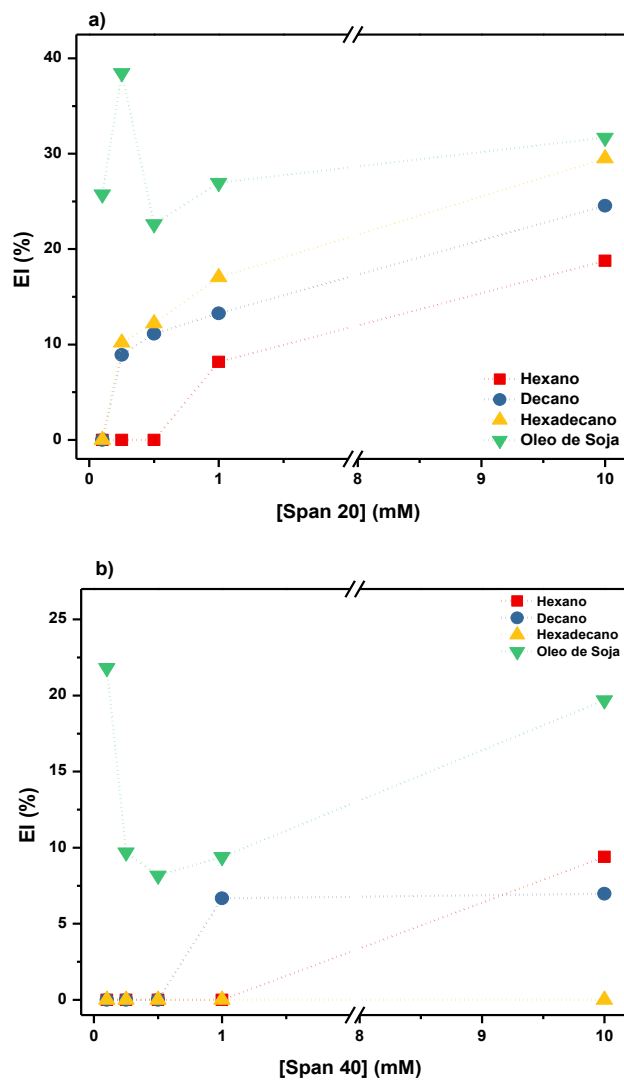
De acordo com a Figura 59, é possível verificar que, ao contrário das fases dispersas anteriores, para nenhum dos Span, se verifica uma relação de proporcionalidade entre a concentração de Span e o aumento da capacidade de emulsificação (EI) dos mesmos. Observa-se que, para quase todos os Span, as concentrações menores foram as que apresentaram maior capacidade de emulsificação com o óleo de soja. Verifica-se também que houve uma melhoria nos valores de IE obtidos entre os Span e o óleo de soja, comparando aos valores de EI obtidos com os alcanos conforme mostrado anteriormente.

À semelhança dos resultados com os alcanos, os valores de EI diminuíram com o tempo de estudo, conforme esperado.

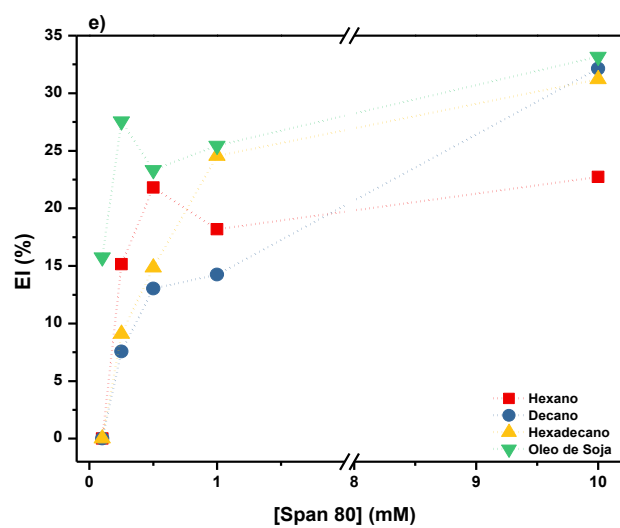
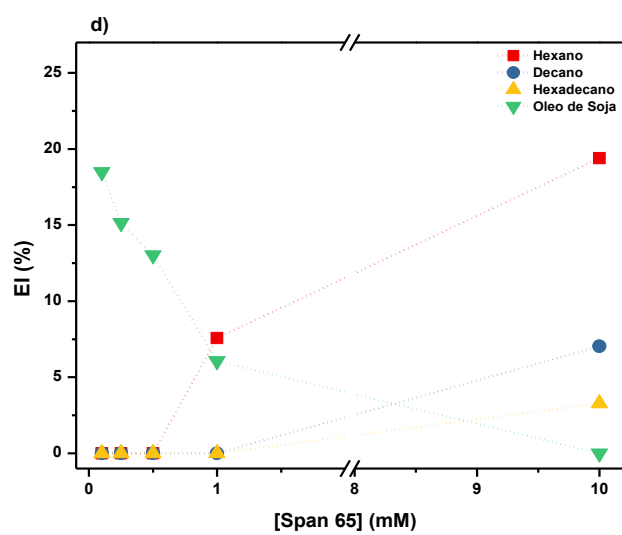
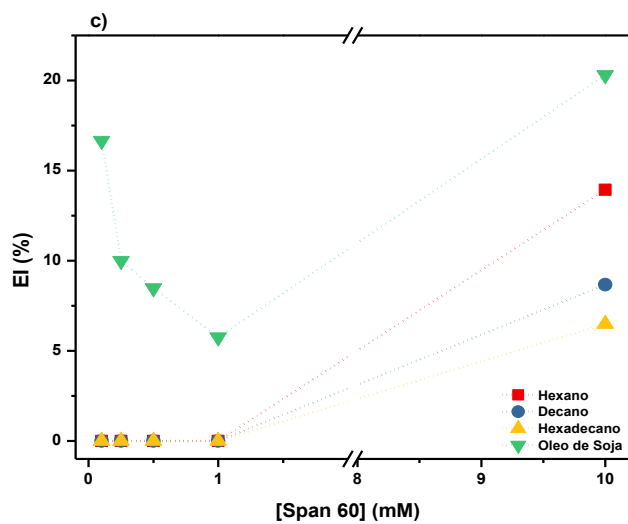
#### 4.6.1.5 Efeito da concentração de Span e do comprimento da gordura emulsificada no índice de emulsificação (EI)

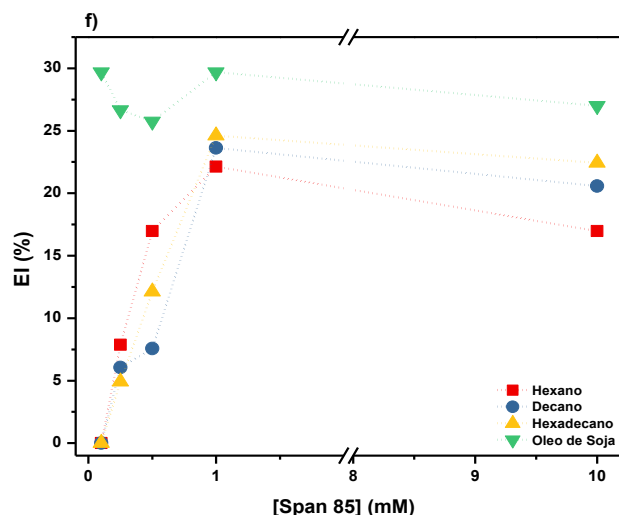
Na Figura 60, é mostrada a relação entre os valores de EI para cada um dos sistemas Span formados pelo método de injeção com metanol e o comprimento das fases dispersas usadas na formação das emulsões, em função das concentrações de Span. Os valores de EI usados foram os obtidos ao fim de 24 h de análise (E<sub>24</sub>).

**Figura 60.** Efeito da concentração de Span em EI de emulsões de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidas por injeção metanólica, em gorduras emulsificadas de diferentes tamanhos, após 24h, a 25 °C.









É possível verificar que todos os Span aqui investigados apresentam maior capacidade de emulsificar o óleo de soja, fase dispersa com maior comprimento de cadeia, em comparação aos alcanos.

No caso dos Span 20, 80 e 85, é possível verificar uma relação inversamente proporcional entre o tamanho da cadeia da fase dispersa e a capacidade de emulsificação dos surfactantes. Ou seja, estes Span são mais eficientes na emulsificação de gorduras de cadeia maior, do que de gorduras com cadeias mais curtas, pois o óleo de soja, cuja constituição é apresentada na Tabela 19, é a gordura mais hidrofóbica em estudo. A presença de uma grande percentagem de ácido oleico e linoleico, que apresentam uma ou duas insaturações em suas cadeias carbonadas, faz com que o óleo de soja seja mais facilmente emulsificado. A presença destas insaturações provoca uma diminuição do ângulo da ligação em que estas se encontram, aumentando assim o volume ocupado por essas moléculas. Isso torna mais fácil a disposição dos monômeros do surfactante ao seu redor, permitindo o seu aprisionamento mais facilmente dentro do ambiente hidrofóbico da vesícula.

**Tabela 19.** Composição química do óleo de soja.

Ácidos graxos (g/100 g)		Óleo de Soja
C 12:0	Láurico	< 0.1
C 14:0	Mirístico	< 0.2
C 16:0	Palmítico	8.0 – 13.5
C 16:1	Palmitoleico	< 0.2
C 17:0	Margárico	< 0.1
C 17:1	Heptadecenoico	< 0.1
C 18:0	Esteárico	2.0 – 5.4

C 18:1	Oleico	17.7 – 28.0
C 18:2	Linoleico	49.8 – 59.0
C 18:3	Linolénico	5.0 – 11.0
C 20:0	Araquídico	0.1 – 0.6
C 20:1	Eicosenoico	< 0.5
C 20:2	Eicosadienoico	< 0.1
C 22:0	Behénico	< 0.7
C 22:1	Erúcido	< 0.3
C 24:0	Lignocérico	< 0.5

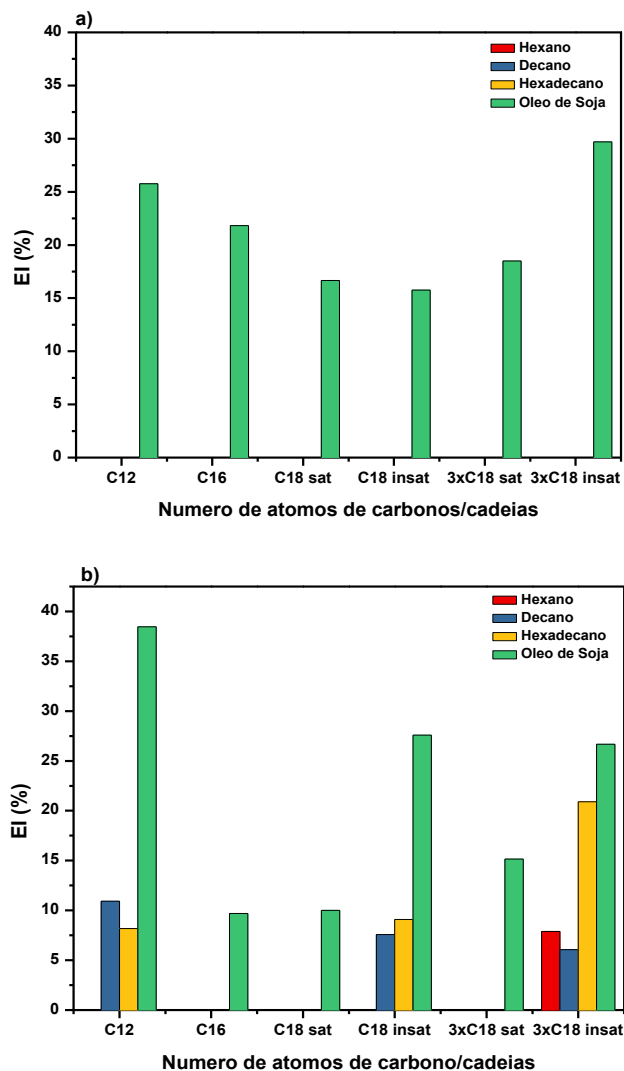
No Span 60 observa-se uma capacidade maior de emulsificação do óleo de soja; porém, relativamente aos alcanos estudados, na maior concentração usada (10 mM), os valores de EI são inversamente proporcionais ao tamanho da cadeia. Relativamente ao Span 65, são obtidos maiores valores de EI para o óleo de soja, em concentrações menores de Span e, na concentração mais elevada verifica-se que a capacidade de emulsificação do Span é inversamente proporcional ao comprimento da cadeia da fase dispersa. Isto pode ser justificado pelo fato de, em 10 mM, existir uma quantidade significativa de precipitado em solução.

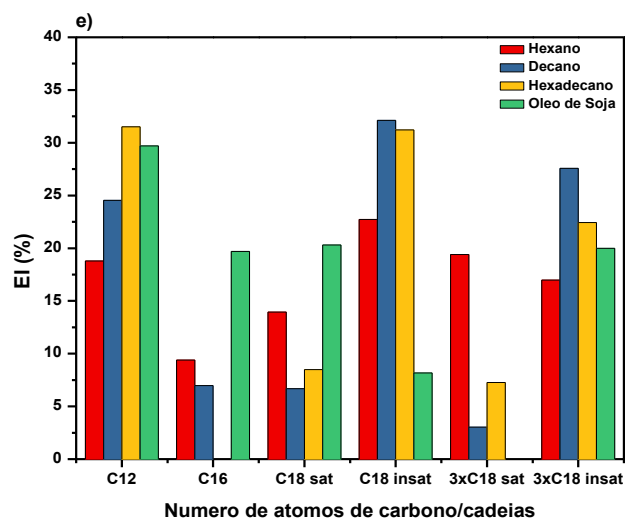
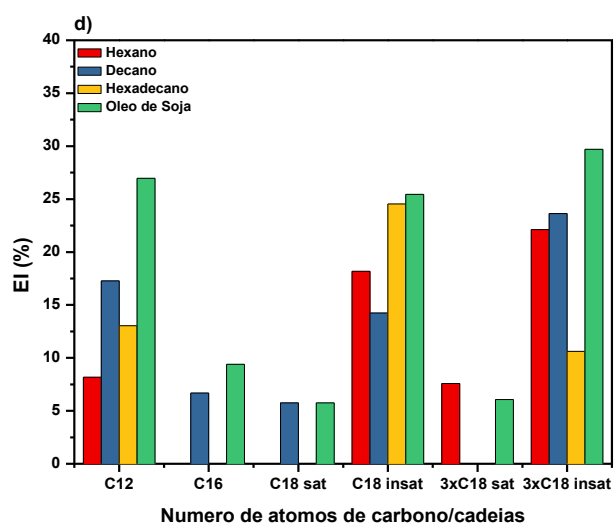
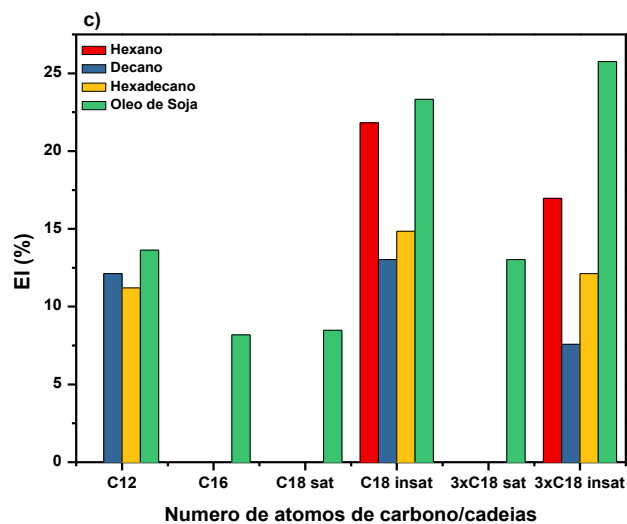
#### 4.6.1.6 Efeito da estrutura molecular e da concentração de Span no índice de emulsificação (EI)

Os Span partilham o mesmo grupo de açúcares na cabeça polar (sorbitano), e diferenciam-se entre si pelo comprimento, número e presença ou não de insaturações das suas cadeias carbonadas. Como referido anteriormente, o Span 20 tem na sua constituição uma cadeia C<sub>12</sub>, o Span 40 uma C<sub>16</sub>, o Span 60 uma C<sub>18</sub> e o Span 65 possui três cadeias C<sub>18</sub>. As cadeias dos Span 80 e 85 são iguais em número de cadeias e número de carbonos que as cadeias dos Span 60 e 65, respetivamente, mas apresentam uma insaturação em cada cadeia, na posição C<sub>9=10</sub>.

Na Figura 61, vemos as relações entre os valores de EI obtidos para cada uma das fases dispersas das emulsões, com o comprimento, número e presença de insaturações dos Span. Cada gráfico corresponde a uma das 5 diferentes concentrações de Span usadas na formação das emulsões.

**Figura 61.** Relação entre EI e o comprimento da cadeia dos Span 20 (C<sub>12</sub>), 40 (C<sub>16</sub>), 60 (C<sub>18</sub> saturada), 65 (3xC<sub>18</sub> saturadas), 80 (C<sub>18</sub> insaturada) e 85 (3xC<sub>18</sub> insaturadas), pelo método de injeção metanólica, ao fim de 24h, nas concentrações a) 0,1; b) 0,25; c) 0,5; d) 1; e) 10mM.





Da Figura 61, verifica-se claramente a maior capacidade de emulsificação do Span 20, com uma cadeia  $C_{12}$  e do Span 80, com uma cadeia  $C_{18}$  insaturada. Esta relação é observada em todas as concentrações e para todas as gorduras emulsificadas, com exceção da concentração 0,1 mM, na qual se observa emulsificação apenas no óleo de soja, e a capacidade de emulsificação é inversamente proporcional ao aumento da cadeia do surfactante. Isto pode ser explicado pelo aumento das interações intermoleculares entre o óleo e as moléculas do surfactante que, nesta concentração, se encontram em número reduzido na solução, devido à presença de insaturações nas moléculas de ácidos graxos que constituem o óleo.

Na Figura 61, notamos que os quatro grupos da direita no eixo x (número de átomos de carbono/cadeias) correspondem aos valores de EI em função do número de cadeias e presença de insaturações nos Span com cadeias de tamanho  $C_{18}$ . Assim, é possível concluir que, na faixa de concentração de 0,25-10 mM, os Span com uma insaturação (Span 80 e 85) apresentam maior capacidade de emulsificação de todas as gorduras do estudo. Relativamente aos Span 60 e 65, que são constituídos de cadeias  $C_{18}$  saturadas, o que apresenta melhores resultados de EI em praticamente todas as concentrações entre 0,25 e 10 mM, é o Span 65, com três cadeias  $C_{18}$  na sua constituição. Esta maior capacidade de emulsificação do surfactante com maior número de cadeias resulta numa maior interação entre a parte apolar do surfactante e a gordura emulsificada, aumentando a eficiência de aprisionamento da mesma.

Mais uma vez, na concentração 0,1 mM os resultados diferem das demais concentrações. Na concentração mais baixa, verificou-se uma relação proporcional entre o valor de EI e o número de cadeias  $C_{18}$  e com a presença de insaturação.

### **- Discussão geral dos Índices de Emulsificação (EI) dos Span**

Embora tenham sido feitas diversas interpretações dos resultados obtidos para os valores de EI ao longo da sua apresentação, será feita agora uma discussão mais aprofundada dos mesmos.

As dispersões dos Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, obtidas pelo método de injeção de álcoois de diferentes tamanhos de cadeia (metanol, etanol e 2-propanol), foram testadas na sua eficiência na emulsificação de diferentes alcanos com comprimento de cadeia de 6, 10 e 16 carbonos (hexano, decano e hexadecano, respetivamente), e de óleo de soja, que é constituído maioritariamente pelos ácidos oleico e linoleico.

Dada a presença de metanol, etanol e 2-propanol nas dispersões de Span, atuando como co-surfactantes, acredita-se que as emulsões obtidas são emulsões O/W. As emulsões foram formadas por agitação mecânica das fases aquosa (dispersões de Span em diferentes concentrações) e das fases dispersas (gorduras), e foram deixadas em repouso a 25 °C, durante

três dias. Foram realizadas medidas das camadas emulsificadas nos tempos de 24, 48 e 72 h, após preparação das emulsões, e determinados os índices de emulsificação (EI) de todos os sistemas em estudo.

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, formadas por dois líquidos imiscíveis, onde a fase dispersa se encontra na forma de gotículas microscópicas em suspensão na fase contínua (fase dispersante). Quando se dispersa um líquido imiscível numa fase aquosa, a emulsão formada é chamada de emulsão óleo-em-água (O/W) (Karaborni *et al.* 2006, Yamashita *et al.* 2017).

A fim de aumentar a eficiência da formação e estabilização da emulsão, são adicionados surfactantes, para minimizar a energia livre necessária para a formação da emulsão ( $\Delta G_{\text{form}}$ ), dada pela Equação 5.

$$\Delta G_{\text{form}} = \Delta A \gamma_{\text{OA}} - T \Delta S \quad (5)$$

A formação de emulsão depende, portanto, da mudança da área interfacial ( $\Delta A$ ), da tensão interfacial entre o óleo e a água ( $\gamma_{\text{OA}}$ ), da mudança da entropia no sistema ( $\Delta S$ ), e da temperatura (T).

Por norma,  $\Delta G_{\text{form}}$  é positiva ( $\Delta A \gamma_{\text{OA}} \gg T \Delta S$ ), ou seja, as emulsões são instáveis caso não seja adicionado algum mecanismo de estabilização. Esse mecanismo de estabilização é normalmente feito através da ação das moléculas de surfactantes, uma vez que estas vão adsorver na interface óleo-água e reduzir o valor da tensão interfacial. Os surfactantes também têm uma ação estabilizadora na emulsão, uma vez que geram forças repulsivas de origem eletrostática, no caso dos surfactantes iônicos, ou funcionam como barreira física entre as gotículas de óleo, no caso dos surfactantes não-iônicos, prevenindo assim o fenômeno de coalescência (Rosen e Kunjappu 2012).

Está teoricamente esclarecido que, entre outros fatores, a formação de emulsões depende do valor do HLB do surfactante utilizado como emulsificante. Surfactantes com HLB entre 1-8 formam preferencialmente emulsões W/O, enquanto que surfactantes com valores de HLB superiores, tendem a formar emulsões O/W. Há também uma relação direta entre o valor de HLB e a solubilidade dos surfactantes. Surfactantes com baixos valores de HLB são preferencialmente solúveis em óleo, e surfactantes com valores de HLB elevados vão ter boa solubilidade em água. Assim, considera-se que o HLB é um importante fator na formação de emulsão (Marszall 1978, Acton e Saffle 2008).

Os Span usados neste trabalho são surfactantes lipofílicos, com valores de HLB entre 1,8-8,6. Em todos os estudos onde foram usados apenas moléculas de Span como surfactante na formação de emulsões (eles também podem ser usados como estabilizadores da emulsão, quando

outras moléculas de surfactante são usadas como emulsificantes), foram obtidas emulsões A/W, uma vez estes surfactantes são solúveis em óleo e apresentam valores de HLB baixos (Takamura *et al.* 1979, Kato *et al.* 2008, Tian *et al.* 2011, Lv *et al.* 2014, Baek *et al.* 2016, Kim *et al.* 2017).

Nesta pesquisa foram solubilizados em água os Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, através do método de injeção de uma solução alcoólica de Span em água e a consequente formação de vesículas. O método de injeção é um dos métodos mais usados na formação de agregados vesiculares. Através deste método foi possível inverter a tendência de solubilização dos Span, e ao solubilizá-los em água foi possível tornar hidrofílico o comportamento dessas moléculas, ao invés do caráter lipofílico que as caracteriza.

As vesículas de Span foram obtidos pelo método de injeção usando álcoois de diferentes tamanhos, o que influenciou o tamanho dos agregados obtidos. O tamanho médio dos agregados (vesículas) de Span obtidos por injeção com metanol varia de 110 a 375 nm, o tamanho obtido por injeção de etanol e 2-propanol varia de 134 a 438 nm e de 203 a 775 nm, respectivamente, segundo os resultados apresentados na Seção 4.4.

A atividade de emulsificação dos sistemas de Span que têm o metanol, etanol ou 2-propanol como estabilizador dos agregados, foi testada com hexano, decano, hexadecano e óleo de soja.

Através dos resultados obtidos para a injeção metanólica (apresentado na Seção 4.6) e para as injeções etanólicas e propanólicas, cujos resultados são apresentados em Anexo, é possível tirar as primeiras conclusões acerca da formação e estabilidade das emulsões de Span, durante os três dias de análise.

Com todas as diferentes fases dispersas, os Span 20, 80 e 85 apresentaram a melhor capacidade de estabilização das emulsões, e maiores capacidades de emulsificação das gorduras testadas, em 72 h de análise.

Como referido anteriormente, através da análise da relação dos valores de HLB destes surfactantes com os valores do índice de emulsificação (EI), conclui-se que estes não estão de acordo com o esperado teoricamente (Ducret *et al.* 1995). As pontes de hidrogênio formadas entre o grupo -OH dos álcoois e os grupos -OH do anel do sorbitano, alteraram os valores de HLB destes ésteres de açúcares e estes foram recalculados, tendo em conta a interação das moléculas dos diferentes álcoois com a parte polar de açúcares dos Span. Mesmo após esse cálculo, através do método de Griffin, continuou a não ser possível observar uma relação clara entre a capacidade de emulsificação e os valores de HLB dos sistemas. Isto pode ser explicado pelo fato de termos invertido a tendência destes surfactantes lipofílicos, em formarem preferencialmente emulsões W/O, após a injeção dos álcoois metanol, etanol e 2-propanol.

Observou-se que os Span 20, 80 e 85 foram os mais eficientes no aprisionamento das gorduras testadas. Uma vez que os Span 80 e 85 são dos surfactantes mais hidrofóbicos desta



família de compostos testados, era esperada uma elevada capacidade de redução da tensão interfacial entre a água e a gordura, assim como de encapsulamento das moléculas de gordura na cavidade hidrofóbica das vesículas. Comparando os Span 80 e 85 com os Span 60 e 65, que também apresentam uma elevada hidrofobicidade, conclui-se que a presença de insaturações nas cadeias hidrofóbicas dos Span 80 e 85, é um fator determinante no que respeita à sua capacidade de emulsificação. A introdução da insaturação da cadeia alquílica vai influenciar o comprimento desta, dado que o ângulo de ligação vai diminuir. Esta diminuição do comprimento da cadeia, aumentaria o carácter hidrofílico do surfactante, ou seja diminuiria a sua capacidade de emulsificação de gorduras. Contudo, a posição em que se encontra a insaturação influencia este fato e sabe-se que a capacidade interfacial do surfactante é inversamente proporcional ao número de insaturações presentes nas suas cadeias (Kuiper *et al.* 2001). No entanto, a presença de insaturações diminui a força das interações nemáticas entre os agregados formados pelos surfactantes, o que tem como consequência uma solvatação mais eficiente destes agregados por parte da água (Lenin e Joy 2017). Assim, a presença de insaturações fornece ao surfactante uma maior capacidade de adsorção do que as cadeias saturadas, pois a insaturação provoca mudança no ângulo de ligação dos átomos de carbono em que se encontra, aumentando a velocidade de deslocamento destes surfactantes até às interfaces, dando-lhes uma maior capacidade de adsorção.

Além disso, o surfactante mais hidrofílico em estudo, o Span 20, foi também o que apresentou elevada capacidade de emulsificação, conjuntamente com os Span 80 e 85. Este fato permite concluir, com base na relação feita com a estrutura destes surfactantes, que 12 é o número ótimo de carbonos numa cadeia carbonada saturada para melhor capacidade de emulsificação de gorduras por parte dos Span, e que cadeias com 18 átomos de carbono com a presença de uma insaturação, são também os melhores grupos hidrofóbicos num surfactante, para que este apresente elevado índice de emulsificação.

Em relação às concentrações testadas, verifica-se que os Span com melhor eficiência de emulsificação, apresentam o comportamento esperado. Em concentrações maiores de Span 20, 80 e 85, são obtidos maiores valores de EI, uma vez que a presença de um número maior de moléculas do surfactante vai provocar a disponibilidade de uma maior quantidade de agentes emulsificantes, diminuição da tensão interfacial do sistema, assim como maior capacidade de agregação do surfactante, aumentando assim a eficiência de emulsificação.

Estes Span parecem mostrar também uma relação proporcional entre os valores de EI e o comprimento da cadeia das gorduras usadas na formação da emulsão. Os Span em questão parecem formar ligações intermoleculares mais fortes com os ácidos oleico e linoleico, presentes em grande percentagem no óleo de soja, devido à presença de insaturações em suas cadeias carbonadas. Outro fator a considerar para justificar a maior capacidade de emulsificação de gorduras de cadeias maiores, e menores valores de EI nos alcanos de cadeia curta, é a área

interfacial, referida na Equação 3. Fases dispersas com cadeias maiores, apresentam uma maior área interfacial, o que facilita a adsorção das moléculas de surfactante e conseqüente diminuição da tensão interfacial entre as duas fases.

O aspeto final a considerar na avaliação destes sistemas é a possível influência do tamanho do álcool usado na formação dos agregados de Span na capacidade de emulsificar gorduras com diferentes graus de hidrofobicidade. A ligação do álcool ao grupo polar dos Span, provoca alterações no tamanho dos agregados (vesículas e emulsões) formados. Quanto maior o álcool, maior o tamanho dos agregados, uma vez que álcoois de cadeia maior têm maior capacidade de penetração na bicamada, formando interações mais fortes com as moléculas dos surfactantes.

Verificou-se, assim, que o valor de EI do Span 65 aumenta com o aumento de tamanho da cadeia do álcool usado na preparação de emulsão com hexano. No caso do decano, os Span 20, 60 e 65 apresentaram uma relação linear entre o álcool estabilizador dos seus agregados e a quantidade de alcano emulsificada. Em relação ao hexadecano, todos os Span apresentaram maior capacidade de emulsificação com o aumento do tamanho dos agregados formados. Outro aspeto a considerar, aquando da formação e estabilização de emulsões O/W de Span, é o tipo e tamanho de molécula usada para reduzir a lipofilicidade destes surfactantes, uma vez que álcoois de cadeia maior favorecem a formação de agregados maiores, resultando em mais espaço para compartimentação de gorduras no interior hidrofóbico destes.

### **4.7 Tensão Interfacial de sistemas de Span obtidos pelo método de injeção de álcool em fases dispersas para formação de emulsões O/W**

O estudo da tensão interfacial é o aspeto mais importante a ser considerado na avaliação de emulsões, uma vez que se enquadra no estudo de interfaces líquido-líquido (Schmitt *et al.* 2017).

A fim de corroborar os resultados obtidos relativamente à capacidade de formação de emulsões O/W em sistemas de Span obtidos pelo método de injeção de metanol, etanol e 2-propanol, foi medida a tensão superficial destes sistemas, tendo como fases dispersas: hexano, decano, hexadecano e óleo de soja.

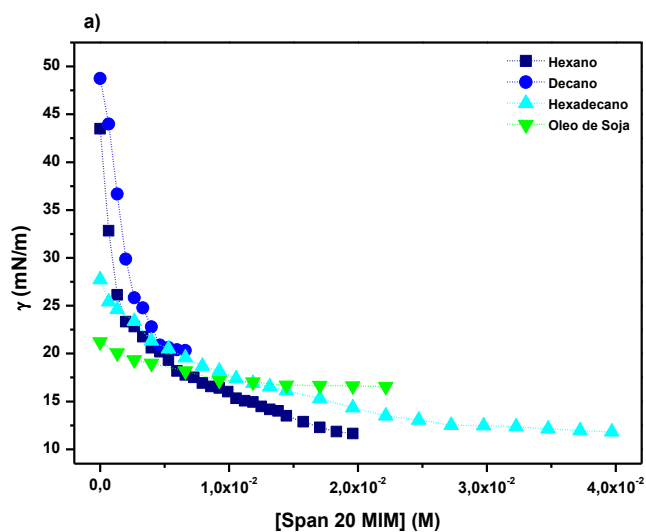
Estes resultados permitem um maior entendimento dos processos moleculares que ocorrem com os Span quando estes adquirem comportamento característico de surfactantes

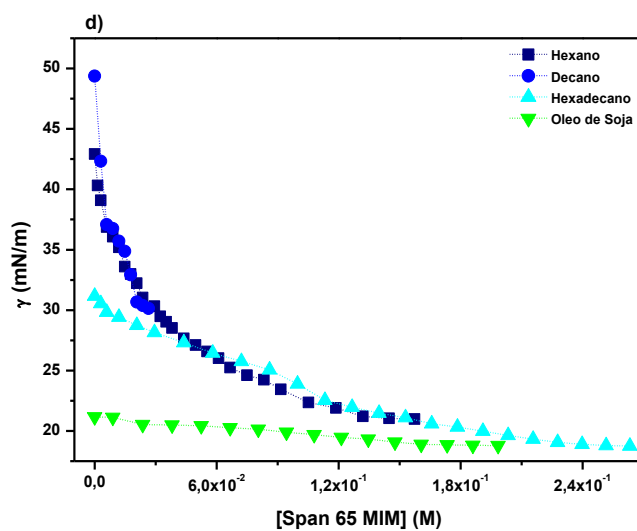
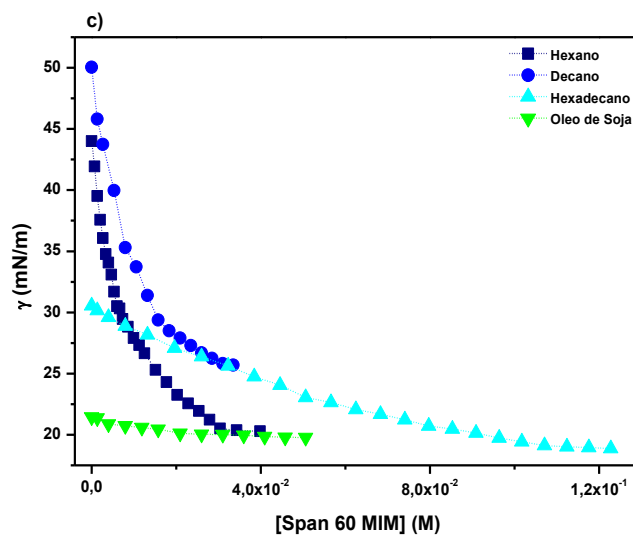
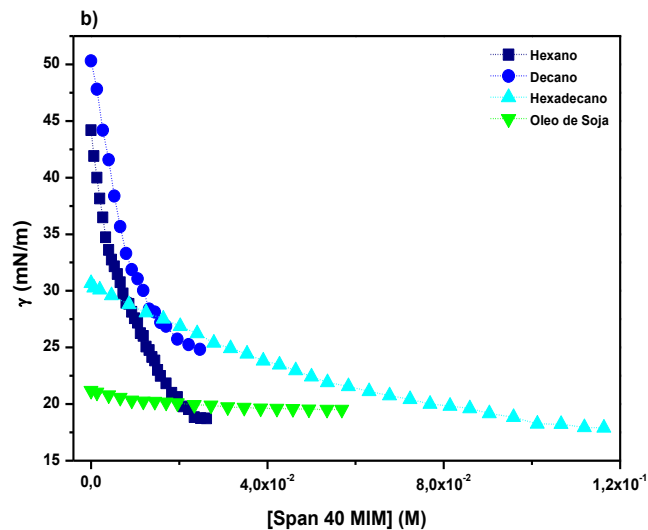
hidrofílicos, com base nas interações intermoleculares com o tipo de álcool usado no preparo de vesículas pelo método de injeção.

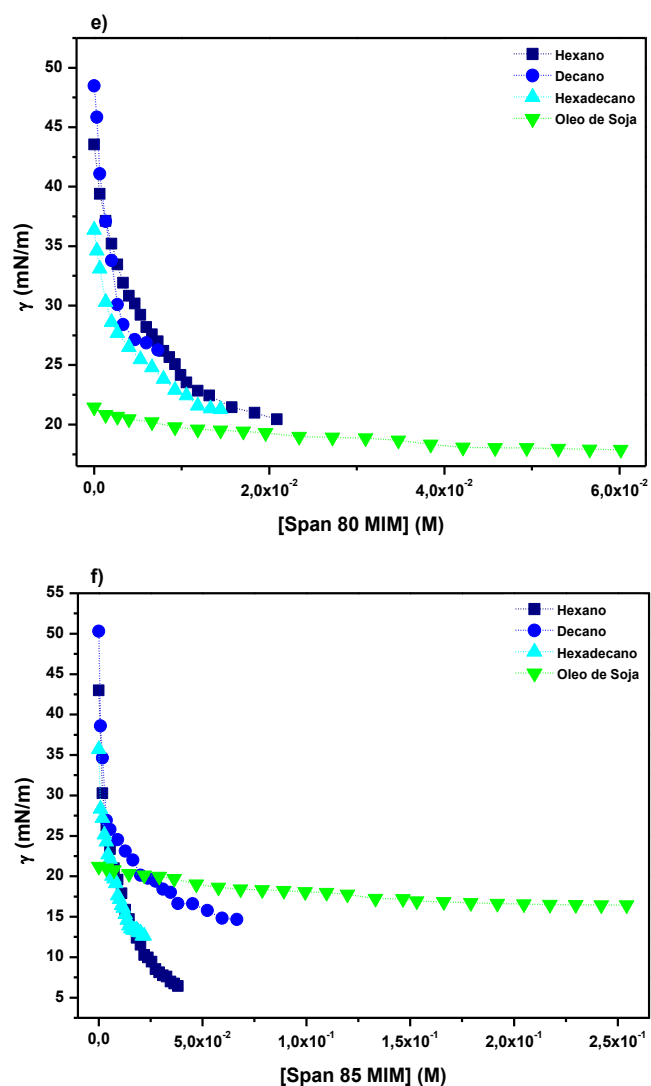
#### 4.7.1 Tensão interfacial dos sistemas de Span e metanol com as diferentes fases dispersas

Na Figura 62 são apresentados dados de tensão interfacial (TIF) obtida para os sistemas de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85 e metanol, com o hexano, decano, hexadecano e óleo de soja. Na Tabela 20 são apresentados os menores valores da tensão interfacial obtidos para cada um dos sistemas. As vesículas obtidas no processo foram preparadas por injeção metanólica.

**Figura 62.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) dos sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e metanol, com hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C.







**Tabela 20.** Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+metanol, obtidos por injeção metanólica, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.

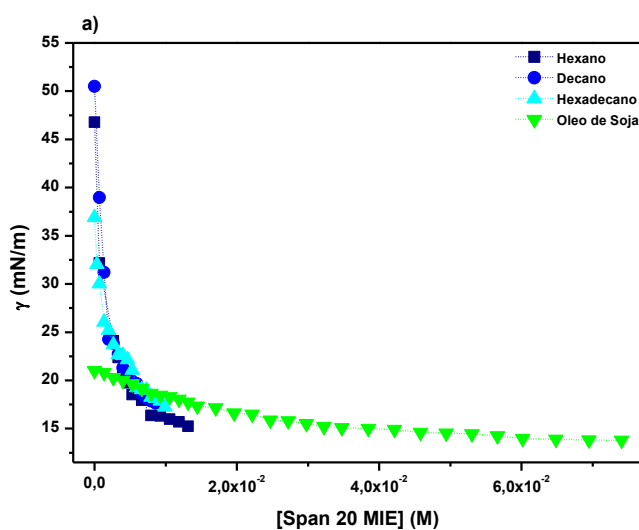
	TIF (mN/m)			
	Hexano	Decano	Hexadecano	Óleo de Soja
<b>Span 20</b>	11,65	20,31	11,81	16,56
<b>Span 40</b>	18,72	24,83	17,9	19,52
<b>Span 60</b>	20,29	25,7	18,88	19,78
<b>Span 65</b>	20,99	30,14	18,75	18,8
<b>Span 80</b>	20,44	26,27	21,28	17,9
<b>Span 85</b>	6,43	14,65	12,63	16,45

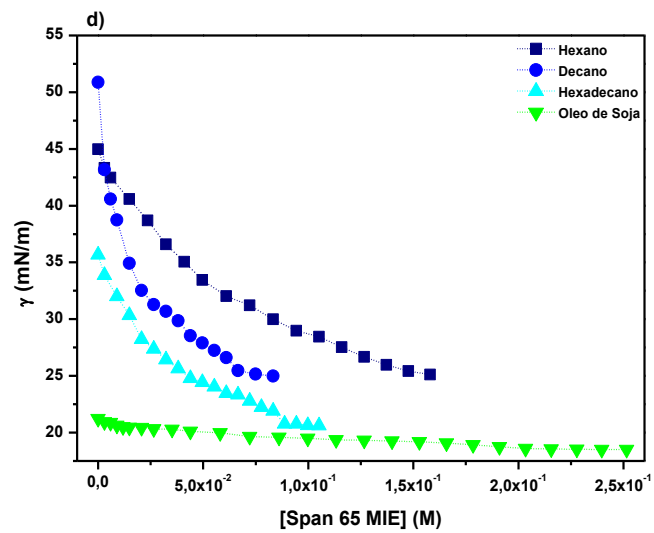
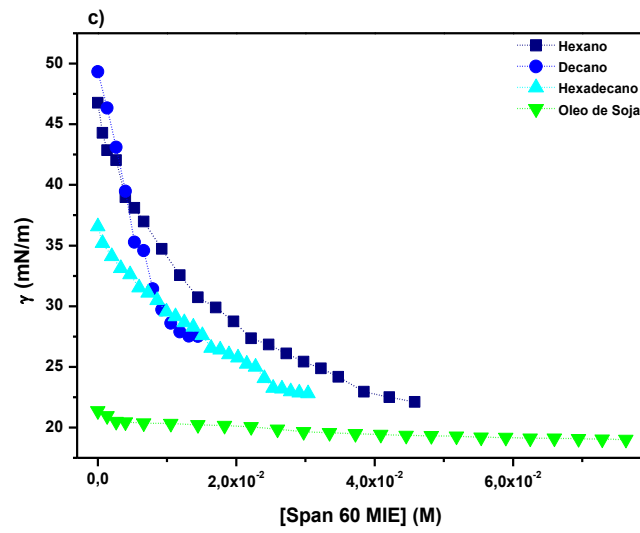
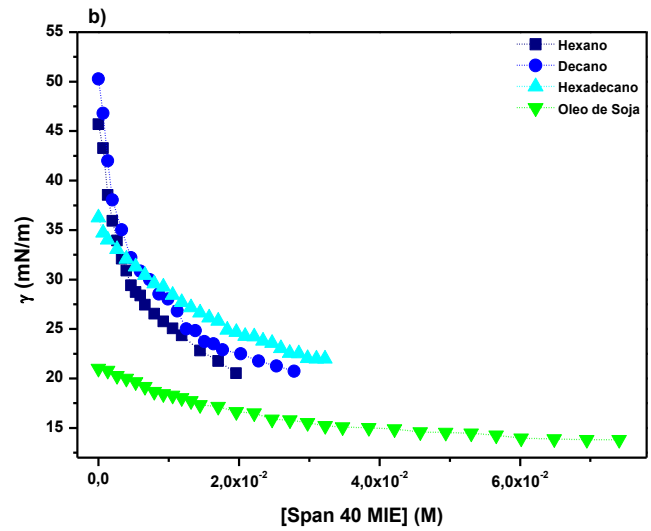
Através da análise dos gráficos da Figura 62 e dos valores mínimos da tensão interfacial obtidos (Tabela 20), verifica-se que, para todas as gorduras, os Span 20 e Span 85 apresentam melhor comportamento. Estes surfactantes capazes de reduzir o valor da tensão interfacial de todas as gorduras para valores ultra-baixos.

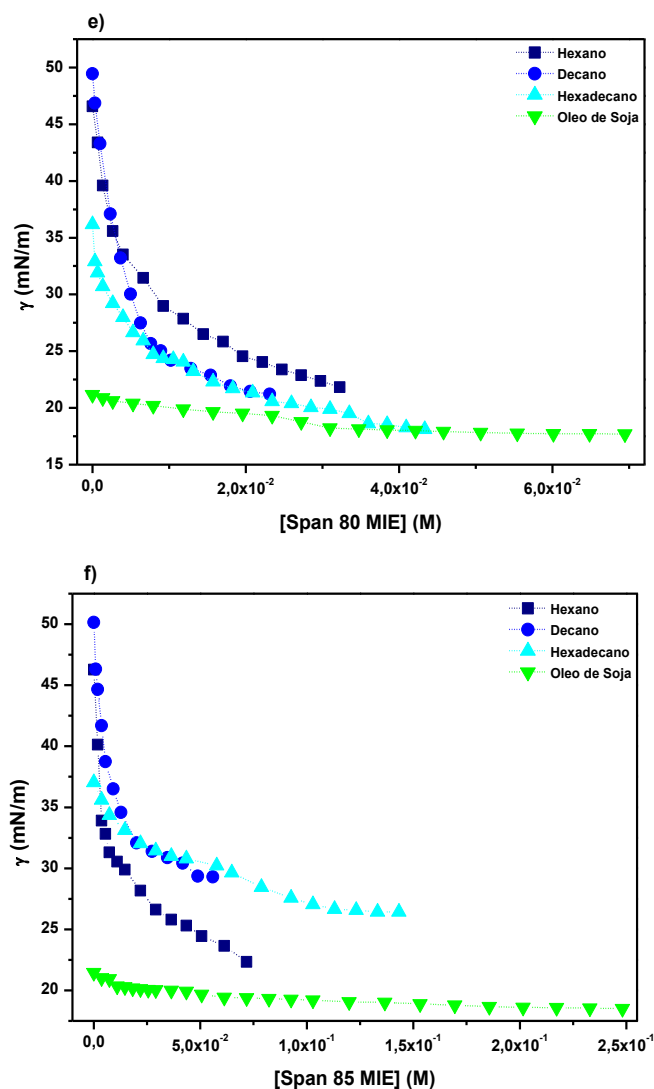
#### 4.7.2 Tensão interfacial dos sistemas de Span e etanol com as diferentes fases dispersas

Foram também determinados os valores da tensão interfacial dos sistemas de Span, etanol e as diferentes fases dispersas em estudo, sendo esses resultados apresentados na Figura 63 e Tabela 21.

**Figura 63.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) dos sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e etanol, com o hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C.







**Tabela 21.** Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+etanol, obtidos por injeção etanólica, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.

	TIF (mN/m)			
	Hexano	Decano	Hexadecano	Óleo de Soja
<b>Span 20</b>	15,25	17,64	17,24	13,80
<b>Span 40</b>	20,54	20,73	21,98	13,85
<b>Span 60</b>	22,10	27,51	22,80	19,01
<b>Span 65</b>	25,11	24,99	20,62	18,50
<b>Span 80</b>	21,82	21,22	18,12	17,70
<b>Span 85</b>	22,33	29,29	26,43	18,51

Com base nos dados acima verifica-se que os Span 20, 40 e 80 aparentam ser mais efetivos na diminuição da TIF entre a interface água-gordura. Estes resultados são concordantes



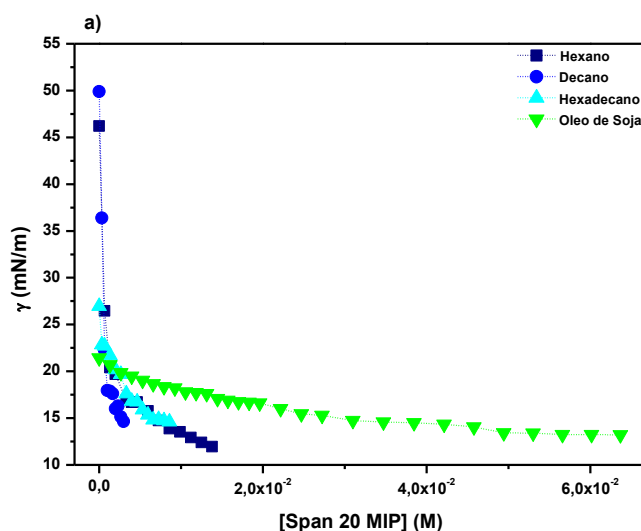
com os valores de HLB destes surfactantes obtidos com o etanol, uma vez que, dos Span estudados, são estes que apresentam os maiores valores, 8,36, 7,32 e 6,92, respetivamente.

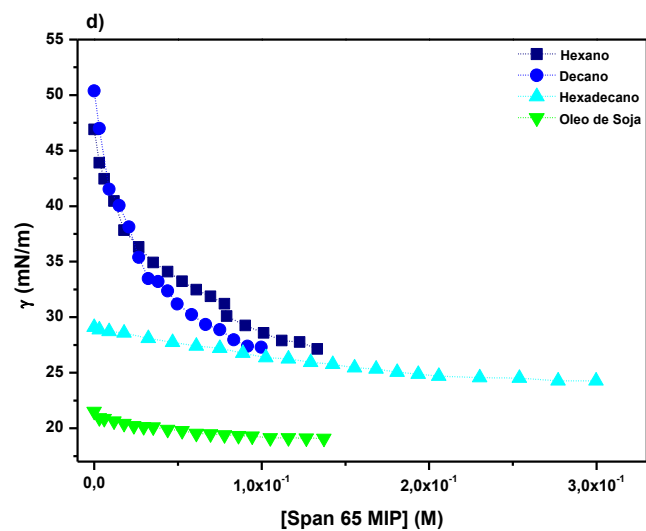
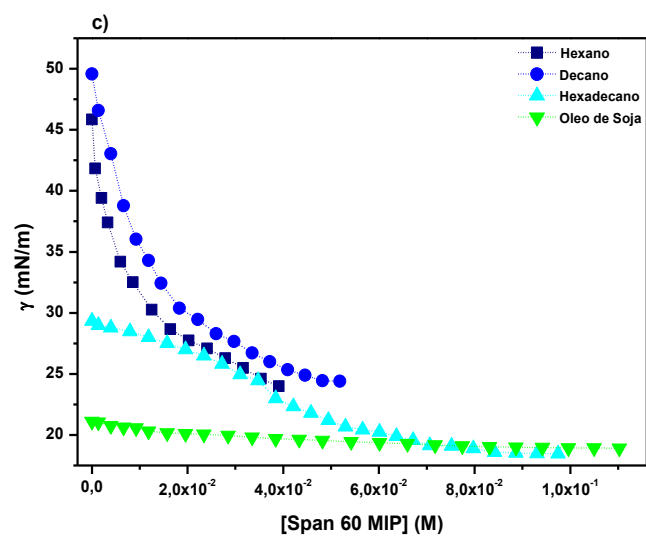
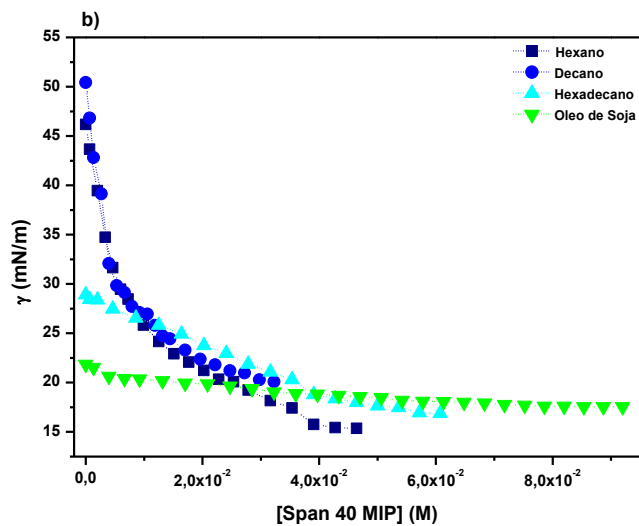
Verifica-se também que, à exceção da interface água-hexano, é possível observar uma relação inversamente proporcional entre os valores de TIF e o tamanho da fase dispersa. Ou seja, quanto maior a gordura emulsificada, mais eficaz os Span em reduzir a tensão interfacial entre estas e a água.

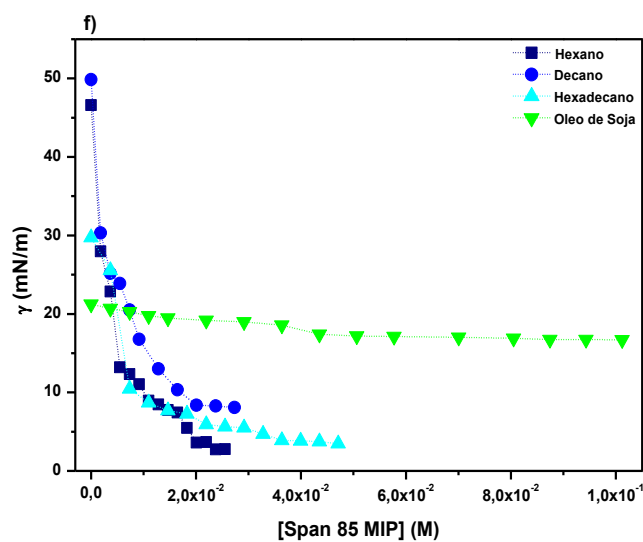
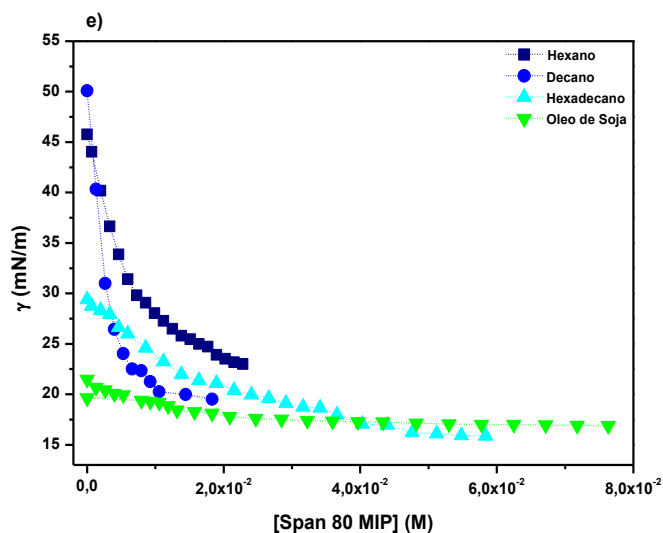
#### 4.7.3 Tensão interfacial dos sistemas de Span e 2-propanol com as diferentes fases dispersas

No conjunto de gráficos da Figura 64 e na Tabela são apresentados os valores da TIF das interfaces formadas pelos sistemas Span/2-propanol e as gorduras em estudo.

**Figura 64.** Tensão interfacial ( $\gamma$ ) obtidas para os sistemas a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, f) Span 85 e 2-propanol, com o hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, a 25 °C.







**Tabela 22.** Valores mínimos de TIF (mN/m) dos sistemas Span+2-propanol, obtidos por injeção de 2-propanol, para a interfaces água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.

	TIF (mN/m)			
	Hexano	Decano	Hexadecano	Óleo de Soja
Span 20	11,96	14,64	14,62	13,22
Span 40	15,36	20,09	16,87	17,54
Span 60	24,0	24,40	18,47	18,91
Span 65	27,15	27,30	24,28	19,10
Span 80	23,01	19,51	15,88	16,88
Span 85	2,76	8,09	3,46	16,71

Com base nos resultados apresentados na Figura 64 e Tabela 22 conclui-se que, em injeções com o 2-propanol no método de injeção, os Span 20, 80 e 85 mais efetivos em baixar a TIF entre água e gorduras.

Observa-se, novamente, a obtenção de valores menores de TIF nos sistemas em que os hidrocarbonetos são maiores.

### **-Discussão geral da tensão interfacial de sistemas Span/álcool com diferentes hidrocarbonetos**

As emulsões são constituídas por uma fase descontínua (ou gotículas), uma fase contínua (que rodeia as gotículas) e moléculas de surfactante posicionadas na interface das duas fases da emulsão. A localização na interface por parte dos surfactantes se deve à capacidade que estes apresentam de reduzir a tensão interfacial entre as duas fases, provocando uma diminuição da energia livre de formação e estabilizando, assim, a emulsão (Giustiniani *et al.* 2017, Sinzato *et al.* 2017).

Assim sendo, surfactantes que apresentem maior capacidade de diminuir a TIF entre as duas fases de uma emulsão, vão ser mais efetivos no processo de emulsificação, dando-lhe maior estabilidade (Peltonen e Yliruusi 2000).

Como seria esperado, e conforme apresentado nas Figuras 62-64 e nas Tabelas 20-22, os Span que atingiram menores valores de TIF com os hidrocarbonetos estudados, foram os Span 20, 40, 80 e 85. Apesar de ainda não ser possível compreender plenamente a influência da parte hidrofóbica do surfactante na diminuição de tensão interfacial, devido à quase infinita possibilidade de alterações estruturais, acredita-se que estes Span tenham apresentado o melhor desempenho devido ao tamanho ótimo de cadeia do Span 20, ao elevado valor de HLB do Span 40, e às insaturações presentes nas cadeias dos Span 80 e 85, que permitem a estes surfactantes um deslocamento mais rápido para a interface água-alcão, aumentando assim a eficiência na diminuição da TIF.

Observou-se também que os sistemas Span-álcool apresentam uma maior capacidade de diminuir o valor da TIF entre a água e os hidrocarbonetos maiores. Isto é explicado pelo aumento da área interfacial dos hidrocarbonetos maiores, facilitando o processo de adsorção por parte dos surfactantes e, conseqüentemente, permitindo a redução da TIF do sistema.

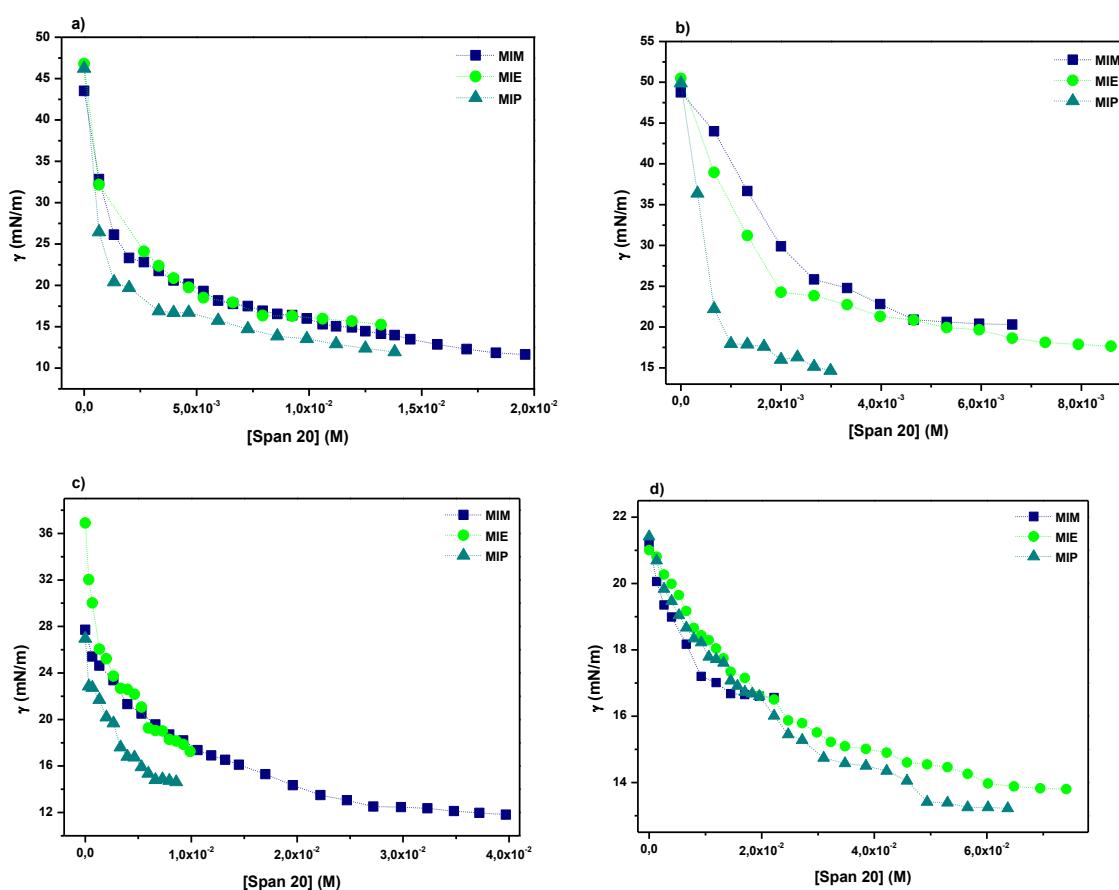
Outro fator importante a considerar no mecanismo de adsorção na interface e redução da TIF entre elas, diz respeito ao grupo hidrofílico das moléculas de surfactante. Como já foi dito anteriormente, a metade hidrofílica dos Span corresponde à molécula de sorbitano. No caso desta tese, em que os sistemas de Span foram obtidos pelo método de injeção de álcool, considera-se o

fato de as moléculas de metanol, etanol e 2-propanol interagirem com a molécula de sorbitano através de ligações de hidrogênio e dessa interação afetar a estrutura da parte hidrofílica e, conseqüentemente, afetar as propriedades que esse grupo confere à molécula de surfactante.

Em tentativa de racionalizar de que forma as interações entre o sorbitano dos Span e os álcoois usados na injeção influenciam a atividade interfacial dos Span, determinamos os valores da TIF dos sistemas Span/álcool para cada sistema obtido pelo método de injeção com os diferentes álcoois, em relação a cada hidrocarboneto testado.

Na Figura 65 são apresentados os resultados de TIF para o sistema de Span 20 obtido pelo método de injeção de metanol (MIM), etanol (MIE) e 2-propanol (MIP), para cada um dos hidrocarbonetos.

**Figura 65.** Tensão interfacial do sistema Span 20/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.

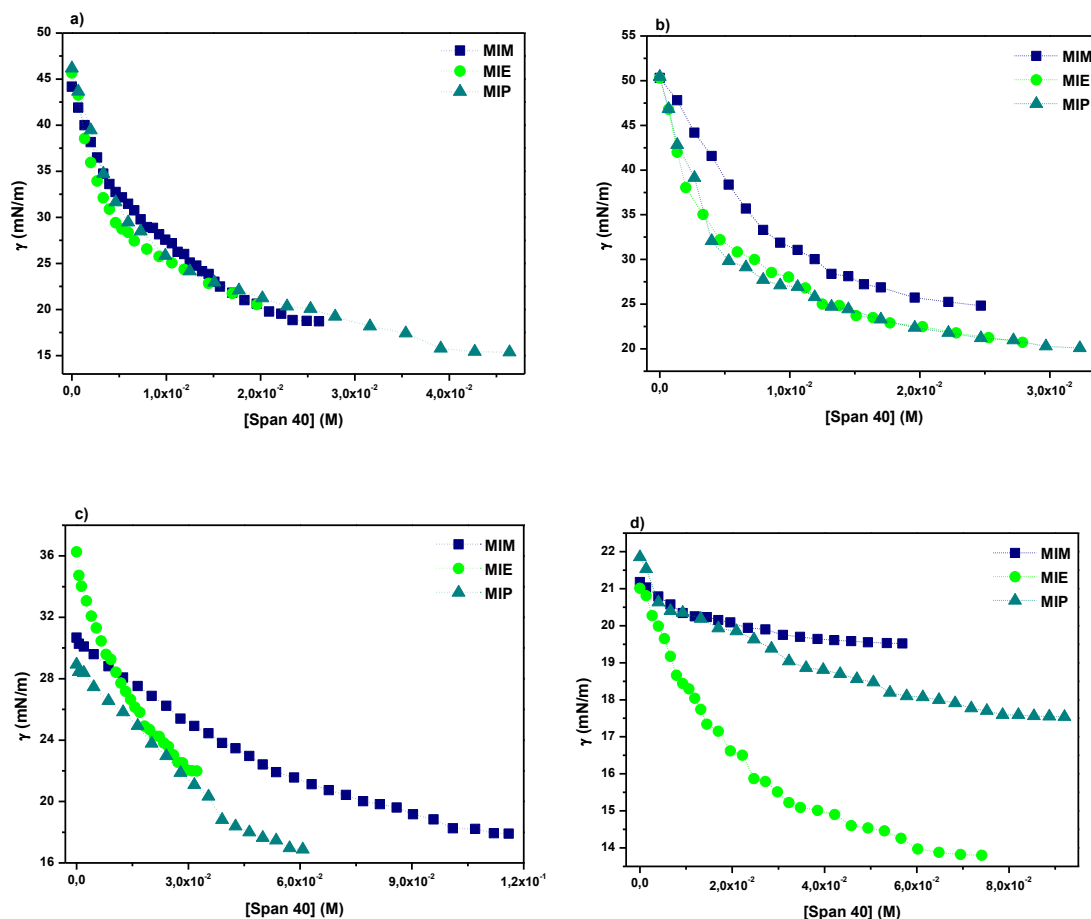


Ao analisar a Figura 65 verifica-se que o sistema de Span mais efetivo em baixar a tensão interfacial entre a água e os diferentes hidrocarbonetos foi o Span 20, obtido por injeção de 2-propanol.

Além disso, Span 20/2-propanol, é o sistema que utiliza menor quantidade de surfactante na redução da TIF.

Na Figura 66, é apresentada a mesma relação da Figura 65, mas com o Span 40/álcool.

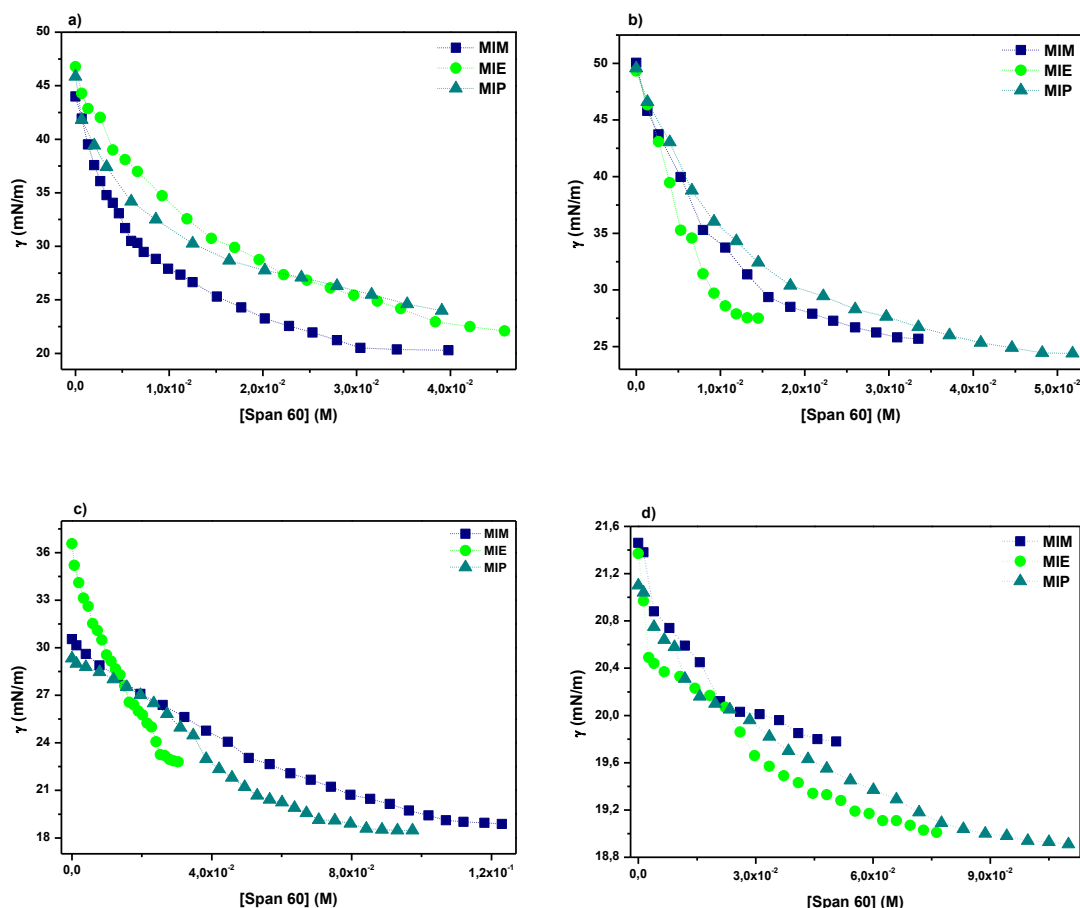
**Figura 66.** Tensão interfacial do sistema Span 40/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.



Aqui, mais uma vez se verifica a influência do álcool no processo de adsorção dos Span. À exceção do óleo de soja, em todos os outros hidrocarbonetos o sistema que melhor desempenhou a sua função a nível interfacial foi o Span 40 com 2-propanol, que foi o álcool de maior cadeia utilizado. Em relação ao fato do sistema Span 40/etanol ter sido o mais eficaz em reduzir a TIF da interface água-óleo de soja, este pode estar relacionado à constituição do próprio óleo, formado por uma grande variedade de ácidos graxos e a arquitetura molecular criada pela interação entre os grupos -OH do sorbitano com o etanol, mostrou ser a mais adequada para o processo de adsorção interfacial.

A relação dos valores de tensão interfacial entre o Span 60+álcool com as gorduras utilizadas neste estudo, está representada graficamente na Figura 67.

**Figura 67.** Tensão interfacial do sistema Span 60/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.

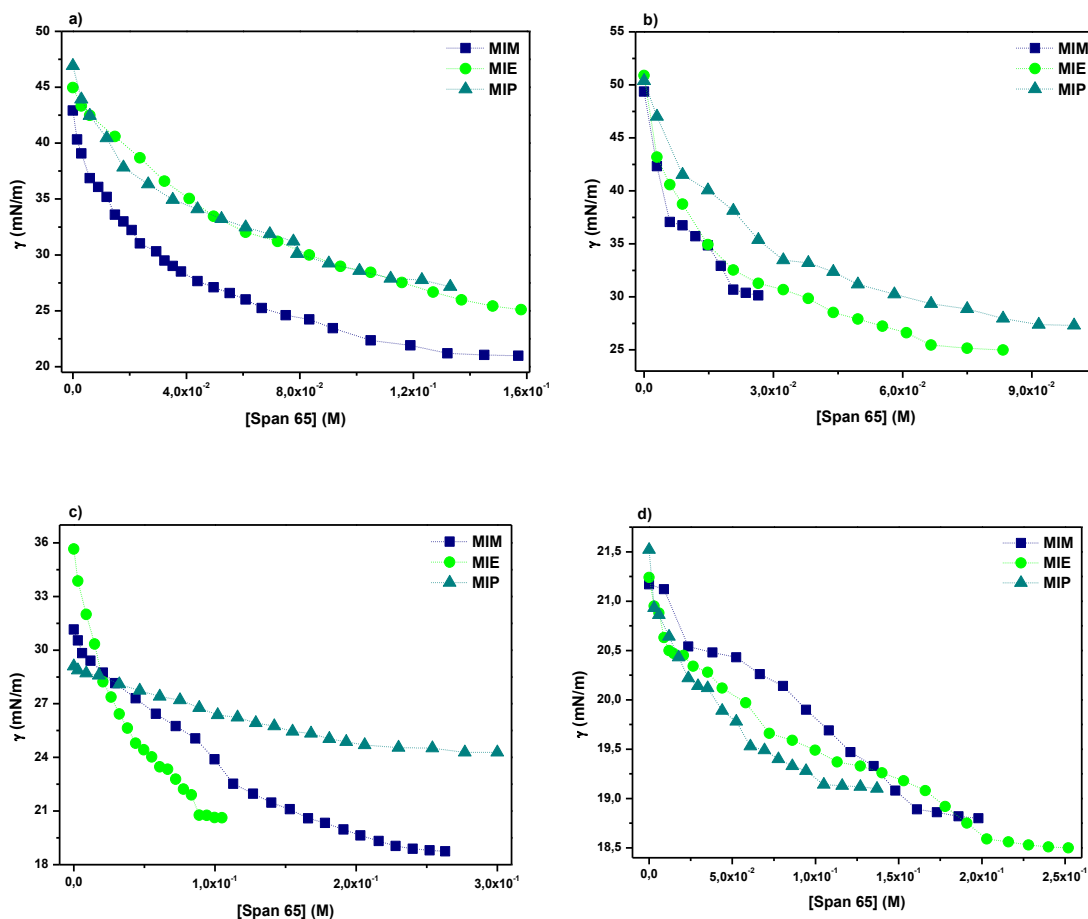


Com base na Figura 67, observa-se que, à exceção do hexano, para todos os demais hidrocarbonetos, o sistema que mais eficientemente adsorveu nas interfaces foi o de Span 60/2-propanol, que mostrou ser o mais eficiente em baixar os valores de TIF e utilizando menores concentrações do surfactante.

No caso do hexano, o sistema Span 60/metanol foi o que mais diminuiu a interface entre este e água, que pode estar relacionado ao tamanho dos agregados obtidos por injeção metanólica do Span 60, assim como com o fato do hexano ser o hidrocarboneto de menor cadeia estudado nesta tese. Comparado ao etanol e 2-propanol, o fato da interação metanol Span 60 estabelecer uma área molecular menor, faz com que este sistema tenha mais facilidade em se deslocar à interface, quando adicionado em água, e adsorver mais rapidamente. Torna-se, assim, mais eficiente em reduzir TIF de interfaces água/hidrocarbonetos pequenos.

Na Figura 68 encontra-se representada a relação tensão interfacial-álcool do método de injeção, para o Span 65 com todas as gorduras analisadas.

**Figura 68.** Tensão interfacial do sistema Span 65/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.



Contrariamente aos Span anteriormente apresentados, com os sistemas de Span 65 que apresentaram maior capacidade para reduzir a TIF de água-hidrocarbonetos, foram os obtidos com os álcoois de menor tamanho (metanol e etanol).

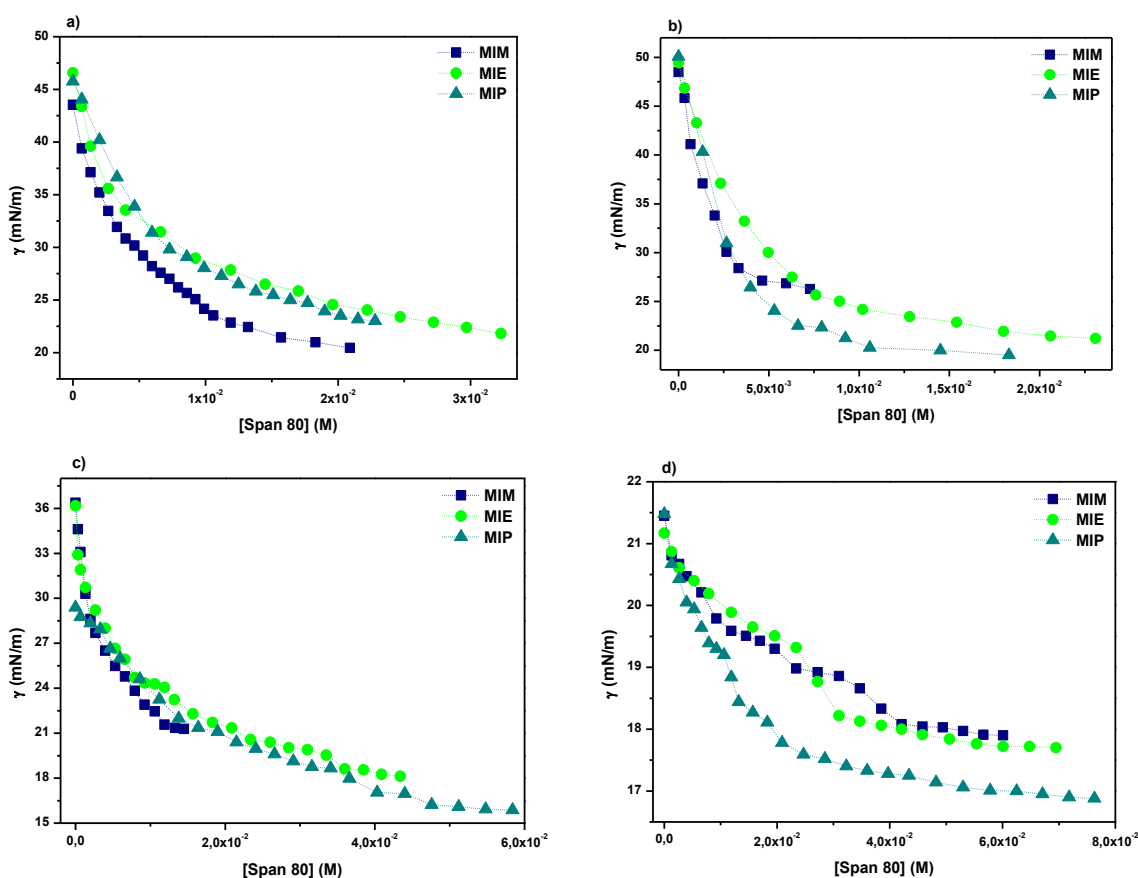
Isso pode ser explicado devido à estrutura molecular do Span 65, uma vez que é constituído por três caudas hidrofóbicas, ligadas à parte hidrofílica, de modo que apenas um grupo -OH do sorbitano esteja disponível para formar interação com as moléculas do álcool. Uma vez que metanol e etanol são os álcoois menores, utilizados no método de injeção, acredita-se que a interação destes com sorbitano é mais eficaz devido a questões de impedimento estérico, visto que neste surfactante o espaço em volta da molécula de sorbitano é reduzido devido à três cadeias hidrofóbicas à sua volta.



O fato das moléculas de álcool menores se ligarem mais eficientemente ao sorbitano, fez com que o deslocamento dos sistemas Span 65/metanol e Span 65/etanol fosse mais rápido para as interfaces e, conseqüentemente, a adsorção dessas moléculas.

Na Figura 69 são apresentados os resultados dos valores das tensão interfacial com os sistemas Span 80/álcool obtidos para a interface água-hexano, -decano, -hexadecano e -óleo de soja.

**Figura 69.** Tensão interfacial do sistema Span 80/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.



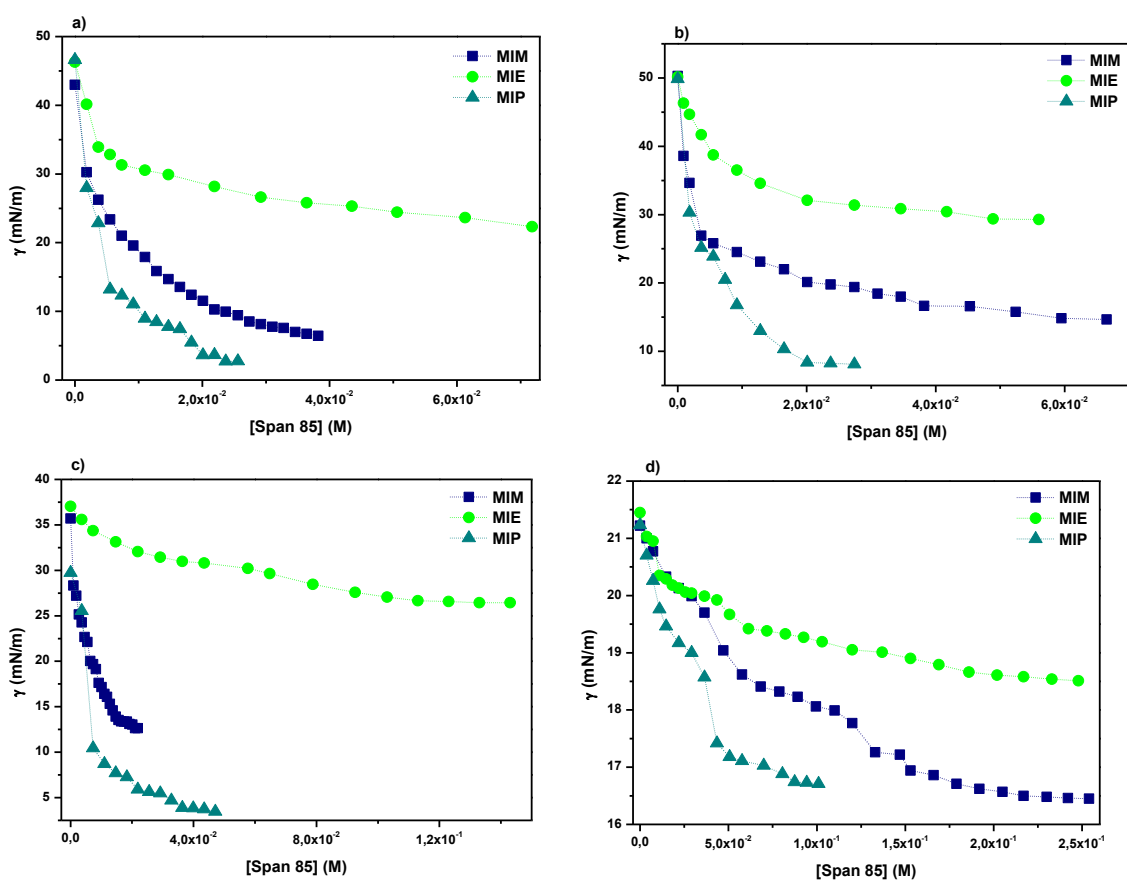
Através da análise da Figura 68, para o caso do Span 80/álcool, voltamos a observar a relação inversamente proporcional para os Span 20, 40 e 60: quanto maior o tamanho do álcool usado na formação de vesículas, mais eficaz é o sistema resultante em diminuir a TIF de diversas interfaces.

Para o Span 80, à semelhança do Span 60, que também é constituído por uma cadeia hidrofóbica  $C_{18}$ , observa-se que o sistema que reduziu mais a TIF na interface água-hexano, foi o obtido por injeção de metanol. Conclui-se, novamente, que os sistemas formados por surfactantes

de açúcares e álcoois de menor cadeia adsorvem mais rápida e eficientemente em hidrocarbonetos de cadeias pequenas.

Por fim, na Figura 70 são relacionados os valores obtidos para a TIF do último surfactante de açúcares em estudo, o Span 85, com os diferentes álcoois usados no método de injeção, para as interfaces criadas entre a água e os quatro hidrocarbonetos em avaliação.

**Figura 70.** Tensão interfacial do sistema Span 85/álcool obtido por MIM, MIE e MIP para a interface água e a) hexano, b) decano, c) hexadecano e d) óleo de soja, a 25 °C.



Mais uma vez, o sistema obtido com Span 85/2-propanol apresentou valores menores de TIF com todos os hidrocarbonetos. No caso do óleo de soja, embora o sistema Span 85/metanol tenha conseguido valores de TIF ligeiramente menores comparado ao Span 85/2-propanol, verifica-se que este último reduz TIF em valores de concentração muito abaixo do sistema Span 85/metanol.

A diferença entre os resultados dos Span 85 e 65, em que os sistemas constituídos pelos álcoois menores do que os mais eficientes em suas atividades interfacial, diz respeito à presença de uma insaturação em cada um dos grupos hidrofóbicos do Span 85. A presença dessa

insaturação reduz o ângulo da ligação em que se encontra e as cadeias hidrofóbicas contraem, diminuindo o efeito estéreo observado no Span 65, que dificultava a interação do álcool de cadeia maior.

### **- Discussão geral da influência do grupo hidrofílico do surfactante na tensão interfacial de um sistema**

O papel da estrutura do grupo hidrofílico de moléculas de surfactantes de açúcares na redução da tensão interfacial ainda não é completamente entendido.

O particionamento das moléculas de álcool na interface bicamada-água é responsável pelas as bicamadas obedecerem à regra de Traube que, conforme já referido anteriormente, corresponde ao fato da redução da TIF pela contribuição do álcool depender do comprimento da sua cadeia. Ou seja, para cada grupo  $-CH_2$  adicional na cadeia, o álcool se torna três vezes mais efetivo na redução da TIF.

Através do estudo de tensão interfacial dos sistemas utilizados neste trabalho, constituídos pelos surfactantes Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, juntamente com os álcoois metanol, etanol e 2-propanol (usados no método de injeção para a produção de vesículas de Span), é possível comprovar que estes obedecem também à regra de Traube.

O aumento da cadeia do álcool provoca um aumento da área por molécula do surfactante, que se torna mais efetivo em diminuir a TIF uma vez que tem maior capacidade de particionamento na interface água-bicamada, diminuindo assim a coesão mecânica desta.

Conclui-se, assim, que surfactantes que interagem com álcoois de cadeia maior, vão adquirir uma área apolar maior, se tornando mais efetivos na adsorção em interfaces, reduzindo com maior eficiência a TIF do sistema.

Este estudo, pioneiro em relação a surfactantes de açúcares, mostra-se de extrema importância dado que os Span são uma das classes de surfactantes de açúcares mais aplicadas em nível industrial, principalmente na indústria alimentícia e cosmética. Preparar, pela primeira vez, vesículas de Span pelo método de injeção de álcool, e usar essas dispersões para obter emulsões O/W (visto que estes surfactantes têm sido apenas utilizados na obtenção de emulsões W/O), analisar o poder de emulsificação destes sistemas e perceber todos os processos moleculares que determinam a atividade interfacial que possuem, abre caminho a novas possíveis aplicações destes surfactantes.

## 5. CONCLUSÃO

A descoberta de produtos e processos alternativos, mais sustentáveis às existentes deverá ser a força motriz para investigadores e empresas, para a sustentabilidade do nosso planeta.

O nível de industrialização elevado e as consequências que essas atividades acarretam para o meio ambiente, levam a que grupos de investigação do Mundo inteiro trabalhem diariamente para reduzir o impacto ambiental que determinadas indústrias provocam.

Sendo os surfactantes dos compostos mais utilizados no Mundo, a aplicação de surfactantes de açúcares nas mais variadas áreas da indústria, é cada vez mais uma necessidade.

Embora o número de estudos relacionados com estes surfactantes seja cada vez maior, há ainda lacunas quanto ao seu comportamento na presença de determinados sistemas, assim como ainda não é clara a relação arquitetura molecular-atividade destes compostos. Para além disso, os meios de síntese destes produtos são ainda complicados, e são ainda usados solventes orgânicos tóxicos nas rotas sintéticas da sua obtenção.

Este projeto foi elaborado com base nas questões contextualizadas acima, e nele foram sintetizadas novas moléculas de surfactantes de açúcares não-iônicos e aniônicos e estudados os aspetos mais relevantes desta classe de surfactantes, como forma de determinar possíveis aplicações industriais para os mesmos.

Foi escolhida uma das classes de surfactantes de açúcares mais utilizadas na indústria, principalmente na alimentar e farmacêutica, os ésteres de sorbitano (Span), e neles foi aplicado o método de injeção de álcool, um dos principais métodos para produzir vesículas.

Com a utilização de diferentes álcoois no método de injeção, e através de ensaios de TEM, DLS e RMN  $^1\text{H}$ , foi concluído que esses álcoois têm um papel fundamental na formação dos agregados destes surfactantes, uma vez que criam ligações de hidrogênio com os grupos -OH do sorbitano. Estas interações têm influência no tamanho das vesículas formadas: álcoois de maior tamanho de cadeia, auxiliam a formação de agregados de maior diâmetro. Com as dispersões de Span foram produzidas emulsões O/W com diferentes alcanos e óleo de soja e foi avaliada a sua capacidade de emulsificação. Álcoois de tamanho maior, usados no método de injeção, vão influenciar a capacidade de emulsificação desses surfactantes, uma vez que aumentam a sua capacidade de encapsular gorduras e estabilizar as emulsões formadas.

Apesar do elevado número de estudos com surfactantes de açúcares, a síntese e caracterização de novas moléculas desta classe continua a ser uma prioridade, dado elevado número de aplicações em que estes compostos são necessários.

Foram obtidos, através de síntese química, ésteres de açúcares com a glicose, galactose, com os ácidos graxos decanóico e dodecanóico, na forma de monoéster e puros. Paralelamente, foram também sintetizadas aminas de açúcares com a glicose e galactose, por reação com as alquilaminas decilamina e dodecilamina. As principais propriedades interfacial de todos os surfactantes de açúcares não-iônicos sintetizados foram determinadas e comparadas com um dos principais surfactantes não-iônicos comerciais, o óxido de laurilamina. Conclui-se que o caprilato e laurato de glicose, assim como o laurato de galactose apresentaram melhores propriedades que o surfactante comercial.

Os surfactantes à base de açúcares não-iônicos, sintetizados previamente, assim como os Span também estudados neste trabalho, foram submetidos a reações de sulfonação e de troca iônica, para adquirirem carga negativa. Os surfactantes resultantes dessas reações também foram caracterizados e os seus resultados foram comparados com os do lauriléter sulfato de sódio (SLE<sub>2</sub>S), o surfactante aniônico mais utilizado em formulações de produtos de higiene e limpeza.

O caprilato e laurato de glicose, assim como os Span 20, 80 e 85, todos na sua forma aniônica, apresentaram propriedades interfacial e de emulsificação superiores às apresentadas pelo SLE<sub>2</sub>S.

Através deste projeto conseguiu-se a produção de novas moléculas de surfactantes de açúcares que são, conseqüentemente, alternativas melhores do ponto de vista químico e sustentável aos principais surfactantes utilizados nas indústrias de produtos de limpeza, detergência e higiene.

Pretende-se que estas moléculas comecem a ser aplicadas, o mais rapidamente possível, nos ramos industriais referidos acima. Para tal, está previsto a realização de testes de *scaling-up* em breve.

---

## Referências

Acton, J. C. and R. L. Saffle (2008). "Stability of Oil-in-Water Emulsions. Effects of Oil Phase Volume, Stability Test, Viscosity, Type of Oil and Protein Additive." Journal of Food Science **36**(7): 1118-1120.

Ahmad, M. U. (2017). Fatty acids : chemistry, synthesis, and applications. United States, Elsevier.

Ahmad, M. U. and X. Xu (2015). Polar lipids : biology, chemistry, technology. Illinois, Academic Press e AOCS Press.

Azim, A. A. A. A., *et al.* (2010). "Sugar-based ethoxylated amine surfactants as demulsifiers for crude oil emulsions: 2-Demulsification of different types of crudes." Brazilian Journal of Petroleum and Gas **4**(4): 155-165.

Baek, S., *et al.* (2016). "Equilibria of cyclopentane hydrates with varying HLB numbers of sorbitan monoesters in water-in-oil emulsions." Fluid Phase Equilibria **413**: 41-47.

Bazin, H. G., *et al.* (1998). "Synthesis of sucrose-based surfactants through regioselective sulfonation of acylsucrose and the nucleophilic opening of a sucrose cyclic sulfate." Carbohydrate Research **309**(2): 189-205.

Bazito, R. C. and O. A. El Seoud (2002). "Sugar-Based Surfactants: Adsorption and Micelle Formation of Sodium Methyl 2-Acylamido-2-deoxy-6-sulfo-d-glucopyranosides." Langmuir **18**(11): 4362-4366.

Bhattacharya, S. and S. N. G. Acharya (1999). "Pronounced Hydrogel Formation by the Self-Assembled Aggregates of N-Alkyl Disaccharide Amphiphiles." Chemistry of Materials **11**(12): 3504-3511.

Biresaw, G. and K. Mittal (2013). Surfactants in Tribology, CRC Press.

Biswas, A. K. and B. K. Mukherji (1960). "Studies on micellar growth in surfactant solutions, with and without additives." The Journal of Physical Chemistry **64**(1): 1-4.

---

Dalton, L. A. and K. W. Miller (1993). "Trans-unsaturated lipid dynamics: modulation of dielaidoylphosphatidylcholine acyl chain motion by ethanol." Biophysical Journal **65**(4): 1620-1631.

Dhruv, H. D., *et al.* (2005). "Role of Lactose in Modifying Gel Transition Temperature and Morphology of Self-assembled Hydrogels." Chemistry of Materials **17**(25): 6239-6245.

Ducret, A. I., *et al.* (1995). "Enzymatic preparation of biosurfactants from sugars or sugar alcohols and fatty acids in organic media under reduced pressure." Biotechnology and Bioengineering **48**(3): 214-221.

Eastoe, J., *et al.* (2000). "Adsorption of Ionic Surfactants at the Air–Solution Interface." Langmuir **16**(10): 4511-4518.

Farrán, A., *et al.* (2015). "Granden Solvents in Carbohydrate Chemistry: From Raw Materials to Fine Chemicals." Chemical Reviews **115**(14): 6811-6853.

Garofalakis, G., *et al.* (2000). "Surface Activity and Critical Aggregation Concentration of Pure Sugar Esters with Different Sugar Headgroups." Journal of Colloid and Interface Science **229**(2): 391-398.

Gennis, R. B. (1989). Biomembranes: molecular structure and function, Springer-Verlag, New York.

Giustiniani, A., *et al.* (2017). "Interfacial tension of reactive, liquid interfaces and its consequences." Advances in Colloid and Interface Science **247**: 185-197.

Gumel, A. M., *et al.* (2011). "Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters." Process Biochemistry **46**(11): 2079-2090.

Hamada, N. and Y. Einaga (2005). "Effects of Hydrophobic Chain Length on the Characteristics of the Micelles of Octaoxyethylene Tetradecyl C14E8, Hexadecyl C16E8, e Octadecyl C18E8 Ethers." The Journal of Physical Chemistry B **109**(15): 6990-6998.

Holmberg, K. (2001). "Natural surfactants." Current Opinion in Colloid & Interface Science **6**(2): 148-159.

Holmberg, K. (2002). Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry Vol.1, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex.

Holmberg, K., *et al.* (2002). Polymers in Solution, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.

- 
- Huang, J. B., *et al.* (1997). "Vesicle Formation of a 1:1 Catanionic Surfactant Mixture in Ethanol Solution." Langmuir **13**(21): 5759-5761.
- Ingólfsson, H. I. and O. S. Eersen (2011). "Alcohol's effects on lipid bilayer properties." Biophysical Journal **101**(4): 847-855.
- Karaborni, S., *et al.* (2006). Emulsions and Emulsion Stability. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida.
- Kato, K., *et al.* (2008). "Temperature-sensitive nonionic vesicles prepared from Span 80 (sorbitan monooleate)." Langmuir **24**(19): 10762–10770.
- Khadydja, D., *et al.* (2016). "Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century." International Journal of Molecular Sciences **17**(3): 401.
- Kim, H., *et al.* (2017). "Formation of stable adhesive water-in-oil emulsions using a phospholipid and cosurfactants." Journal of Industrial and Engineering Chemistry **55**: 198-203.
- Koóš, M. (2013). Carbohydrate Surfactants. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Kremer, J. M. H., *et al.* (1977). "Vesicles of variable diameter prepared by a modified injection method." Biochemistry **16**(17): 3932-3935.
- Kuiper, J. M., *et al.* (2001). "Novel Pyridinium Surfactants with Unsaturated Alkyl Chains: Aggregation Behavior and Interactions with Methyl Orange in Aquandous Solution." Langmuir **17**(17): 5216-5224.
- Kumar, G. P. and P. Rajeshwarrao (2011). "Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery—an overview." Acta Pharmaceutica Sinica B **1**(4): 208-219.
- Lasic, D. D. (1993). Liposomes : from physics to applications. Elsevier, Amsterdam.
- Lavergne, A., *et al.* (2011). "Synthesis and foaming properties of new anionic surfactants based on a renewable building block: Sodium dodecyl isosorbide sulfates." Journal of Colloid and Interface Science **360**(2): 645-653.
- Lee, S. M., *et al.* (2016). "Synthesis of environment friendly nonionic surfactants from sugar base and characterization of interfacial properties for detergent application." Journal of Industrial and Engineering Chemistry **38**: 157-166.
-



---

Lenin, R. and P. A. Joy (2017). "Studies on the role of unsaturation in the fatty acid surfactant molecule on the thermal conductivity of magnetite nanofluids." Journal of Colloid and Interface Science **506**: 162-168.

Li, Y., *et al.* (2014). "Micellization of glucose-based surfactants with different counterions and their interaction with DNA." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **443**: 224-232.

Lu, B., *et al.* (2016). "Physico-chemical properties and cytotoxic effects of sugar-based surfactants: Impact of structural variations." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **145**: 79-86.

Lu, B., *et al.* (2016). "Physico-chemical properties and cytotoxic effects of sugar-based surfactants: impact of structural variations." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **145**: 79-86.

Lv, G., *et al.* (2014). "Characterization of the addition of lipophilic Span 80 to the hydrophilic Tween 80-stabilized emulsions." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **447**: 8-13.

Mańko, D. and A. Zdziennicka (2015). "Sugar-based surfactants as alternative to synthetic ones." Annales UMCS, Chemia **70**(1): 161-168.

Marszall, L. (1978). "Relationship among Emulsion Type, Emulsion Stability and the Presence of Additives." European Journal of Lipid Science and Technology **80**(7): 289-293.

Menger, F. M., *et al.* (1997). "Cationic Surfactants with Counterions of Glucuronate Glycosides." Langmuir **13**(12): 3247-3250.

Misiak, P., *et al.* (2013). "New gluconamide-type cationic surfactants: Interactions with DNA and lipid membranes." Biophysical Chemistry **180-181**: 44-54.

Mittal, K. L. and D. O. Shah (2002). Adsorption and Aggregation of Surfactants in Solution, Taylor & Francis, Boca Raton.

Mitts, E. and R. M. Hixon (1944). "The Reaction of Glucose with Some Amines." Journal of the American Chemical Society **66**(3): 483-486.

Mulligan, C. N. (2005). "Environmental applications for biosurfactants." Environmental Pollution **133**(2): 183-198.

---

O'Rear, E. A. (2015). "Review of An Introduction to Surfactants." Journal of Chemical Education **92**(11): 1779-1780.

Osipow, L., *et al.* (1956). "Methods of Preparation Fatty Acid Esters of Sucrose." Industrial & Engineering Chemistry **48**(9): 1459-1462.

Oskarsson, H., *et al.* (2007). "Adsorption of Novel Alkylaminoamide Sugar Surfactants at Tailor-made Surfaces." Journal of Surfactants and Detergents **10**(1): 41-52.

Park, Y., *et al.* (2010). "Colloidal dispersion stability of unilamellar DPPC vesicles in aqueous electrolyte solutions and comparisons to predictions of the DLVO theory." Journal of Colloid and Interface Science **342**(2): 300-310.

Patra, M., *et al.* (2006). "Under the Influence of Alcohol: The Effect of Ethanol and Methanol on Lipid Bilayers." Biophysical Journal **90**(4): 1121-1135.

Peltonen, L. J. and J. Yliruusi (2000). "Surface Pressure, Hysteresis, Interfacial Tension, and CMC of Four Sorbitan Monoesters at Water–Air, Water–Hexane, and Hexane–Air Interfaces." Journal of Colloid and Interface Science **227**(1): 1-6.

Phapal, S. M. and P. Sunthar (2013). "Influence of micro-mixing on the size of liposomes self-assembled from miscible liquid phases." Chemistry and Physics of Lipids **172-173**: 20-30.

Piispanen, P. S. (2002). *Synthesis and Characterization of Surfactants Based on Natural Products*. Kungl Tekniska Högskolan, Stockholm.

Piispanen, P. S., *et al.* (2004). "Surface properties of surfactants derived from natural products. Part 1: Syntheses and structure/property relationships—Solubility and emulsification." Journal of Surfactants and Detergents **7**(2): 147-159.

Piñeiro, Á., *et al.* (2004). "The standard Gibbs energy of adsorption from the bulk at the surface of liquid mixtures: reinterpretation of Traube's rule: Analysis of the  $\Delta_{ads}G^0$  contributions under the Extended Langmuir model." Fluid Phase Equilibria **225**: 115-123.

Plat, T. and R. J. Linhardt (2001). "Syntheses and applications of sucrose-based esters." Journal of Surfactants and Detergents **4**(4): 415-421.

Pu, W., *et al.* (2017). "Laboratory Study on the Oil Displacement Properties of Sugar Amine Sulfonate Surfactant." Journal of Surfactants and Detergents **20**(5): 1037-1049.

- 
- Razafindralambo, H., *et al.* (2012). *Carbohydrate-Based Surfactants: Structure-Activity Relationships*, InTech, Rijeka.
- Roberts, G. and E. B. S. Association (2012). *Encyclopedia of Biophysics*, Springer, London.
- Robyt, J. F. (1998). *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. Springer, New York.
- Rosen, M. J. and J. T. Kunjappu (2012). *Surfactants and interfacial phenomena*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Ruiz, C. b. C. (2009). *Sugar-based surfactants : fundamentals and applications*, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton.
- Salman, A. A., *et al.* (2015). "Alkyl-imidazolium glycosides: non-ionic—cationic hybrid surfactants from renewable resources." *Carbohydrate Research* **412**: 28-33.
- Schmitt, M., *et al.* (2017). "Effect of SPAN80 on the structure of emulsified aquandous suspensions." *Colloids e Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **521**: 121-132.
- Sinzato, Y. Z., *et al.* (2017). "An experimental investigation of the interfacial tension between liquid-liquid mixtures in the presence of surfactants." *Experimental Thermal and Fluid Science* **85**: 370-378.
- Soultani, S., *et al.* (2003). "Comparative study of some surface active properties of fructose esters and commercial sucrose esters." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **227**(1-3): 35-44.
- Soussan, E., *et al.* (2008). "Sugar-Derived Tricatenar Catanionic Surfactant: Synthesis, Self-Assembly Properties, and Hydrophilic Probe Encapsulation by Vesicles." *Langmuir* **24**(6): 2326-2330.
- Stubenrauch, C. (2001). "Sugar surfactants — aggregation, interfacial, and adsorption phenomena." *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **6**(2): 160-170.
- Szűts, A., *et al.* (2007). "Study of thermal behaviour of sugar esters." *International Journal of Pharmaceutics* **336**(2): 199-207.
- Tai, H. P. and G. Brunner (2009). "Sugar fatty acid ester synthesis in high-pressure acetone–CO<sub>2</sub> system." *The Journal of Supercritical Fluids* **48**(1): 36-40.
-

- 
- Takamura, A., *et al.* (1979). "Effects of tween and span group emulsifiers on the stability of o/w emulsions." Chemical & Pharmaceutical Bulletin **27**(12): 2921-2926.
- Tamanna, N. and N. Mahmood (2015). "Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition." International Journal of Food Science **2015**: 526762.
- Tian, F.-F., *et al.* (2011). "Determination of emulsion explosives with Span-80 as emulsifier by gas chromatography–mass spectrometry." Journal of Chromatography A **1218**(22): 3521-3528.
- van den Broek, L. A. M. and C. G. Boeriu (2013). "Enzymatic synthesis of oligo- and polysaccharide fatty acid esters." Carbohydrate Polymers **93**(1): 65-72.
- van Kempen, S. E. H. J., *et al.* (2013). "Novel surface-active oligofructose fatty acid mono-esters by enzymatic esterification." Food Chemistry **138**(2-3): 1884-1891.
- Vlahov, I., *et al.* (1997). "Regioselective Synthesis of Sucrose Monoesters as Surfactants." Journal of Carbohydrate Chemistry **16**(1): 1-10.
- Yamashita, Y., *et al.* (2017). *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications* 1st Edition. Elsevier, Amsterdam.
- Yin, B., *et al.* (2014). "Glucose esters as biobased PVC plasticizers." European Polymer Journal **58**: 34-40.
- Zhang, Q., *et al.* (2009). "A Perspective on the Maillard Reaction and the Analysis of Protein Glycation by Mass Spectrometry: Probing the Pathogenesis of Chronic Disease." Journal of proteome research **8**(2): 754-769.
- Zhi, L., *et al.* (2013). "Synthesis, adsorption and aggregation properties of new saccharide-cationic surfactants." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **436**: 684-692.
-

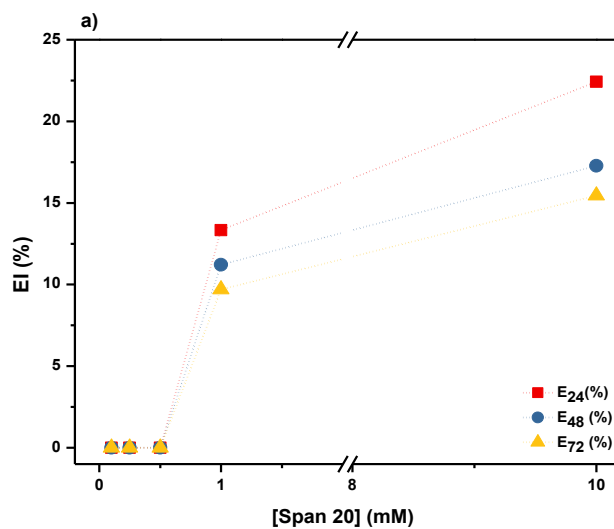
# ANEXOS

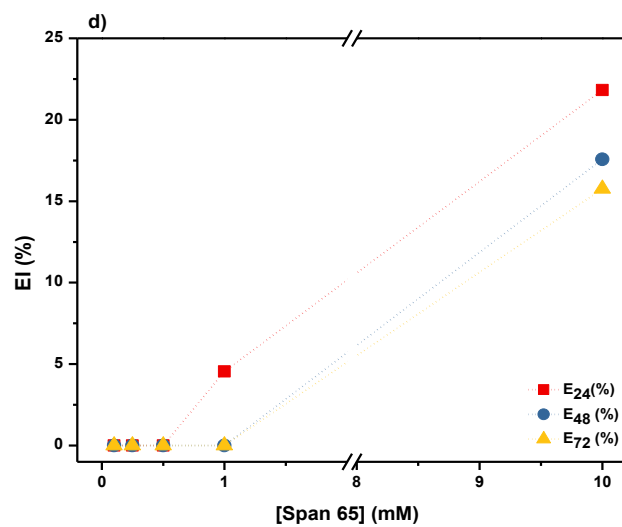
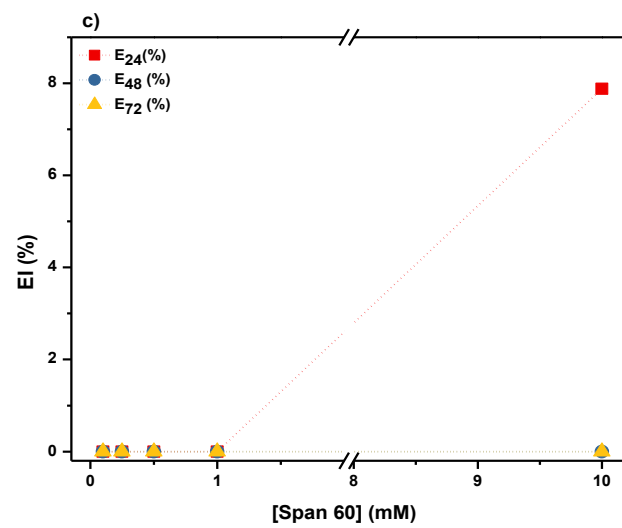
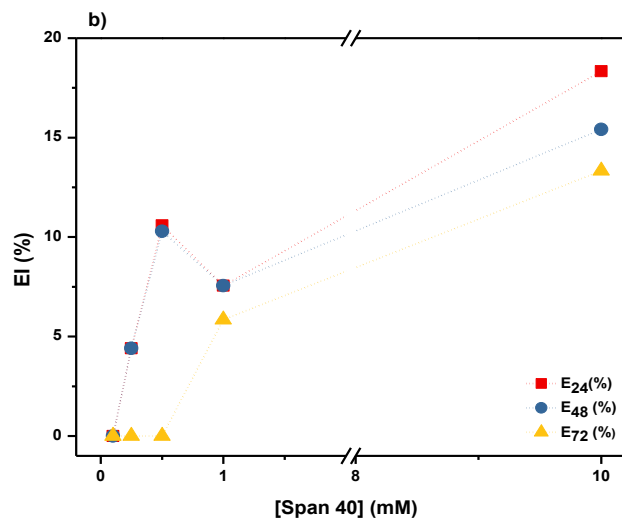
## A.1 Dispersões de Span obtidas pelo Método de Injeção de Etanol

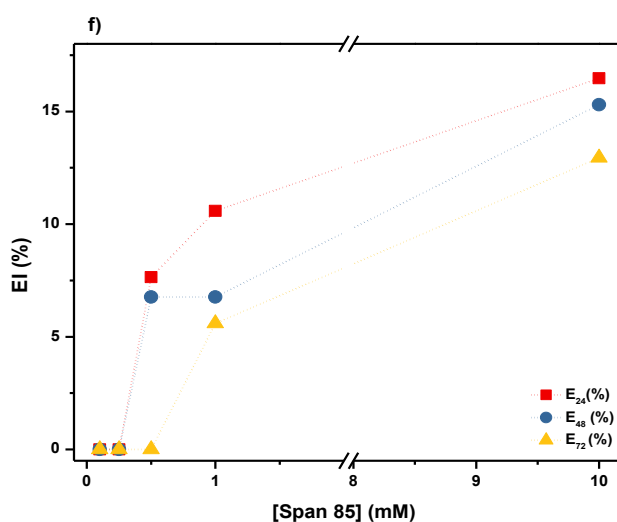
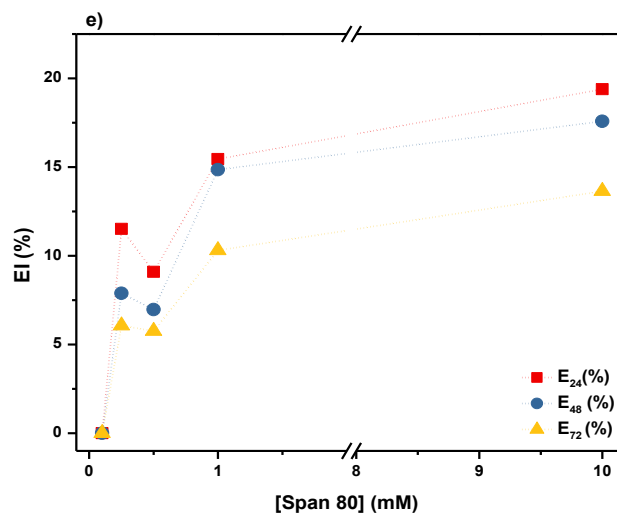
### A.1.1 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexano

Nesta Seção é apresentada a relação entre valores de EI e a concentração de Span em sistemas formados por injeção etanólica, ao longo de 72 h, em hexano (Figura A.1.1).

**Figura A.1.1.** Efeito da concentração de Span em sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção de etanólica, em hexano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.





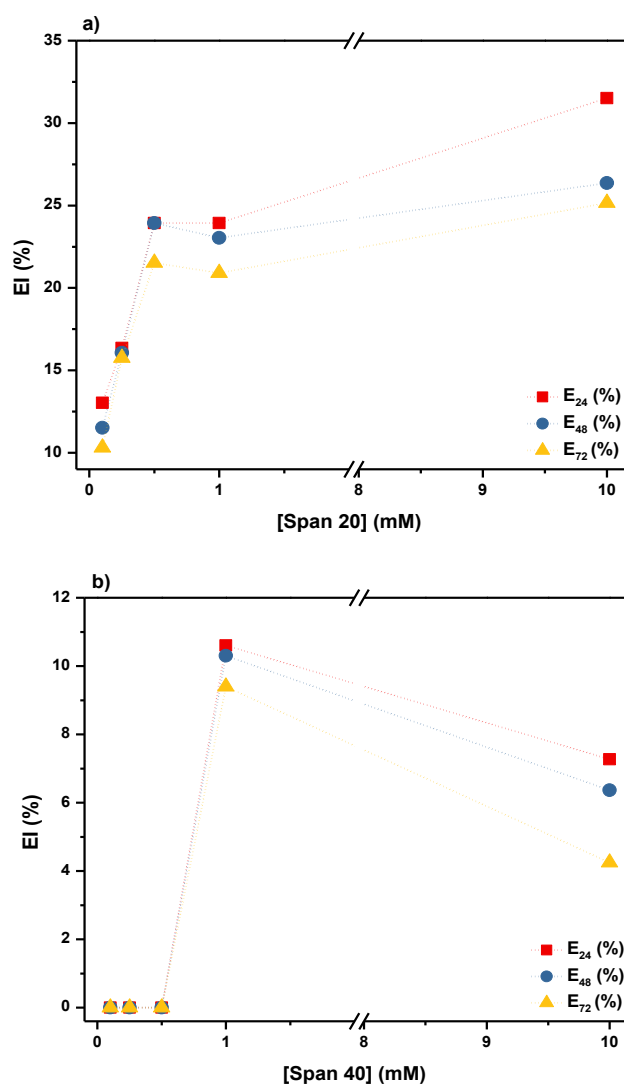


De acordo com a Figura acima, os Span 20 e 65 apresentaram maior capacidade de emulsificação do hexano. Já o Span 60 apresentou menor capacidade de emulsificação, com os valores menores de IE e com capacidade de estabilização da emulsão de apenas 24 h. Esta baixa capacidade de emulsificação do hexano é explicada, mais uma vez, pela presença de pequenos precipitados em ambas as soluções. Todos os surfactantes, à exceção dos Span 60 e 65, apresentaram a mesma capacidade de estabilização da emulsão, apresentando variações relativamente similares nos valores de EI nos diferentes tempos de análise.

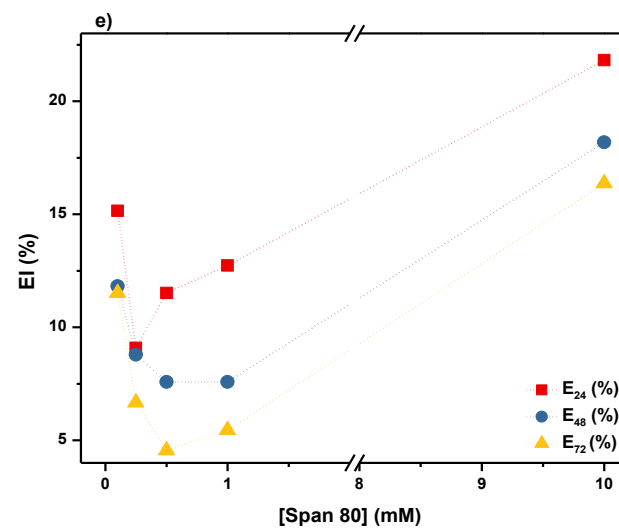
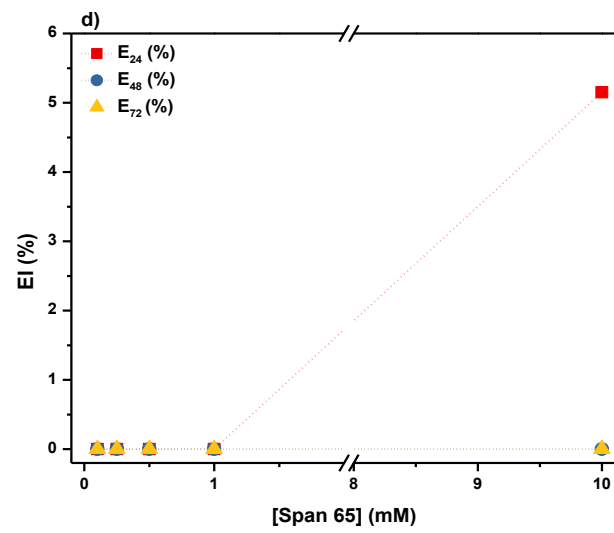
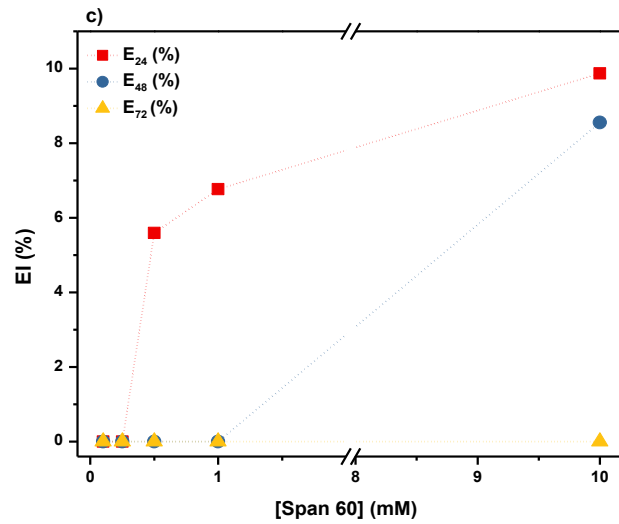
### A.1.2 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em decano

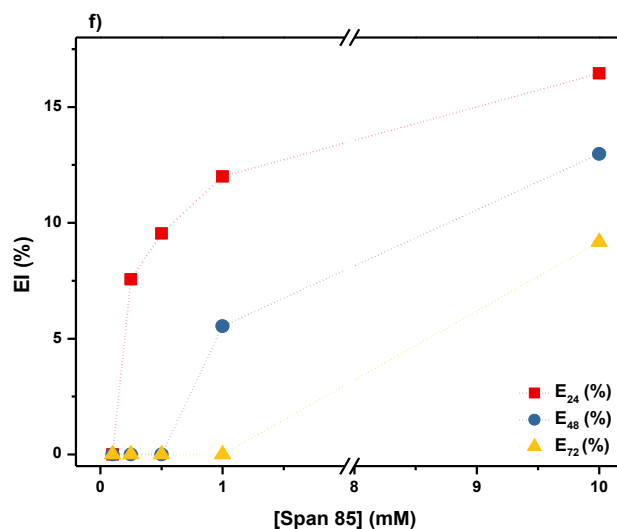
Na Figura A.1.2 estão representados os valores de EI para as emulsões com decano como fase dispersa, e as soluções de Span como fases aquosas, em função das concentrações das mesmas.

**Figura A.1.2.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção etanólica, em decano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.







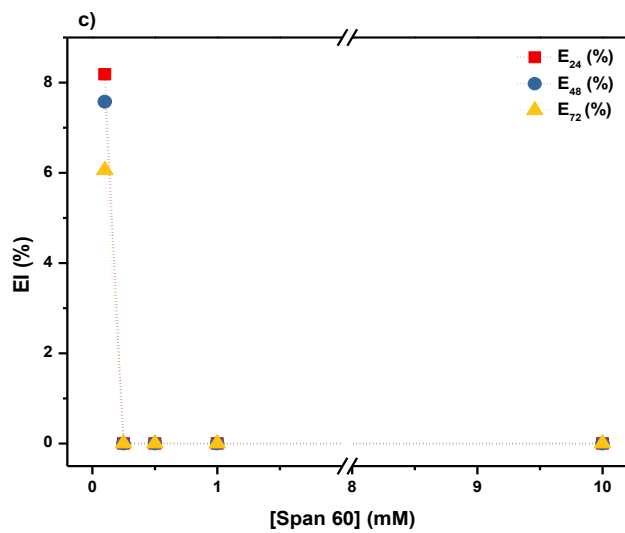
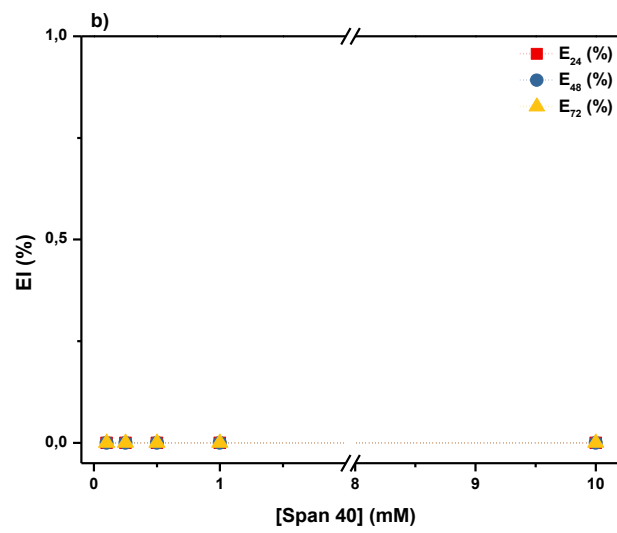
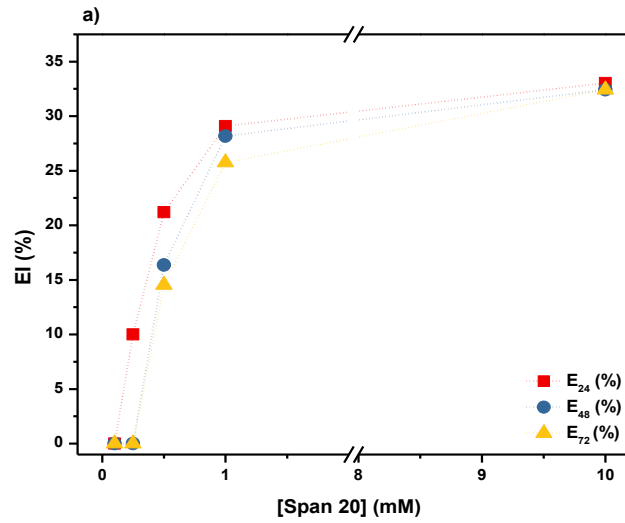


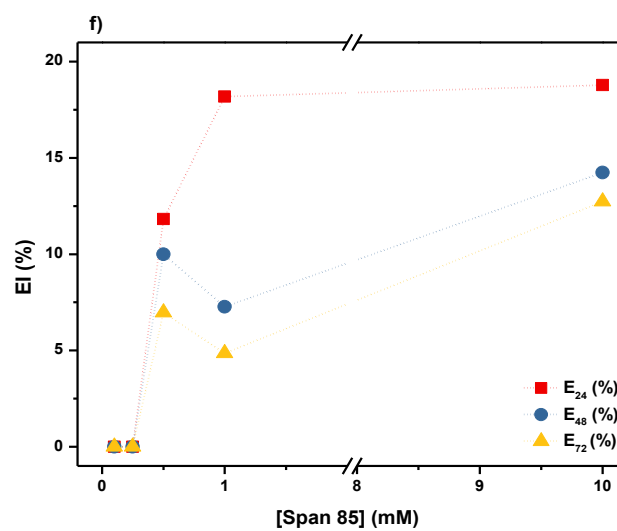
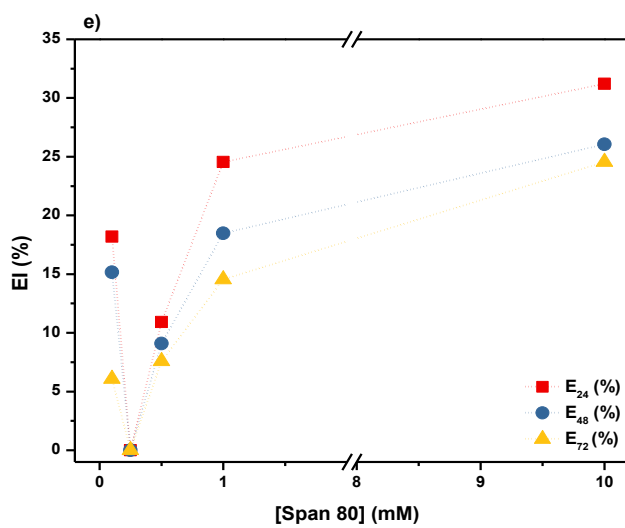
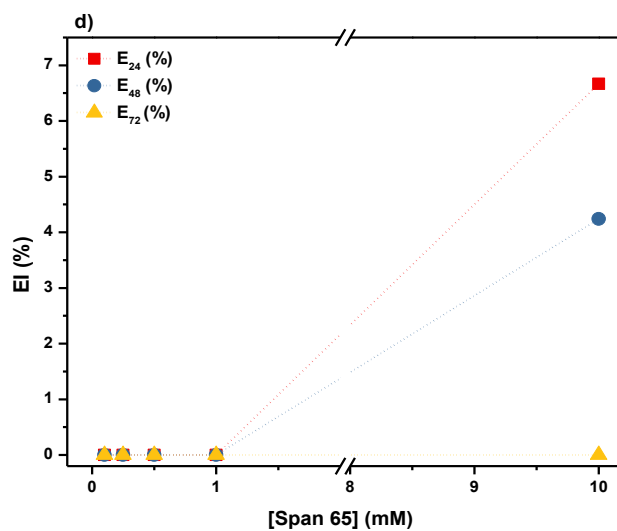
Os ésteres de sorbitano com maior capacidade de formação de emulsão com o decano, foram os Span 20, 80 e 85, como seria expectável. O Span 60 melhorou a sua capacidade de emulsificação de decano, quando comparada com a capacidade de emulsificação com o hexano, uma vez que conseguiu formar emulsão nas concentrações de 0.5, 1 e 10 mM, e manter a emulsão da maior concentração até 48 h após a sua formação. É possível estabelecer, com clareza, a relação proporcional entre a concentração de Span e os valores de EI obtidos para os Span 20, 60, 65 e 85.

### A.1.3 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em hexadecano

A relação entre a capacidade de formação e estabilização dos Span com o hexadecano, ao longo do tempo, em função da concentração de Span são apresentados na Figura A.1.3.

**Figura A.1.3.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção etanólica, em hexadecano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.





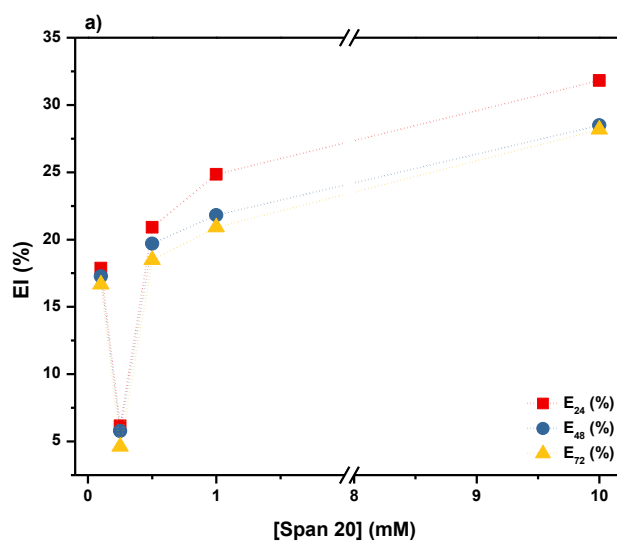
De acordo com a Figura A.1.3, vê-se, mais uma vez, que os Span com melhor capacidade de emulsificação da fase dispersa são os Span 20, 80 e 85. O Span 40 não conseguiu formar

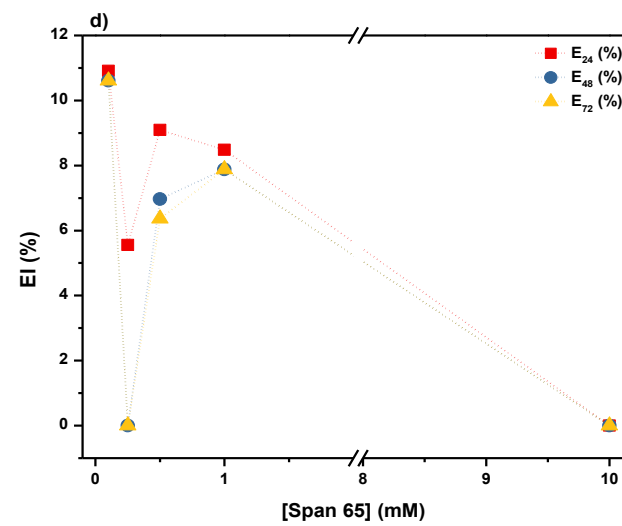
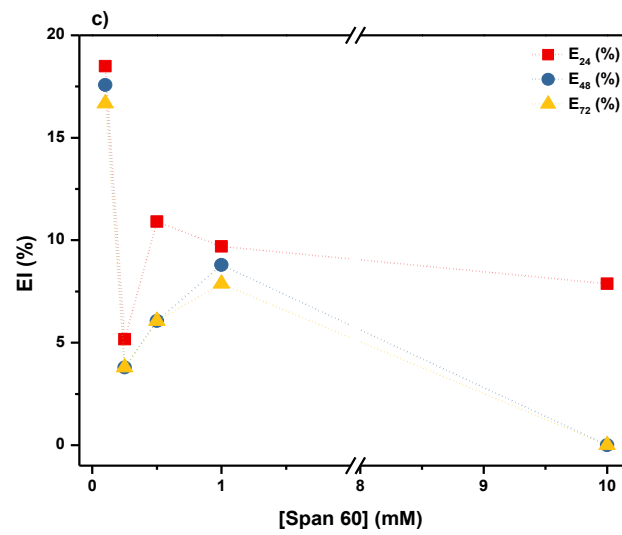
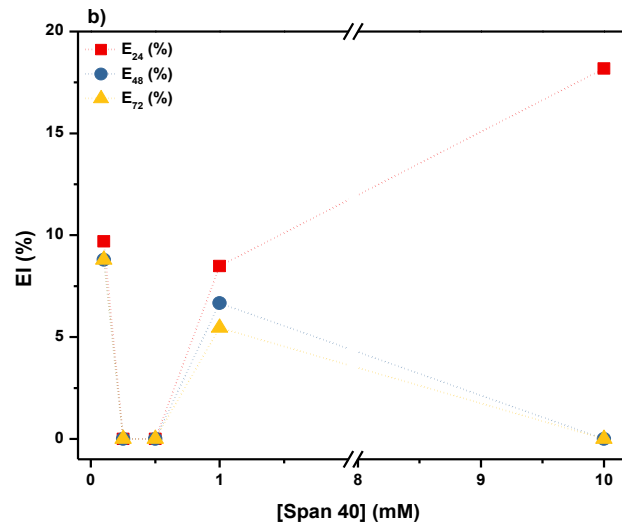
emulsão com o hexadecano em nenhuma das concentrações testadas, e os Span 60 e 65 formaram emulsões, porém, com valores de EI muito baixos. Verifica-se uma relação entre os valores de EI maiores com a concentração dos Span 20, 65 e 85, e no caso do Span 80 essa relação é observável nas concentrações entre 0,25 e 10 mM.

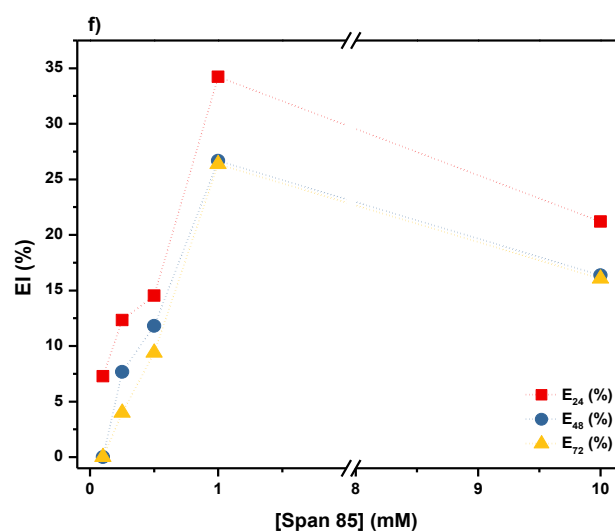
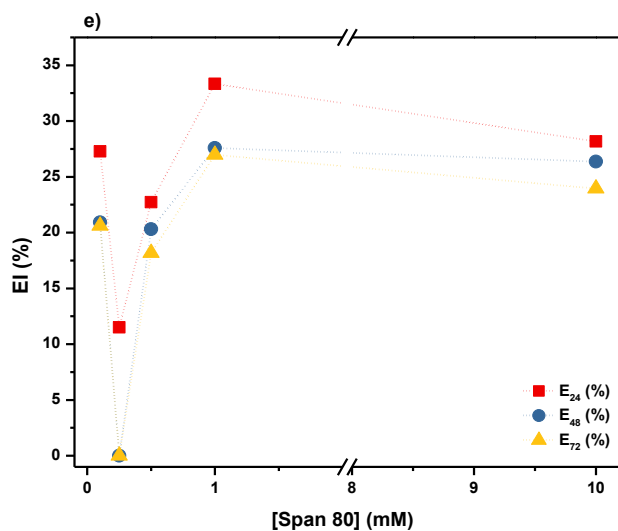
#### A.1.4 Efeito da concentração de Span e do tempo de análise no índice de emulsificação (EI) em óleo de soja

Na Figura A.1.4 vê-se o efeito da concentração de Span nos valores de EI das emulsões em óleo de soja, dos sistemas de Span obtidos por meio de injeção de etanólica, ao longo de 72 h.

**Figura A.1.4.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção etanólica, em óleo de soja, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.







Verifica-se que, para todos os Span, ocorreu a formação de emulsão com óleo de soja. Os maiores de EI foram obtidos com a presença dos Span 20, 80 e 85, com valores na faixa dos 30-35% de camada emulsificada.

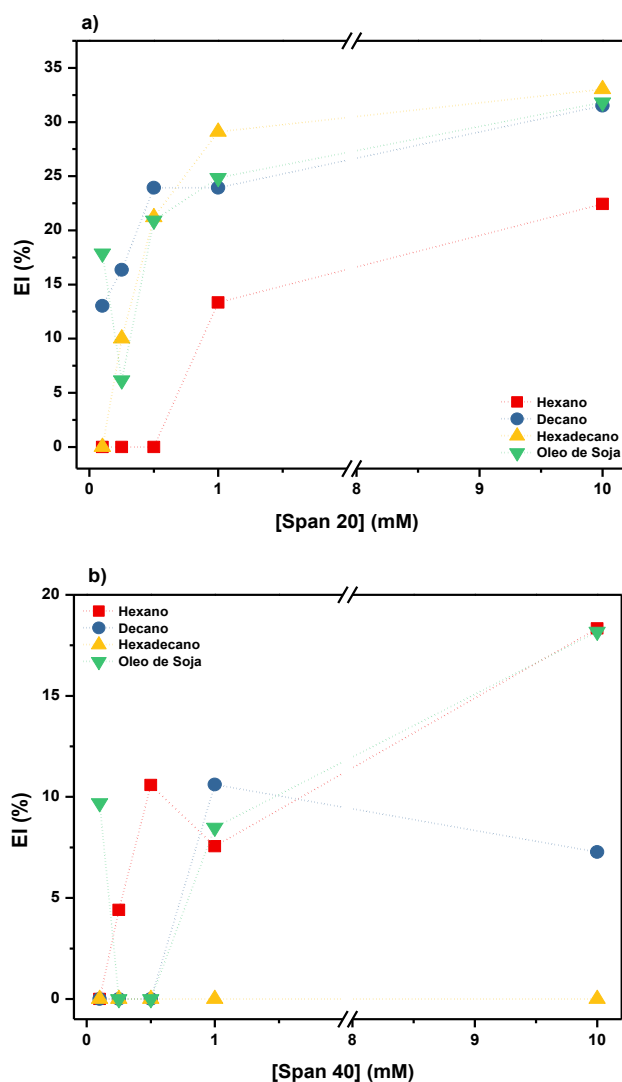
É possível estabelecer uma relação entre o tamanho da camada emulsificada e a concentração de Span 20, 80 e 85, exceto na concentração 0,25 mM. O Span 20 foi o que apresentou melhor capacidade de estabilização da emulsão pois, nos tempos de análise, foi o que apresentou menor variação em EI.

Na maior concentração de Span estudada, 10 mM, os Span 40, 60 e 65 apresentaram pouca ou nenhuma capacidade de formação e estabilização de emulsão com óleo de soja.

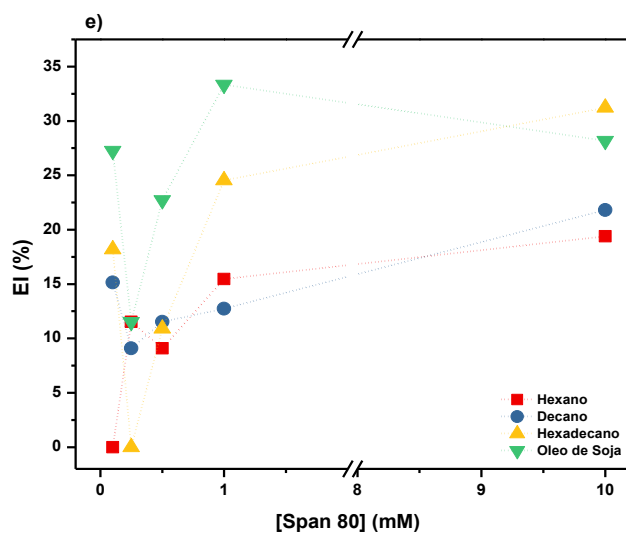
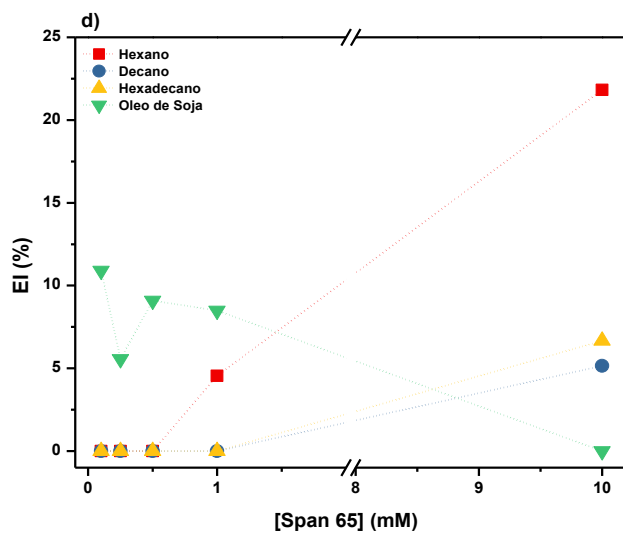
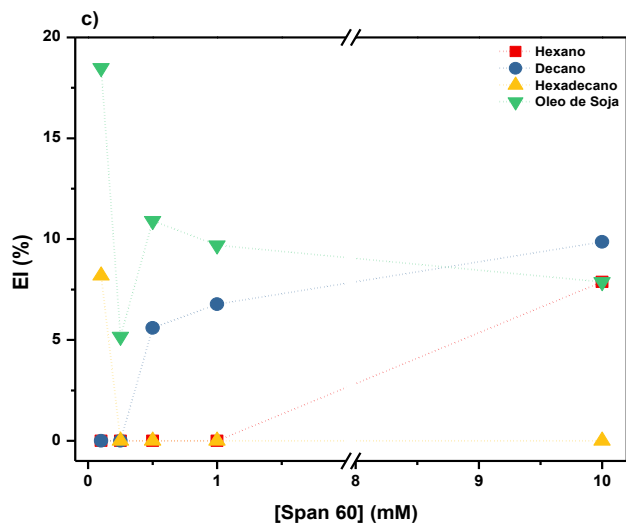
### A.1.5 Índices de Emulsificação (EI) de Span em gordura com diferentes comprimentos, em função da concentração de Span

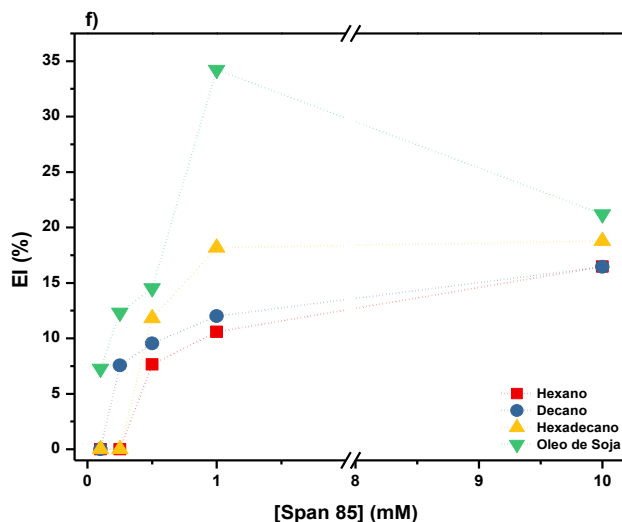
A relação entre a concentração de Span nos sistemas obtidos por injeção etanólica e os valores de EI obtidos para cada uma das fases dispersas usadas na formação das emulsões é mostrada na Figura A.1.5.

**Figura A.1.5.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção etanólica com gordura emulsificada de diferentes tamanhos, após 24 h, a 25 °C.







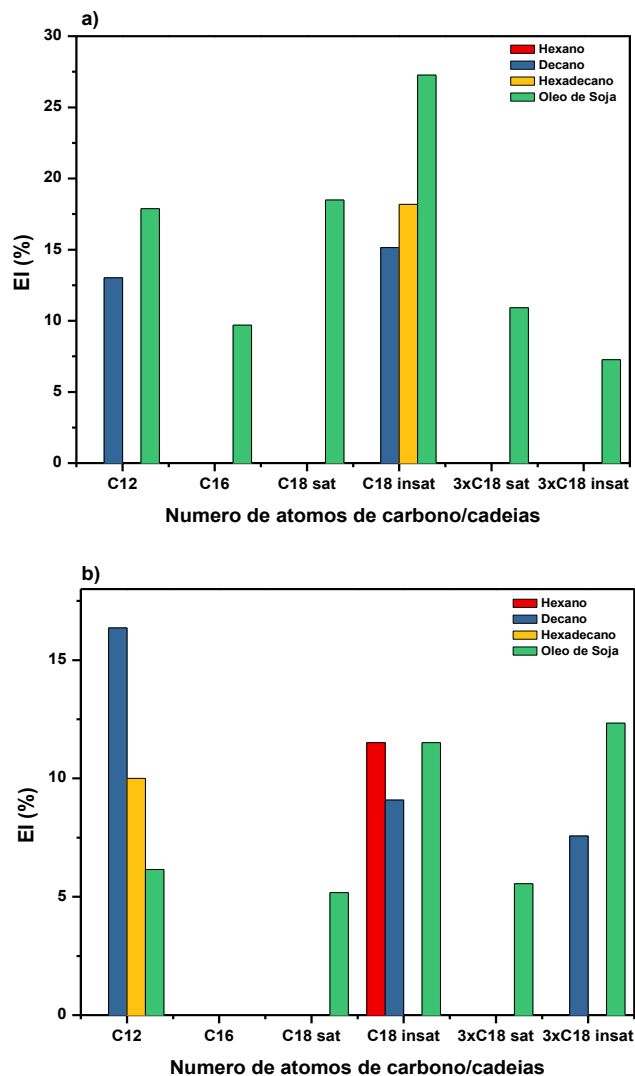


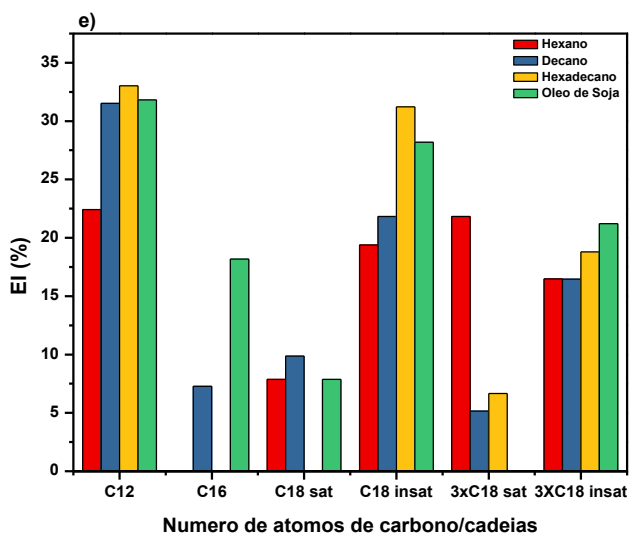
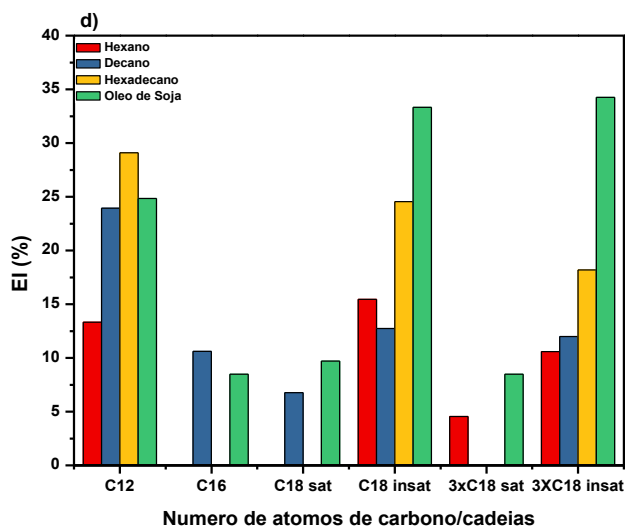
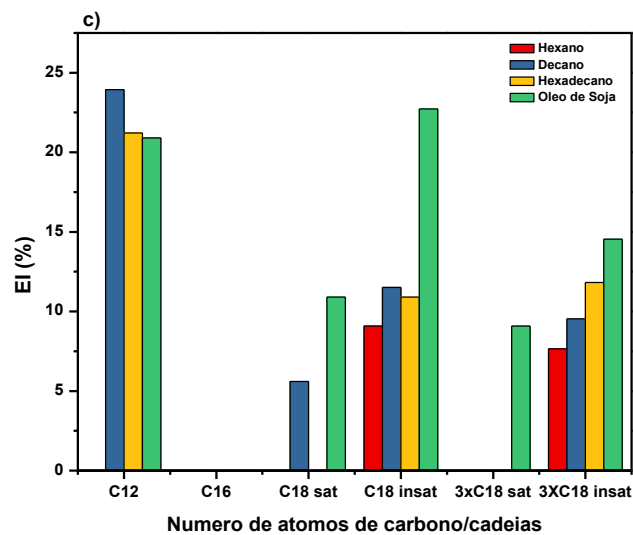
É possível verificar que nos Span 20, 80 e 85, é clara a proporcionalidade entre a capacidade de emulsificação e o comprimento da cadeia da gordura emulsificada. Nos Span 40, 60 e 65 verifica-se que as soluções com as concentrações menores apresentaram melhor capacidade de formação de emulsão com o óleo de soja, fase dispersa com a maior cadeia em estudo, e que para a maior concentração em estudo dos Span 40 e 60, a capacidade de emulsificação é superior tanto para o óleo de soja, como para o hexano, a gordura de maior e menor comprimento de cadeia, respetivamente. Já para o Span 65 verifica-se que a solução de Span 10 mM apresenta uma grande capacidade de emulsificação do hexano, em detrimento de gorduras com cadeias carbonadas maiores, o que pode ser explicado pela presença de 3 grupos apolares nesta molécula de Span, havendo menos espaço no interior da vesícula emulsificar gorduras maiores.

#### A.1.6 Índices de Emulsificação (EI) em função da estrutura molecular dos Span, em diferentes concentrações

Na Figura A.1.6 são representadas as relações entre os valores de EI obtidos e as diferenças estruturais de cada Span, para cada fase dispersa usada na formação das emulsões, e nas diferentes concentrações de fase aquosa.

**Figura A.1.6.** Relação entre EI e o comprimento da cadeia dos sistemas Span 20 (C<sub>12</sub>), 40 (C<sub>16</sub>), 60 (C<sub>18</sub> saturada), 65 (3xC<sub>18</sub> saturadas), 80 (C<sub>18</sub> insaturada) e 85 (3xC<sub>18</sub> insaturadas), obtidos por injeção etanólica, após 24 h, nas concentrações de a) 0,1; b) 0,25; c) 0,5; d) 1; e) 10 mM.





De acordo com a Figura A.1.6, tem-se, mais uma vez, que os surfactantes com uma cadeia C<sub>12</sub> saturada, e com C<sub>18</sub> insaturadas, apresentam maior eficiência na formação e estabilização de

emulsões com as gorduras em estudo, em todas as concentrações de Span testadas. O Span 40, constituído por uma cadeia  $C_{16}$  é o que apresenta menor capacidade de emulsificação, com todas as gorduras estudadas e, em todas as concentrações de Span, exceto 10 mM, na qual o surfactante constituído pela cadeia  $C_{18}$  saturada (Span 60) apresentou menor eficiência.

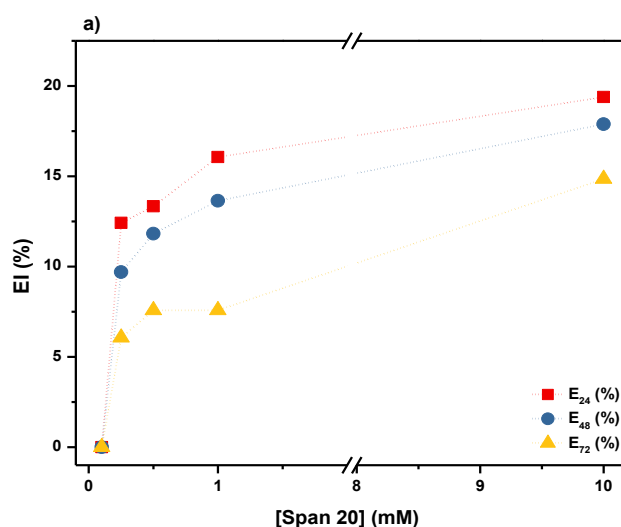
Na metade direita dos gráficos, exceto na concentração de Span mais baixa (0,1 mM), verifica-se que os tensoativos com insaturação nas suas cadeias, apresentam maior eficiência na formação e estabilização de emulsões, pois exibem valores mais elevados de EI com todas as fases dispersas em estudo. Na concentração 0,1 mM, os Span com apenas uma cadeia  $C_{18}$  com e sem saturação (Span 60 e 80), apresentam melhor capacidade de emulsificação do óleo de soja, e relativamente ao decano e hexadecano, apenas o Span 80 consegue formar emulsão.

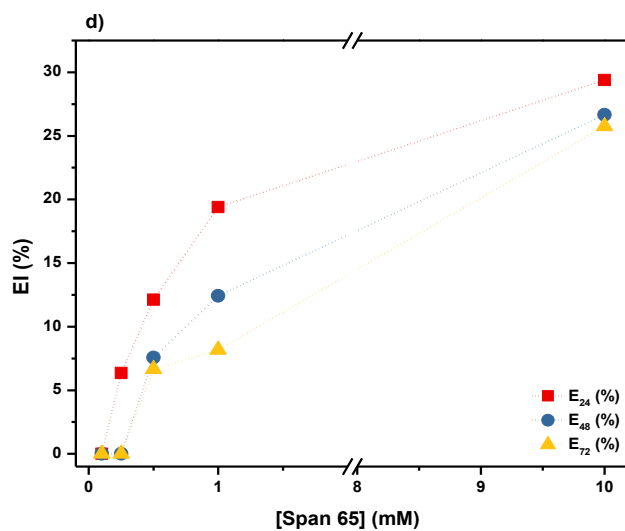
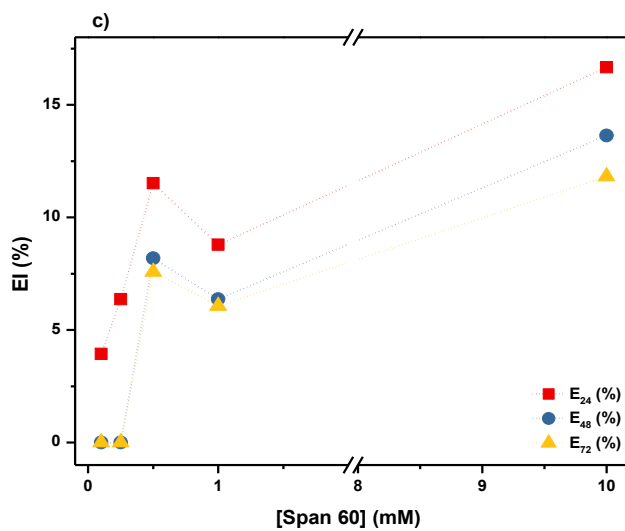
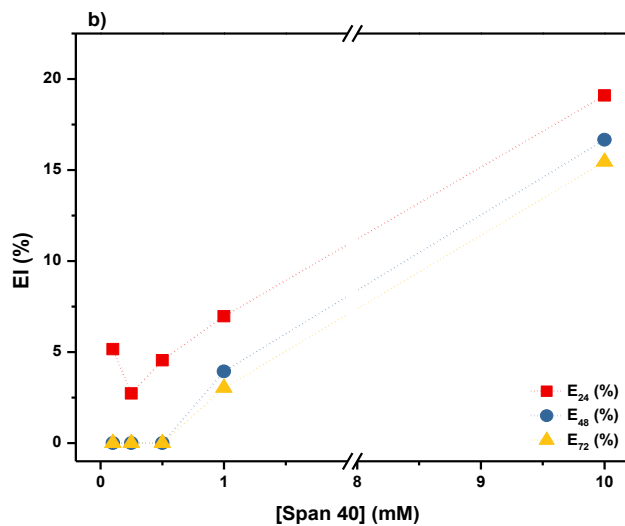
## A.2 Dispersões de Span obtidas por método de injeção de 2-propanol

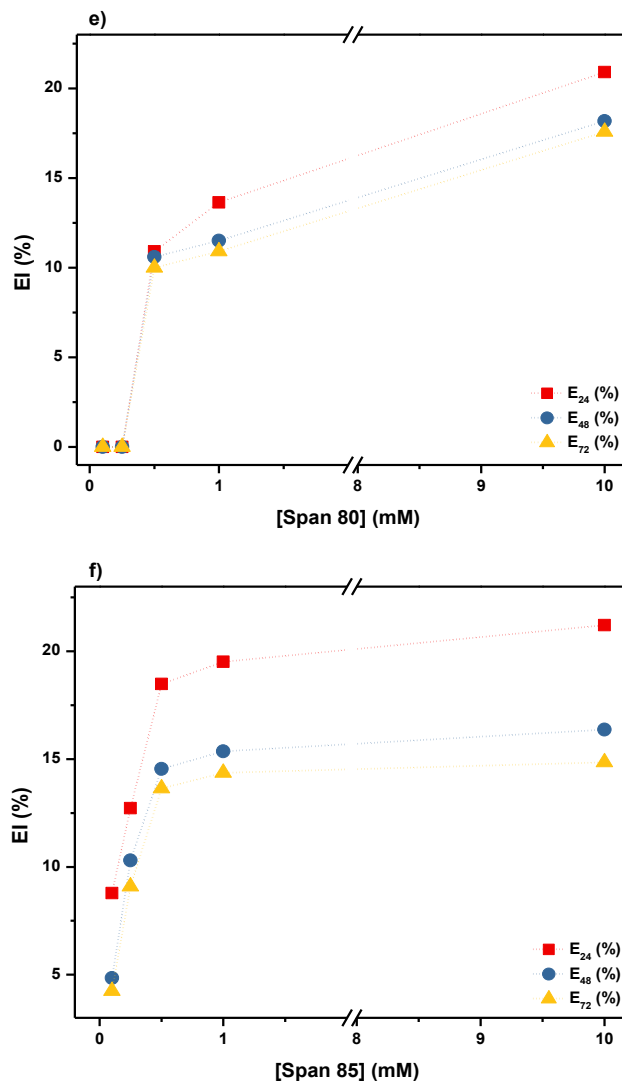
### A.2.1 Índice de emulsificação (EI) em função da concentração de Span e do tempo de análise, em hexano

Na Figura A.2.1 são apresentados os valores de EI em função da concentração de Span dos sistemas obtidos pelo método de injeção de propanol, em hexano, ao longo de 72 h.

**Figura A.2.1.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos pelo método de injeção de 2-propanol, em hexano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.





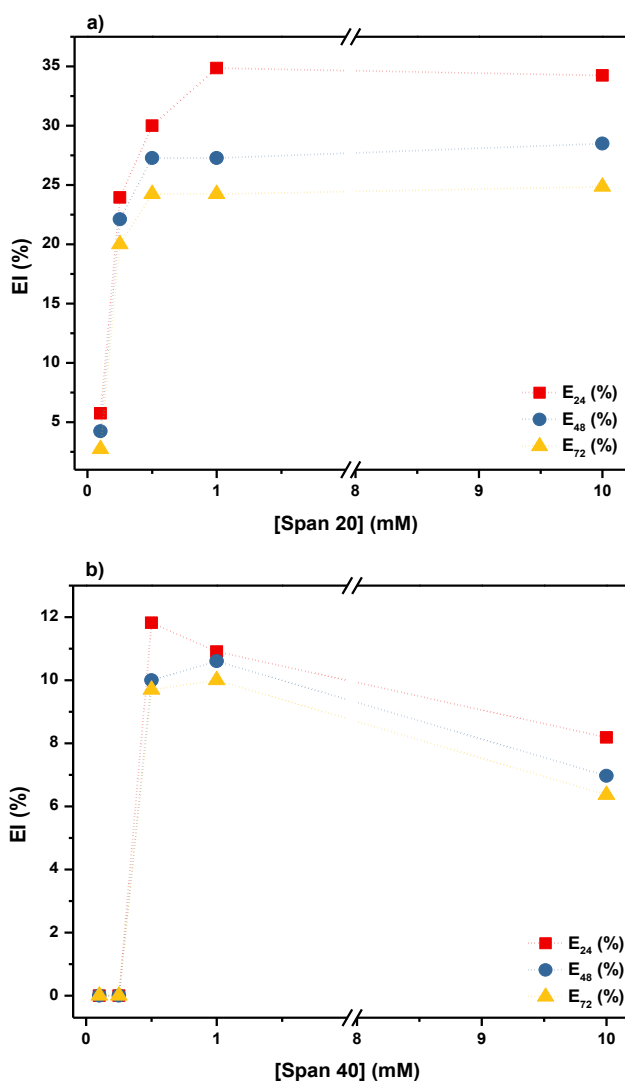


Após a análise da Figura A.2.1 e, à semelhança dos EI observados com os sistemas obtidos pelo método de injeção de metanol e etanol com o hexano, é possível verificar que a capacidade de emulsificação de hexano para todos os Span, aumenta com o aumento da sua concentração. Uma vez mais sendo este fato explicado pelo aumento da quantidade de monómeros de Span em solução, e do seu consequente aumento de agregação. Nestes sistemas formados por injeção de propanol, o Span 65 é o surfactante que apresenta maiores valores de EI, e também o que estabilizou de forma mais eficiente as emulsões formadas, contrariamente aos sistemas obtidos por injeção de metanol e etanol. Este resultado pode ser explicado pelo fato de 2-propanol penetrar mais profundamente na bicamada da vesícula e uma vez que o Span 60 possui três cadeias apolares na sua constituição, estas parecem interagir de alguma forma com o álcool e o próprio hexano, aumentando sua eficiência de aprisionamento. Seguidamente, os Span 20 e 85 foram os que apresentaram maior eficiência na emulsificação do hexano, e o Span 60 foi o surfactante com menores valores de EI ao longo das 72 h.

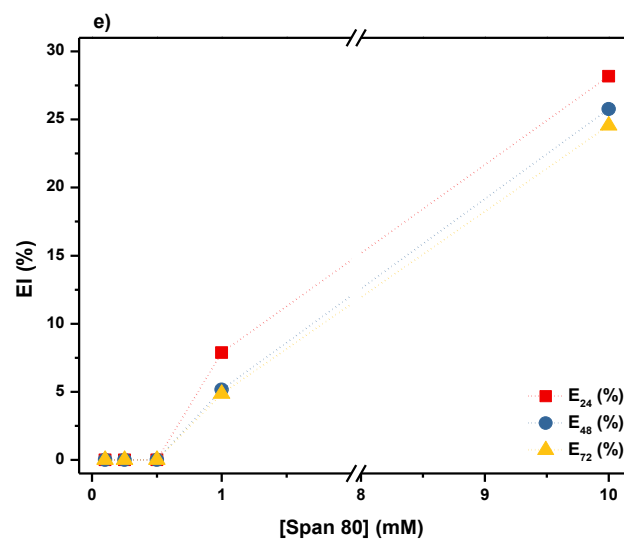
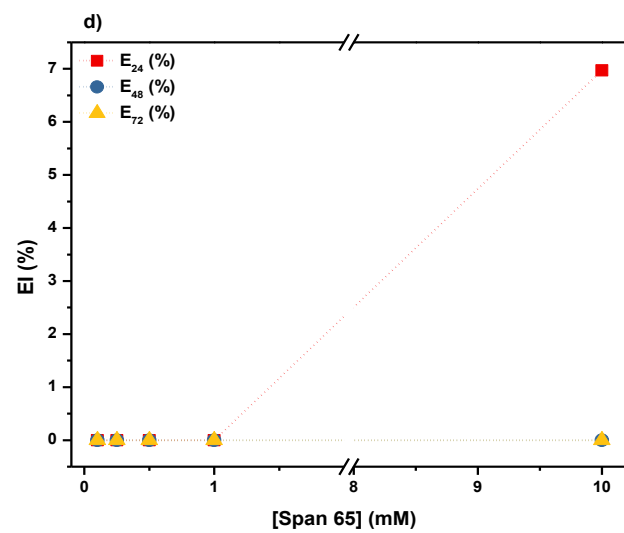
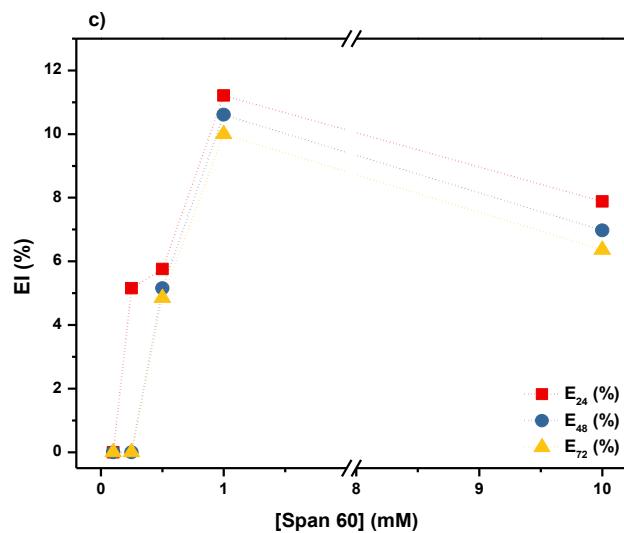
### A.2.2 Índice de emulsificação (EI) em função da concentração de Span e do tempo de análise, em decano

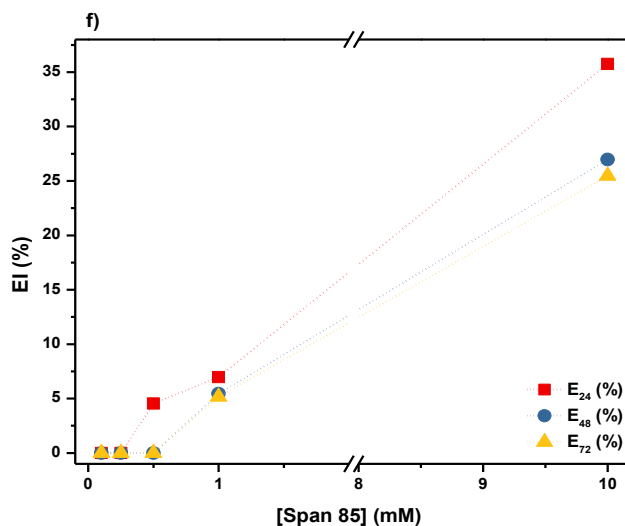
Os valores de EI das emulsões formadas com os sistemas Span com decano são mostrados na Figura A.2.2, em função da concentração no período de 72 h de análise.

**Figura A.2.2.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção de 2-propanol, em decano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.









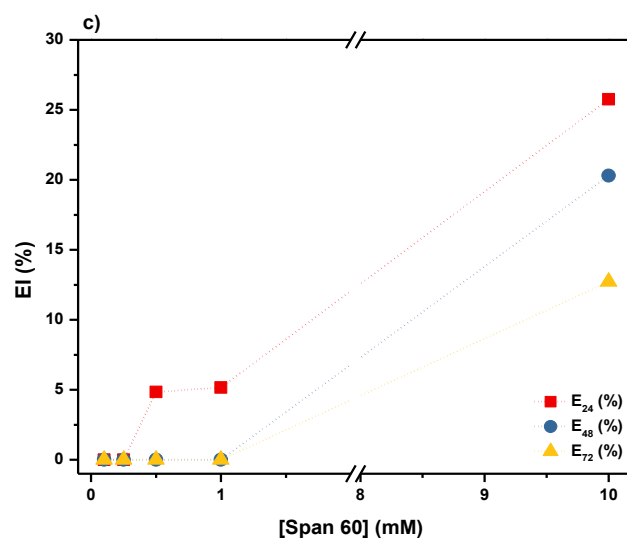
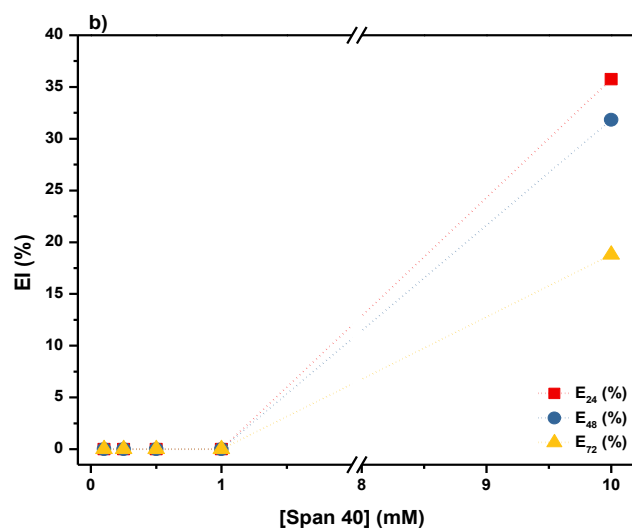
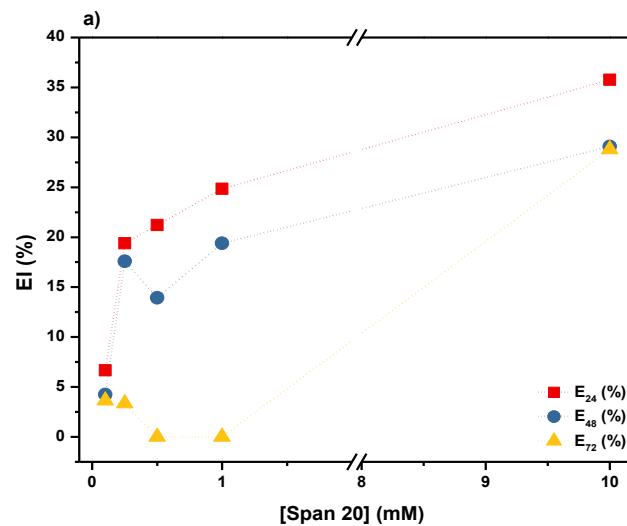
Com base na Figura A.2.2, os Span 20, 80 e 85 apresentam grande poder de emulsificação do decano, além de uma relação de proporcionalidade entre os valores de EI e a concentração de Span. Os Span 40 e 60, embora com valores menores de EI também mostram relação linear entre o aumento da capacidade de emulsificação e a concentração de Span, exceto na concentração 10 mM, na qual ocorre ligeira diminuição com relação à concentração anterior. O Span 65 foi o que apresentou menores valores de EI e só conseguiu formar emulsão com decano, na maior concentração e apenas durante 24 h.

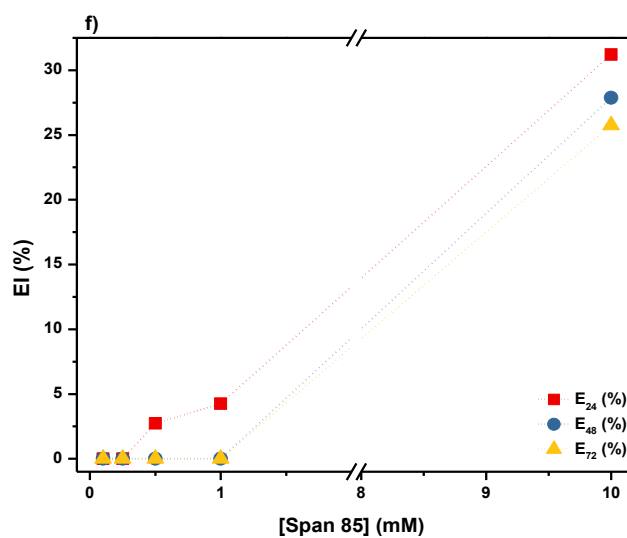
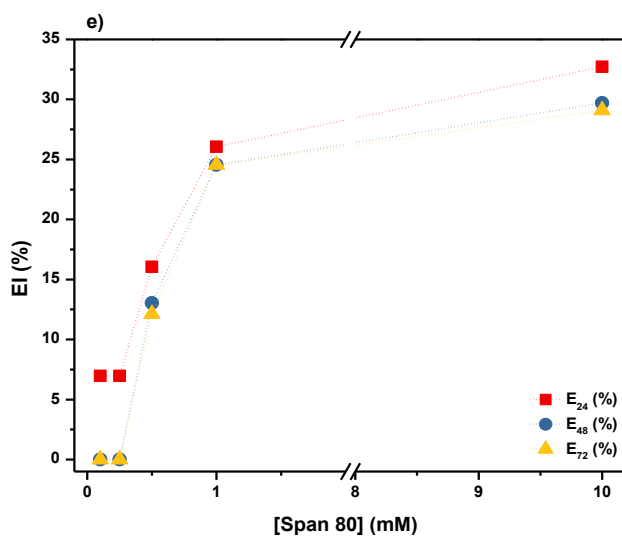
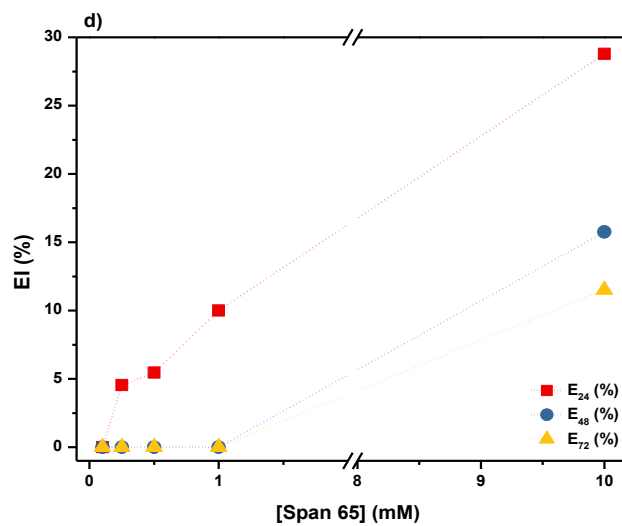
Os Span 40, 60 e 80 apresentaram maior capacidade de estabilização das emulsões formadas com decano.

### A.2.3 Índice de emulsificação (EI) em função da concentração de Span e do tempo de análise, em hexadecano

Na Figura A.2.3 estão representados os resultados de EI, em função da concentração de Span, que formaram emulsão com hexadecano, no período de 72 h de análise.

**Figura A.2.3.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção de 2-propanol, em hexadecano, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.





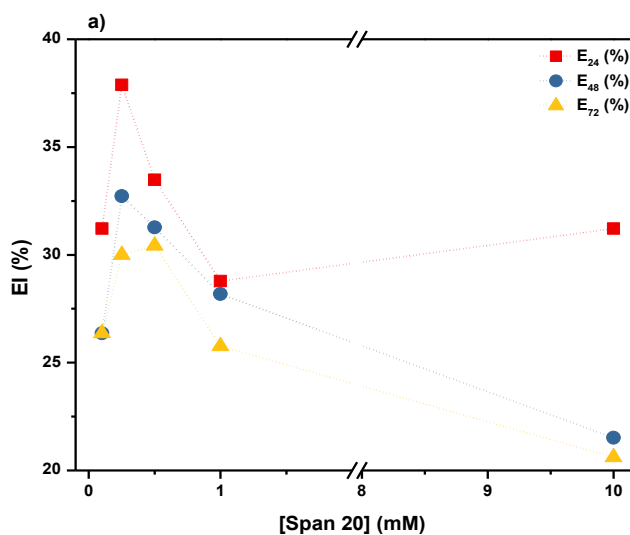
A capacidade de emulsificação de hexadecano aumenta com a concentração de todos os Span em estudo. Todos apresentam valores consideráveis de EI, na faixa de 25-35 %, nas

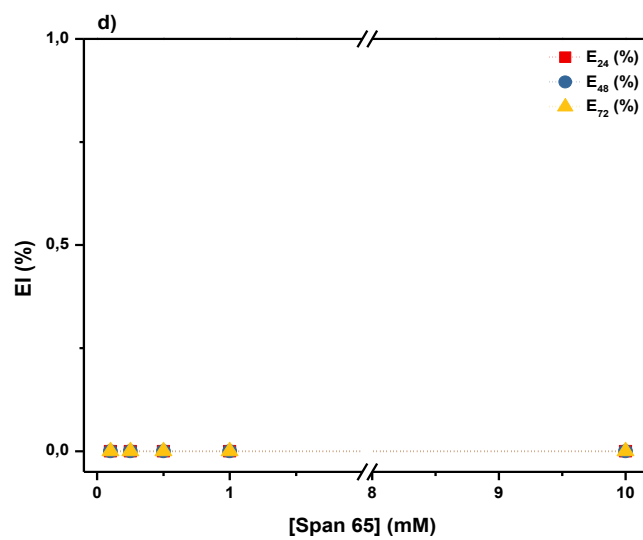
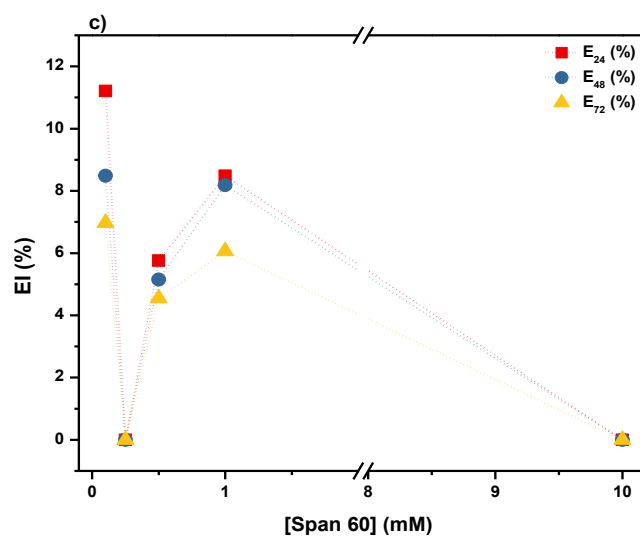
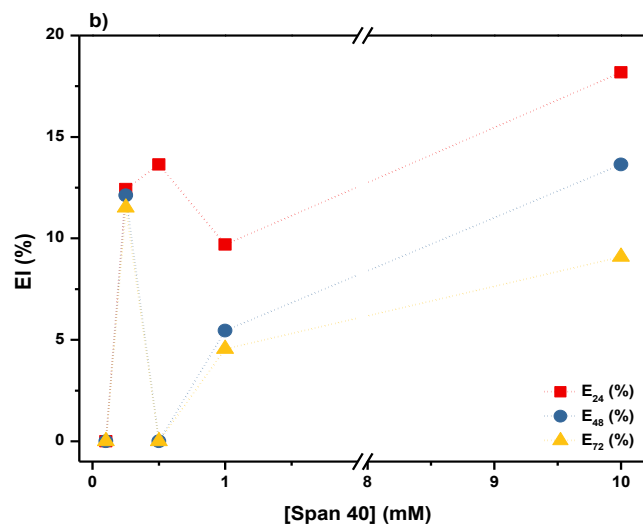
primeiras 24 h de análise. Os Span 80 e 85 foram os que formaram emulsões mais estáveis com hexadecano, pois os valores de EI apresentaram menor diminuição nas 48 e 72 h seguintes. Mais uma vez, os dois surfactantes em estudo com insaturações (Span 80 e 85), são os que apresentam maior capacidade de retenção de gordura com maior tamanho de cadeia (óleo de soja), mostreo mais uma vez que a ligação dupla das cadeias é essencial na interação com a gordura a ser emulsificada.

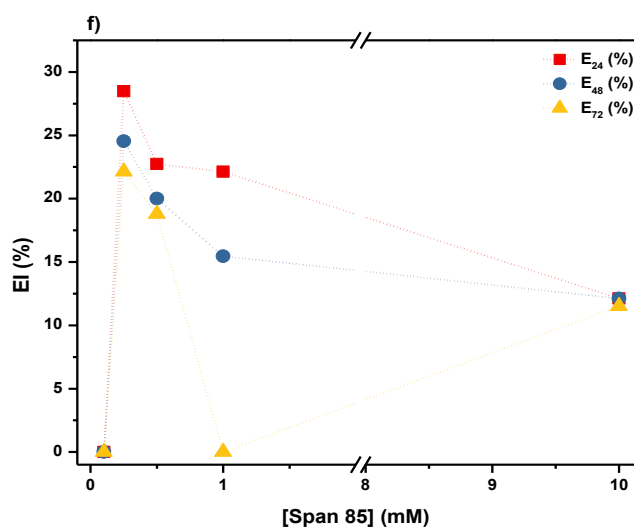
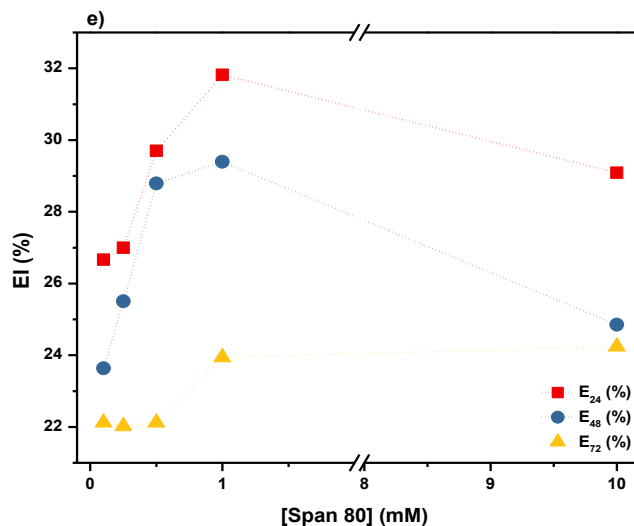
#### A.2.4 Índice de emulsificação (EI) em função da concentração de Span e do tempo de análise, em óleo de soja

Os resultados correspondentes às emulsões produzidas com dispersões aquosas de Span em diferentes concentrações, e óleo de soja como fase dispersa, em função do tempo de análise, são apresentados na Figura A.2.4.

**Figura A.2.4.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção de 2-propanol, em óleo de soja, após 24, 48 e 72 h, a 25 °C.







De acordo com a Figura A.2.4, nas emulsões formadas com os Span, obtidas por injeção de 2-propanol e óleo de soja, não foi possível obter uma relação clara entre a EI e a quantidade de Span usada. Isto pode ser explicado pela presença de microprecipitados em solução, afetando a efetividade dos surfactantes.

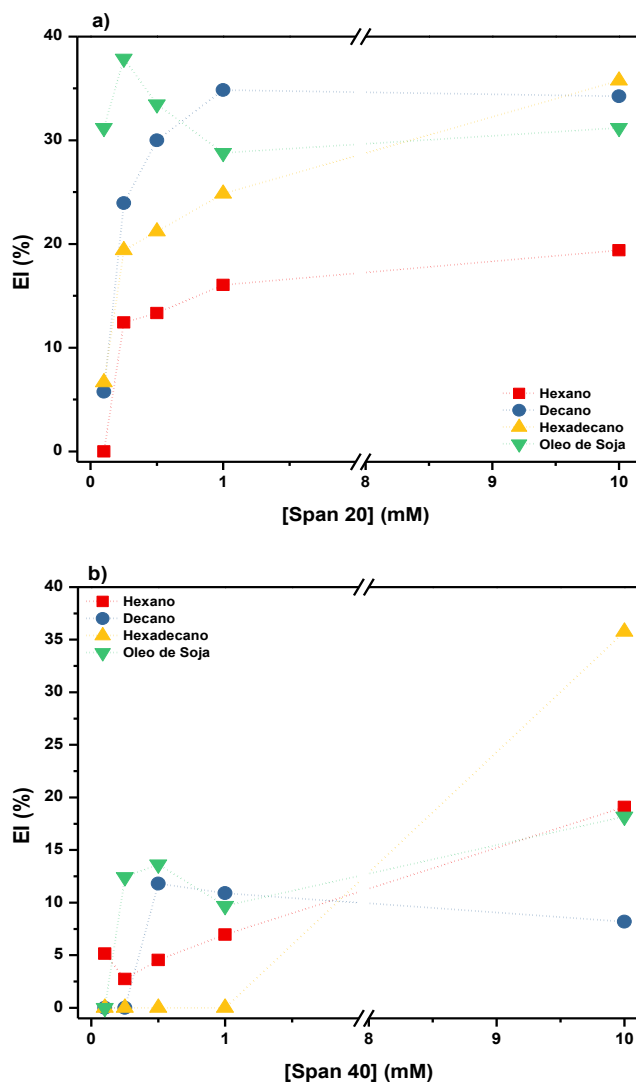
O Span 65 não formou emulsão com óleo de soja, e é o surfactante que apresenta precipitados macroscópicos em solução. Os Span 20 e 80 foram os que conseguiram maiores valores de EI para as emulsões formadas, seguidos dos Span 40 e 85.

Nas concentrações 0,1-1 mM o Span 20 foi o que apresentou maior capacidade de estabilização das emulsões, e os Span 80 e 85 na concentração de 10 mM.

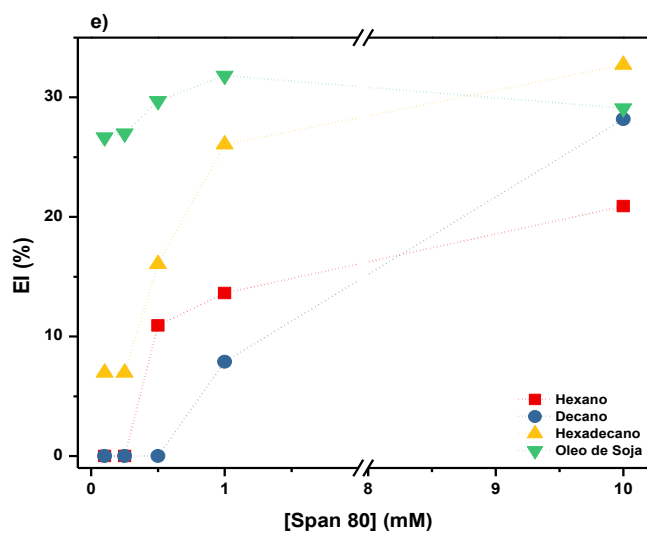
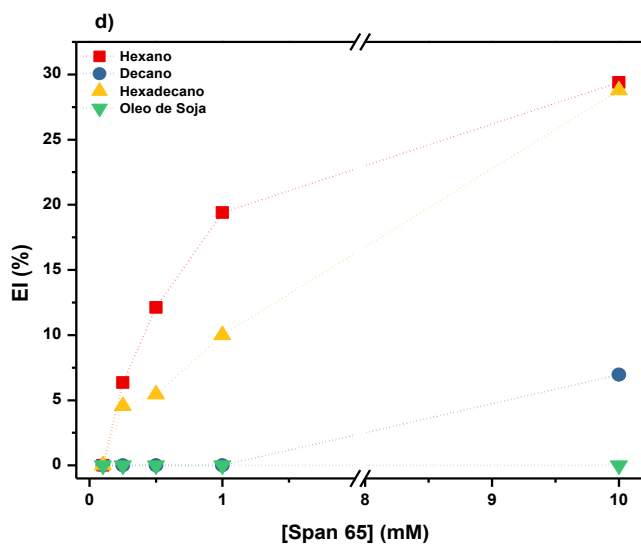
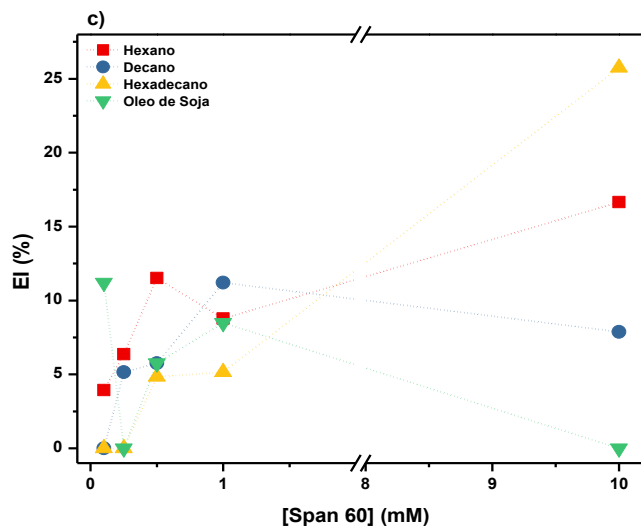
### A.2.5 Índice de emulsificação (EI) em gordura com diferentes comprimentos, em função da concentração de Span

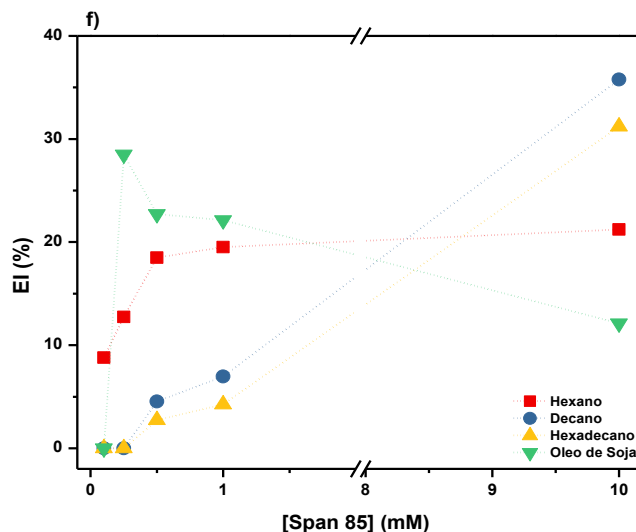
Na Figura A.2.5 são mostrados valores de EI obtidos ao fim de 24 h, em função da concentração de Span na emulsificação de hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, obtidos a 25 °C.

**Figura A.2.5.** Efeito da concentração de Span em EI dos sistemas de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80, e f) Span 85, obtidos por injeção de 2-propanol com o tamanho da gordura emulsificada, após 24h, a 25 °C.







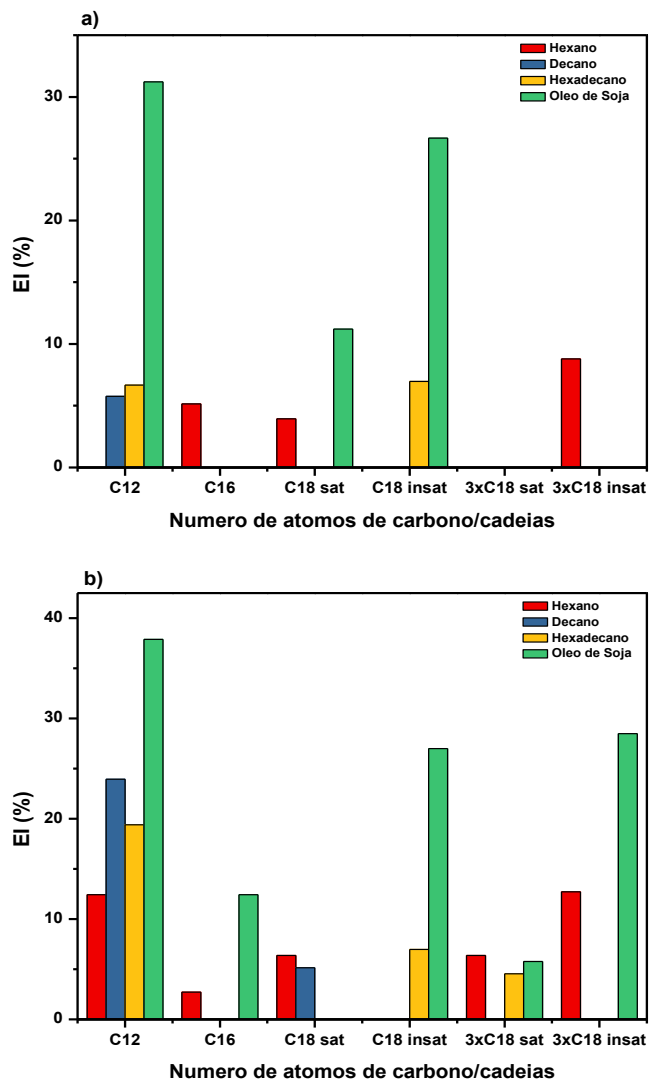


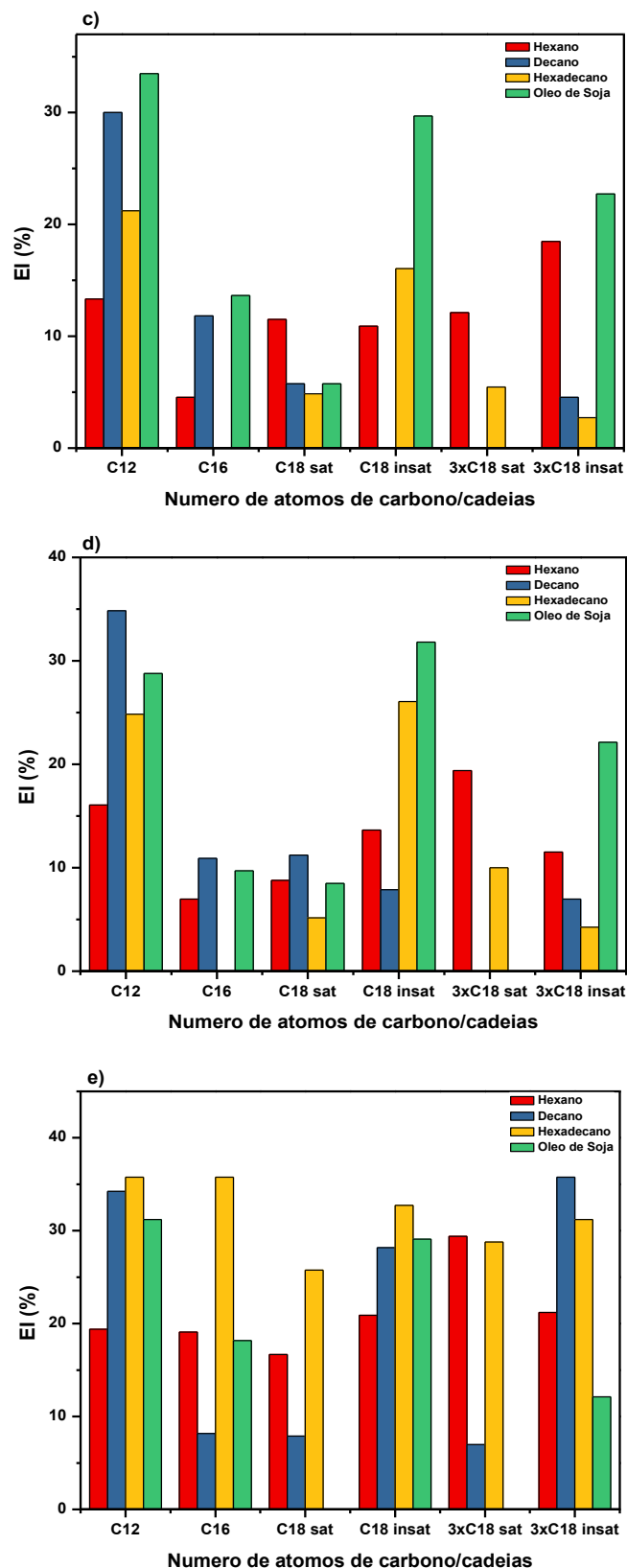
Com base nesta Figura, observa-se que maior capacidade dos Span 20 e 80 de emulsificação de gorduras com comprimentos de cadeia maiores, em todas as concentrações analisadas. No Span 85 é possível observar a maior capacidade de emulsificação da fase dispersa de maior comprimento de cadeia, o óleo de soja, useo concentrações de surfactante mais baixas, verifico-se uma inversão dessa tendência quando a concentração aumenta para 10 mM, possivelmente devido à saturação da solução, uma vez que esta é a mais concentrada. O Span 65 é o único que apresenta uma capacidade de emulsificação maior para a gordura menor em análise. Já para os Span 40 e 60 não é possível criar uma relação entre os valores de EI e o comprimento da gordura a emulsificarem, sendo também estes os surfactantes cujos valores de EI são menores.

#### A.2.6 Índice de emulsificação (EI), em função da concentração e estrutura molecular dos Span

Na Figura A.2.6, são apresentados os gráficos onde se ilustra a relação entre a estrutura dos Span e a capacidade de formação de emulsões com o hexano, decano, hexadecano e óleo de soja, no tempo de análise de 24 h.

**Figura A.2.6.** Relação entre EI e o comprimento da cadeia dos Span 20 (C<sub>12</sub>), 40 (C<sub>16</sub>), 60 (C<sub>18</sub> saturada), 65 (3xC<sub>18</sub> saturadas), 80 (C<sub>18</sub> insaturada) e 85 (3xC<sub>18</sub> insaturadas), obtidos por injeção de 2-propanol, após 24h, nas concentrações de a) 0,1; b) 0,25; c) 0,5; d) 1; e) 10 mM.





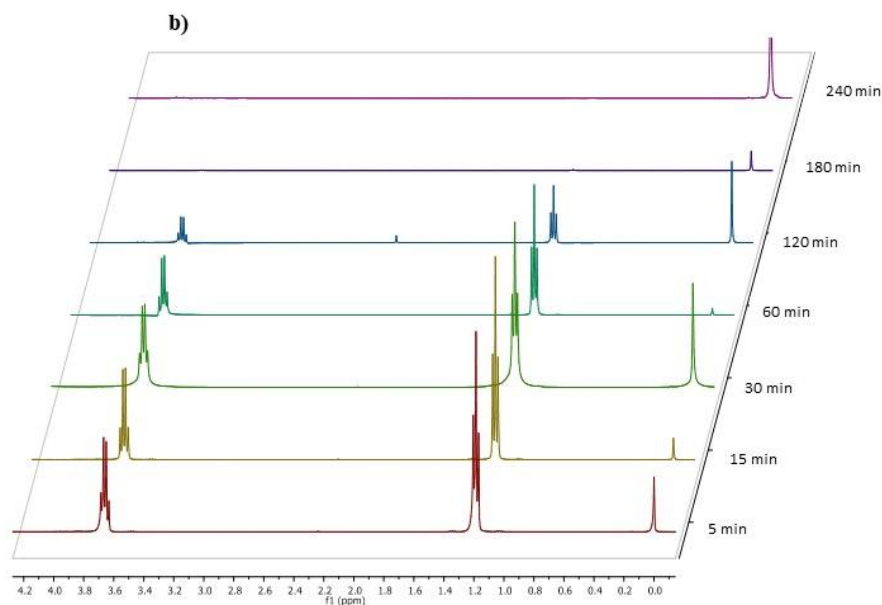
Nos histogramas da Figura A.2.6 é possível observar que os surfactantes com cadeia de 12 átomos de carbono, e com 18 carbonos e uma insaturação são os mais eficientes na formação

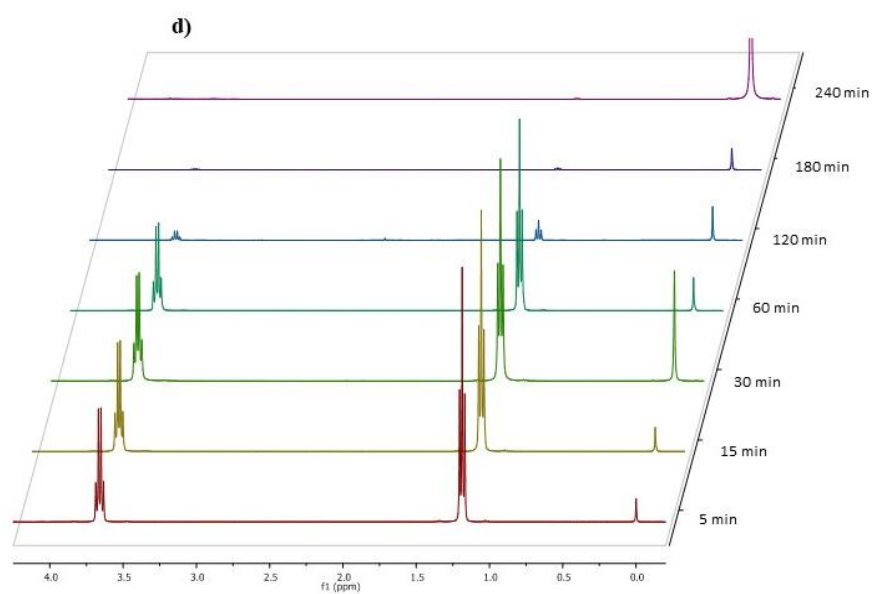
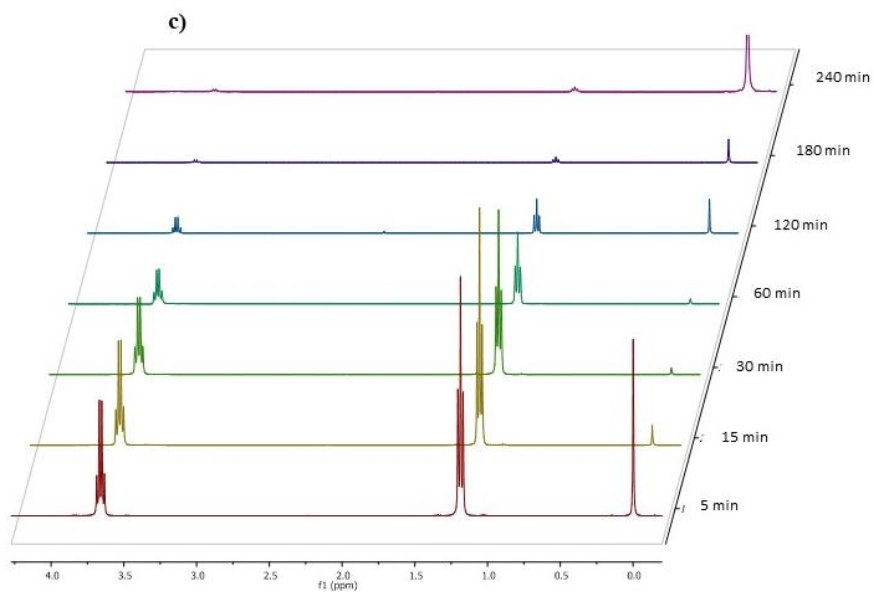
de emulsões com gorduras de maior cadeia, para todas as concentrações de Span. No caso do hexano, que é a gordura de cadeia mais curta testada, quase não se observam diferenças significativas entre a capacidade de emulsificação e a estrutura dos Span de cadeia única.

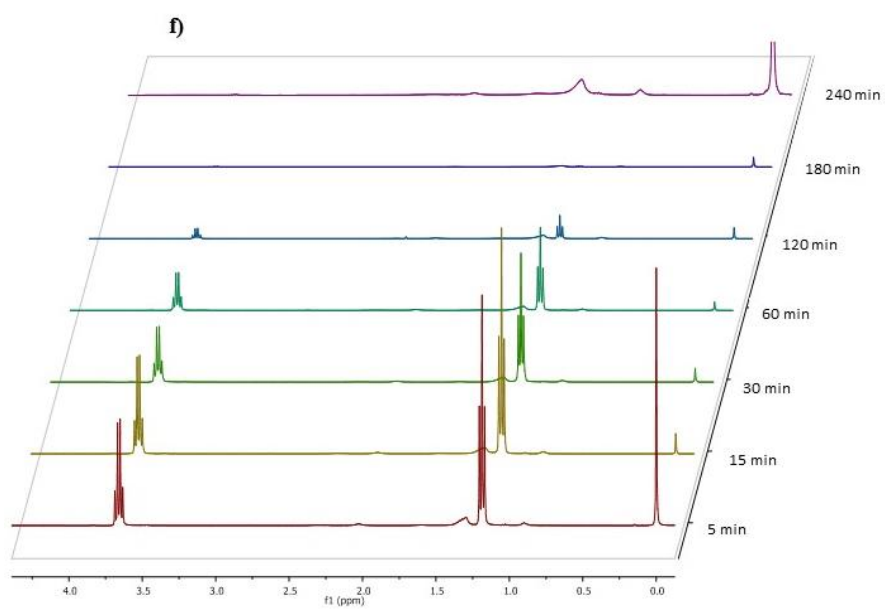
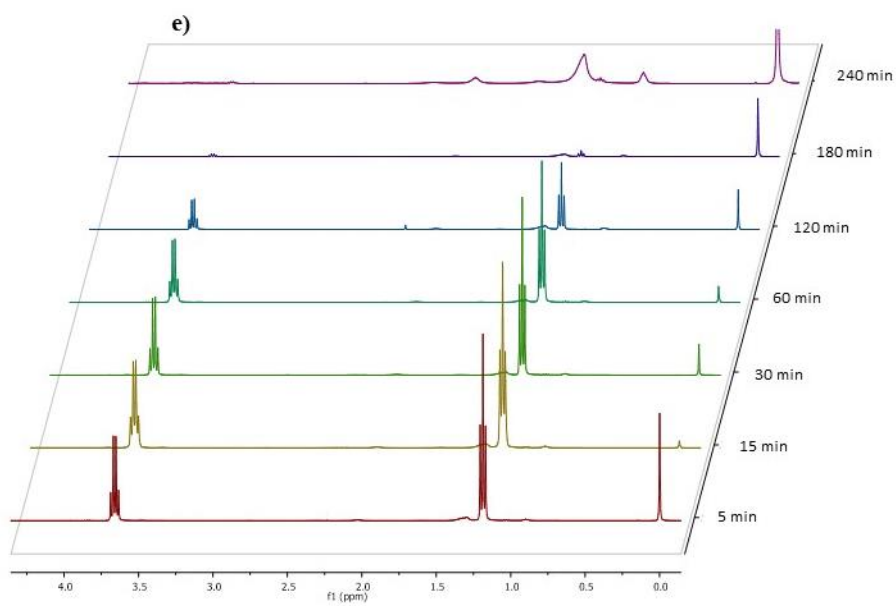
Em relação aos dados do lado direito do eixo dos x dos gráficos da Figura 49 é possível concluir que o surfactante com cadeia  $C_{18}$  com uma insaturação (Span 80) é o mais eficaz em emulsificar gordura com cadeias longas, seguido do surfactante com três cadeias  $C_{18}$  com uma insaturação em cada (Span 85), em todas as concentrações de Span usadas. Conclui-se assim que mais uma vez a presença de insaturação é fulcral para o aumento do aprisionamento de gordura no interior da bicamada, e que a maior penetração da molécula de álcool na bicamada, não afeta o comportamento do surfactante.

Nas maiores concentrações de Span testadas (1 e 10 mM) observou-se que o menor alcano em estudo, hexano, foi mais eficazmente emulsificado pelo Span 65, que é constituído por três cadeias de 18 átomos carbonos saturadas.

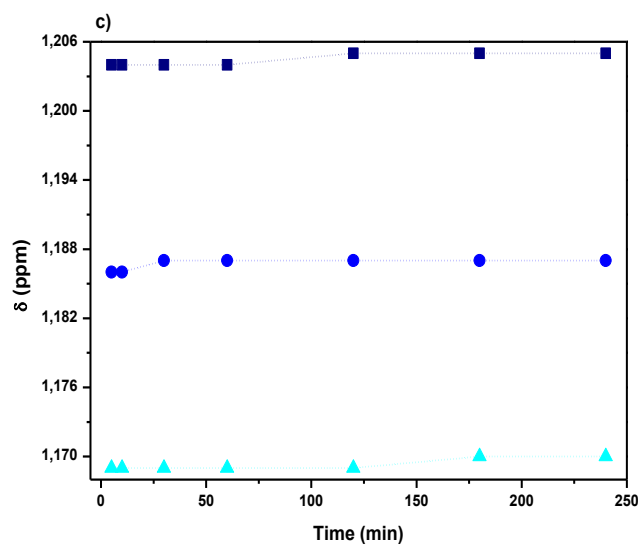
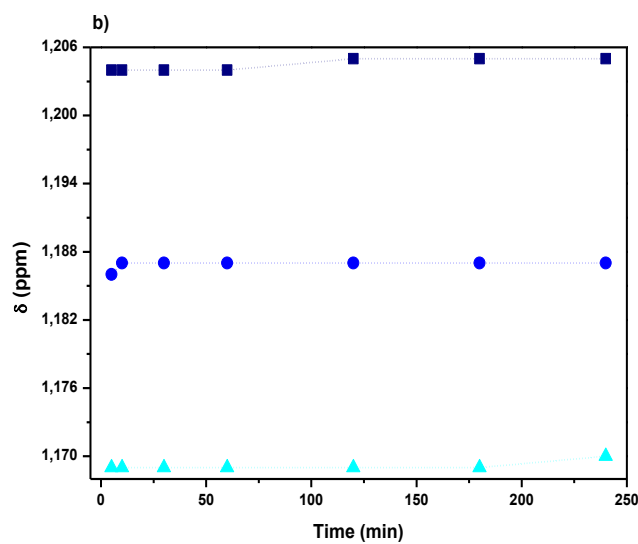
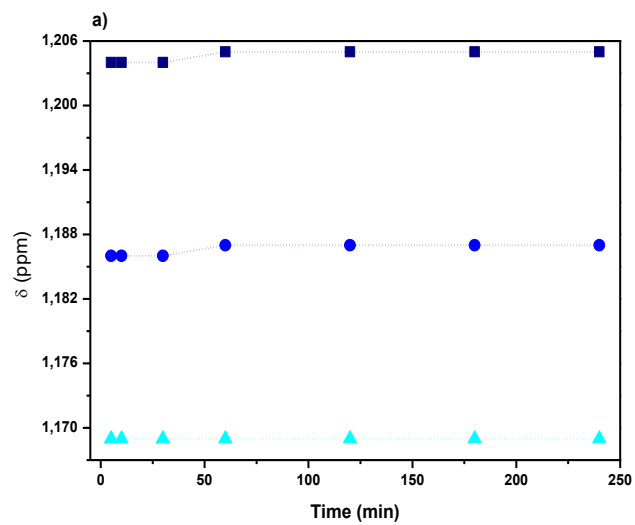
### A.3 Representação dos RMN $^1H$ dos sistemas de Span b) 40, c) 60, d) 65, e) 80 e f) 85, obtidos por injeção de etanol.



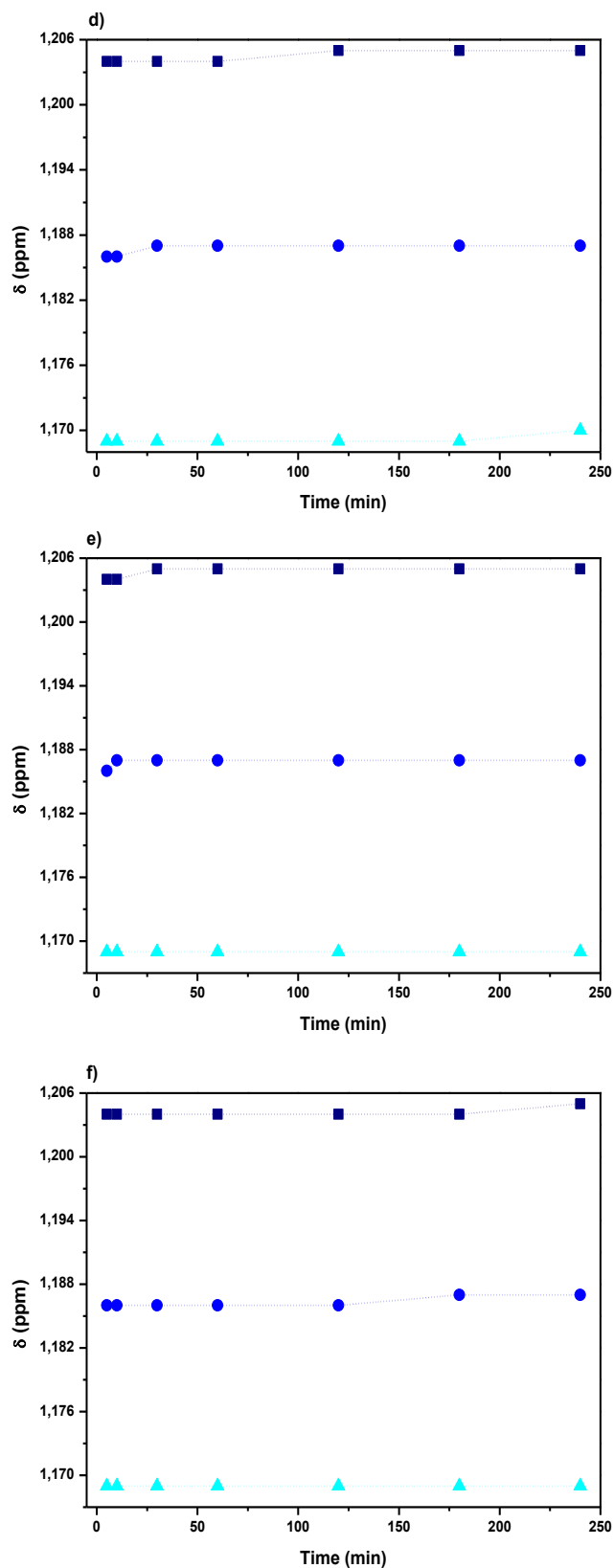




#### A.4 Representação dos valores dos desvios químicos do tripleto do espectro de RMN de etanol.







**Figura A.** Mudança nos desvios químicos do tripeto da molécula de etanol nas soluções de a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 e f) Span 85, após 5, 10, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos de agitação, a 75 °C.

Valores das intensidades dos picos de etanol nas soluções de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, em função do tempo de análise de estudos de RMN <sup>1</sup>H.

Span 20							
Tempo (min)	H <sub>1</sub> (1,16 ppm)	H <sub>2</sub> (1,18 ppm)	H <sub>3</sub> (1,20 ppm)	H <sub>4</sub> (3,63 ppm)	H <sub>5</sub> (3,65 ppm)	H <sub>6</sub> (3,67 ppm)	H <sub>7</sub> (3,68 ppm)
5	2,17338E8	4,2007E8	2,22418E8	6,79652E7	1,88039E8	1,84475E8	6,63E7
10	1,76364E8	3,4615E8	1,81915E8	5,66549E7	1,55663E8	1,51563E8	5,31E7
30	1,71516E8	3,39424E8	1,7541E8	5,30489E7	1,49839E8	1,47012E8	5,00654E7
60	9,0128E7	1,75467E8	9,01569E7	2,71888E7	7,66562E7	7,58305E7	2,63745E7
120	1,27541E7	2,47135E7	1,261E7	3,89205E6	1,09713E7	1,08624E7	3,79635E6
180	1,30122E6	1,6865E6	1,50136E6	547095	714246	727824	576951
240	880403	1,6367E6	904928	277101	677514	718129	265826

Span 40							
Tempo (min)	H <sub>1</sub> (1,16 ppm)	H <sub>2</sub> (1,18 ppm)	H <sub>3</sub> (1,20 ppm)	H <sub>4</sub> (3,63 ppm)	H <sub>5</sub> (3,65 ppm)	H <sub>6</sub> (3,67 ppm)	H <sub>7</sub> (3,68 ppm)
5	2,06649E8	4,07921E8	2,34998E8	7,32276E7	1,84133E8	1,89667E8	7,92466E7
10	1,98831E8	4,02676E8	2,12753E8	6,5E7	1,81674E8	1,81275E8	6,84647E7
30	1,89347E8	3,3174E8	1,87129E8	6,23E7	1,66771E8	1,62844E8	6,36873E7
60	1,34699E8	2,62453E8	1,3677E8	5,21667E7	1,19688E8	1,14128E8	3,71405E7
120	1,15137E8	6,07953E7	5,10538E7	4,62864E7	5,79326E7	1,66268E7	1,98565E7
180	1,0694E6	2,0859E6	1,08047E6	378804	1,02122E6	1,00453E6	400138
240	452962	811433	441913	345763	582827	615869	341672

Span 60							
Tempo (min)	H <sub>1</sub> (1,16 ppm)	H <sub>2</sub> (1,18 ppm)	H <sub>3</sub> (1,20 ppm)	H <sub>4</sub> (3,63 ppm)	H <sub>5</sub> (3,65 ppm)	H <sub>6</sub> (3,67 ppm)	H <sub>7</sub> (3,68 ppm)

<b>5</b>	2,53265E8	4,8545E8	2,5877E8	8,64446E7	2,3552E8	2,36157E8	8,29929E7
<b>10</b>	2,46762E8	4,99604E8	2,50908E8	7,84362E7	2,15784E8	2,1338E8	7,28632E7
<b>30</b>	1,71745E8	3,36268E8	1,79154E8	5,79167E7	1,57726E8	1,56813E8	5,59872E7
<b>60</b>	7,50163E7	1,46437E8	7,7496E7	2,6994E7	7,12862E7	6,91024E7	2,32581E7
<b>120</b>	3,57725E7	7,07537E7	3,68929E7	1,13311E7	3,29021E7	3,23199E7	1,1422E7
<b>180</b>	5,83549E6	1,13446E7	5,91062E6	2,30388E6	5,37572E6	5,37887E6	2,22287E6
<b>240</b>	5,37734E6	9,98696E6	5,38754E6	1,93527E6	5,16751E6	5,12775E6	1,91131E6
<b>Span 65</b>							
<b>Tempo (min)</b>	<b>H<sub>1</sub> (1,16 ppm)</b>	<b>H<sub>2</sub> (1,18 ppm)</b>	<b>H<sub>3</sub> (1,20 ppm)</b>	<b>H<sub>4</sub> (3,63 ppm)</b>	<b>H<sub>5</sub> (3,65 ppm)</b>	<b>H<sub>6</sub> (3,67 ppm)</b>	<b>H<sub>7</sub> (3,68 ppm)</b>
<b>5</b>	2,46172E8	4,85969E8	2,54106E8	7,90286E7	2,17682E8	2,16056E8	7,49883E7
<b>10</b>	2,33971E8	4,60632E8	2,41022E8	7,7996E7	2,12093E8	2,08255E8	7,36232E7
<b>30</b>	2,22117E8	4,24012E8	2,2508E8	7,66057E7	2,06593E8	2,019E8	7,21085E7
<b>60</b>	1,924E8	3,67639E8	1,89961E8	6,25399E7	1,6869E8	1,6073E8	5,52541E7
<b>120</b>	1,91612E7	3,80183E7	1,97907E7	6,09735E6	1,76106E7	1,73007E7	6,07252E6
<b>180</b>	1,94078E6	3,75446E6	1,94157E6	669091	1,78253E6	1,72877E6	597143
<b>240</b>	1,0653E6	1,87346E6	1,05676E6	669988	1,18878E6	1,19347E6	692717

<b>Span 80</b>							
<b>Tempo (min)</b>	<b>H<sub>1</sub> (1,16 ppm)</b>	<b>H<sub>2</sub> (1,18 ppm)</b>	<b>H<sub>3</sub> (1,20 ppm)</b>	<b>H<sub>4</sub> (3,63 ppm)</b>	<b>H<sub>5</sub> (3,65 ppm)</b>	<b>H<sub>6</sub> (3,67 ppm)</b>	<b>H<sub>7</sub> (3,68 ppm)</b>
<b>5</b>	1,87569E8	3,62106E8	1,90634E8	6,241E7	1,704E8	1,68443E8	5,98212E7
<b>10</b>	1,85005E8	3,63773E8	1,87072E8	5,95253E7	1,65551E8	1,64781E8	5,52418E7
<b>30</b>	1,76199E8	3,46235E8	1,77695E8	5,33866E7	1,52373E8	1,49604E8	5,12783E7
<b>60</b>	1,40877E8	2,76456E8	1,41886E8	4,49555E7	1,23177E8	1,20919E8	4,09504E7
<b>120</b>	6,60655E7	1,3024E8	6,72606E7	2,10799E7	5,91766E7	5,72972E7	1,92096E7
<b>180</b>	7,69467E6	1,17804E7	9,37659E6	2,10859E6	5,3905E6	5,23241E6	2,23056E6
<b>240</b>	6,17276E6	1,16814E7	6,24773E6	2,05167E6	4,24854E6	4,33682E6	1,74189E6

Span 85							
Tempo (min)	H <sub>1</sub> (1,16 ppm)	H <sub>2</sub> (1,18 ppm)	H <sub>3</sub> (1,20 ppm)	H <sub>4</sub> (3,63 ppm)	H <sub>5</sub> (3,65 ppm)	H <sub>6</sub> (3,67 ppm)	H <sub>7</sub> (3,68 ppm)
5	2,05569E8	4,05027E8	2,09835E8	6,32375E7	1,76956E8	1,73261E8	5,95905E7
10	1,85005E8	3,63773E8	1,87072E8	5,95253E7	1,65551E8	1,64781E8	5,52418E7
30	1,19207E8	2,30154E8	1,20599E8	3,80439E7	9,98912E7	9,78842E7	3,37189E7
60	7,56054E7	1,48629E8	7,76134E7	2,46398E7	6,78592E7	6,67706E7	2,30228E7
120	2,13665E7	4,17032E7	2,17472E7	6,70362E6	1,85952E7	1,80295E7	6,17793E6
180	5,06272E6	5,06272E6	4,21304E6	531389	1,42782E6	1,44594E6	635814
240	1,16906E6	2,22047E6	1,25776E6	343062	965881	969372	356550

Valores dos desvios químicos (ppm) dos picos de etanol das soluções de Span 20, 40, 60, 65, 80 e 85, em função do tempo por estudos de RMN <sup>1</sup>H.

Span 20	5min	10min	30min	1h	2h	3h	4h
	3.685	3.687	3.686	3.688	3.688	3.688	3.684
	3.668	3.669	3.669	3.670	3.670	3.670	3.670
	3.650	3.651	3.651	3.652	3.653	3.652	3.653
	3.632	3.633	3.633	3.635	3.635	3.634	3.638
	1.204	1.204	1.204	1.205	1.205	1.205	1.205
	1.186	1.186	1.186	1.187	1.187	1.187	1.187
	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169
Span 40	5min	10min	30min	1h	2h	3h	4h
	3.686	3.687	3.686	3.687	3.688	3.688	3.686
	3.668	3.669	3.669	3.669	3.671	3.671	3.672
	3.650	3.651	3.651	3.652	3.653	3.653	3.654
	3.633	3.634	3.633	3.634	3.635	3.635	3.640
	1.204	1.204	1.204	1.204	1.205	1.205	1.205
	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187

---

	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.170
--	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

---

<b>Span 60</b>	<b>5min</b>	<b>10min</b>	<b>30min</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>
	3.686	3.686	3.686	3.687	3.688	3.689	3.689
	3.668	3.668	3.668	3.669	3.671	3.671	3.672
	3.651	3.651	3.651	3.652	3.653	3.653	3.654
	3.633	3.633	3.633	3.634	3.635	3.636	3.637
	1.204	1.204	1.204	1.204	1.205	1.205	1.205
	1.187	1.187	1.186	1.187	1.187	1.187	1.187
	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.170	1.170

---

<b>Span 65</b>	<b>5min</b>	<b>10min</b>	<b>30min</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>
	3.686	3.685	3.686	3.687	3.688	3.688	3.688
	3.668	3.668	3.669	3.669	3.671	3.670	3.671
	3.650	3.650	3.651	3.652	3.653	3.653	3.653
	3.633	3.632	3.633	3.634	3.635	3.635	3.636
	1.204	1.204	1.204	1.204	1.205	1.205	1.205
	1.187	1.186	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187
	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.170

---

---

<b>Span 80</b>	<b>5min</b>	<b>10min</b>	<b>30min</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>
	3.686	3.686	3.687	3.687	3.688	3.688	3.688
	3.668	3.669	3.669	3.670	3.671	3.671	3.671
	3.650	3.651	3.652	3.652	3.653	3.653	3.653
	3.633	3.633	3.634	3.634	3.635	3.635	3.636
	1.204	1.204	1.205	1.205	1.205	1.205	1.205
	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187	1.187
	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169

---

<b>Span 85</b>	<b>5min</b>	<b>10min</b>	<b>30min</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>
	3.685	3.686	3.686	3.687	3.688	3.687	3.687
	3.667	3.668	3.668	3.670	3.670	3.670	3.669
	3.649	3.650	3.650	3.652	3.652	3.652	3.652
	3.632	3.632	3.633	3.634	3.634	3.634	3.634
	1.204	1.204	1.204	1.205	1.204	1.204	1.204
	1.186	1.186	1.186	1.187	1.186	1.186	1.187
	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169	1.169

---



# Development of sugar based biodegradable nanoencapsulators: Understanding the role of the alcohol injection method on the preparation of aqueous dispersions of sorbitan ester vesicles

Andreia A.S. Alves <sup>a,\*</sup>, Pedro F. Cruz <sup>b</sup>, Rui M.M. Brito <sup>b</sup>, Eloi Feitosa <sup>a</sup>, Filipe E. Antunes <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Physics, São Paulo State University, São José do Rio Preto, SP, Brazil

<sup>b</sup> Coimbra Chemistry Centre, Department of Chemistry, University of Coimbra, 3004-535 Coimbra, Portugal

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 7 September 2018

Received in revised form 3 December 2018

Accepted 7 December 2018

Available online 08 December 2018

### Keywords:

Sugar-based surfactants

Vesicles

Biodegradable surfactants

Span

Alcohol injection method

## ABSTRACT

Global environmental concerns on the production, usage and disposal of multiple human-made products have encouraged the study and development of new more ecological materials based on or inspired by biomolecules that may ultimately replace the current existing options. These efforts include the development of sugar-based surfactants. They have been increasingly adopted in selected applications to replace conventional surfactants. Sorbitan ester is a good example of a sugar-based surfactant already in use in the food industry as an emulsifier agent. However, in aqueous solution, the use of this type of surfactants is highly limited as nanocompartments due to their low water solubility. This problem can be overcome by using the alcohol injection method (AIM), where a small amount of alcohol is mixed with the surfactant in water to produce dispersed vesicles. Since the formation of sorbitan ester vesicles are of enormous interest for the nanoencapsulation of active substances for various applications, from food to cosmetics and pharmaceuticals, it is crucial to develop efficient ways to produce these aggregates via the alcohol injection method. The present work reports a study of the role of the alcohol structure on the formation of nanostructures of sorbitan ester. Methanol, ethanol and 2-propanol were selected to evaluate the influence of the alcohol alkyl chain length on the formation and stabilization of the vesicles. Some of the alcohol solutions were evaporated in order to probe the stability of the aggregates even after alcohol removal. Analysis by dynamic light scattering (DLS) and <sup>1</sup>H NMR have shown a direct relation between the size of the alcohol's alkyl chain and the size of the formed sugar-based vesicles. Additionally, it is clear that the alcohol molecules remain in the vesicle, even after the evaporation process.

The obtained results demonstrate that it is possible to control the size of the sugar-based sorbitan ester vesicles using the alcohol injection method. Hopefully, this research will encourage and enable the use of nanocompartments in a wider range of applications.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Vesicles are self-assembled nanostructures formed by dilute mixtures of surfactants in water. They are usually spherical and can experience either monolayer or multilayer architectures and they can be of spontaneous [1–3] or non-spontaneously formation [4]. The advantage of using such nanocompartments in several applications is their elegant ability of compartmentalizing both hydrophobic and hydrophilic molecules. Modern directions of green chemistry include the use of sugar-based surfactants as the main constituent of nanocompartments such as vesicles. Sorbitan esters (Spans) are one of the main classes of sugar-based surfactants [5]. These non-ionic surfactants possess both the common environmental characteristics of other sugar-based

surfactants - in particular their high biodegradability, bioavailability and non-toxicity - and unique advantages as emulsifier agents [6,7]. These properties have increased the application of Spans in different industrial fields such as foods. Spans are molecules with high lipophilic character showing hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values between 1 and 9 [8]. Their hydrophilic/hydrophobic character is directly influenced by the Span's esterification degree: high esterification degrees lead to low HLB values and poor water solubility. Therefore, Spans can be insoluble or slightly soluble in water, depending on their HLB value, and can be used as emulsifiers both in W/O (water/oil) emulsions and (as co-surfactants) in some O/W emulsions [8–13]. However, the architecture of most Spans renders the formation of vesicles difficult, mostly because of their frequently high critical packing parameter. Since vesicles are desired for many controlled release applications, different methods of preparation have been tested and implemented. One of the most intriguing technique described in the literature is the

\* Corresponding author.  
E-mail address: [fcea@ci.uc.pt](mailto:fcea@ci.uc.pt) (A.A.S. Alves).

ethanol injection method, developed in 1973 by Batzri and Korn, who produced, for the first time and without sonication, liposomes using the ethanol injection method [14]. In this method, surfactant molecules are solubilized in ethanol and the mixture is then quickly injected in water, leading to the mixture of both phases and the spontaneous self-assembly of the surfactant molecules, with formation of bilayers [14,15].

The alcohol injection method (AIM) is nowadays one of the most used methods to prepare vesicles, as it is a rapid and simple process, facilitating the formation of small vesicles simply by injecting an alcoholic solution in water, followed by the evaporation of the alcohol. It is a reproducible process, inexpensive, nontoxic, and it does not involve forces that can break the vesicles or encapsulated molecules [4,16–21].

The vesicle size depends on the variables considered when applying the injection method, such as injection velocity, alcohol and surfactant concentrations, stirring rate, and temperature at the injection moment [4,17].

The alcohol injection method is not restricted to ethanol, but instead other alcohols can be used. Alcohols are known modulators of the vesicle bilayer properties and induce structural effects on vesicle membranes [17,22,23].

Although the AIM is well accepted among researchers, some open questions are, to the best of our knowledge, still unanswered in the literature. In this paper we aim to understand the role of the AIM in the formation of vesicles composed of water insoluble surfactants, as well as to understand if the role of the alcohol is merely of a “catalyst” of the vesicle formation or if it actively integrates the final structure. These open considerations are investigated by applying the AIM to produce vesicles of various Spans, using methanol, ethanol and 2-propanol as test alcohols. NMR spectroscopy was used to investigate the presence of the alcohol molecules in the bilayer as well as the influence of the alcohol's alkyl chain length on its structure.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

Sorbitan esters 20, 40, 60, 65, 80 and 85, shown in Fig. 1, were purchased from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil) and used without any further purification. For the injection method, methanol (purity 99,8%), ethanol (purity 95,0%) and 2-propanol (purity 99,5%) were purchased from Sigma-Aldrich (Portugal), and water of Millipore® quality was used.

### 2.2. Production of span vesicles by the AIM

The AIM was used for the preparation of Span vesicles following the general procedure reported in the literature [14]. Span 20, 40, 60, 65, 80 and 85 vesicles were produced in the concentration range of 10 mM and diluted to concentrations of 1, 0.5, 0.25 and 0.1 mM. Three alcohols with different chain lengths - methanol, ethanol and 2-propanol - were used as solubilization media for the Spans. The Span methanolic, ethanolic and propanolic solutions were injected into ultrapure water above the boiling temperatures of the alcohols (67 °C, 80 °C and 85 °C for the methanol, ethanol and 2-propanol solutions, respectively). The solutions were stirred at 1500 rpm for 5 min. The pH of all solutions obtained by alcohol injection method was measured and verified to be neutral.

### 2.3. $^1\text{H}$ NMR

$^1\text{H}$  NMR spectra were obtained in a Bruker Avance III spectrometer, operating at 400 MHz. Deuterated water ( $\text{D}_2\text{O}$ ) was added to the vesicles solutions, in a percentage ratio of 10%:90%, respectively, with 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic acid (DSS) as reference.

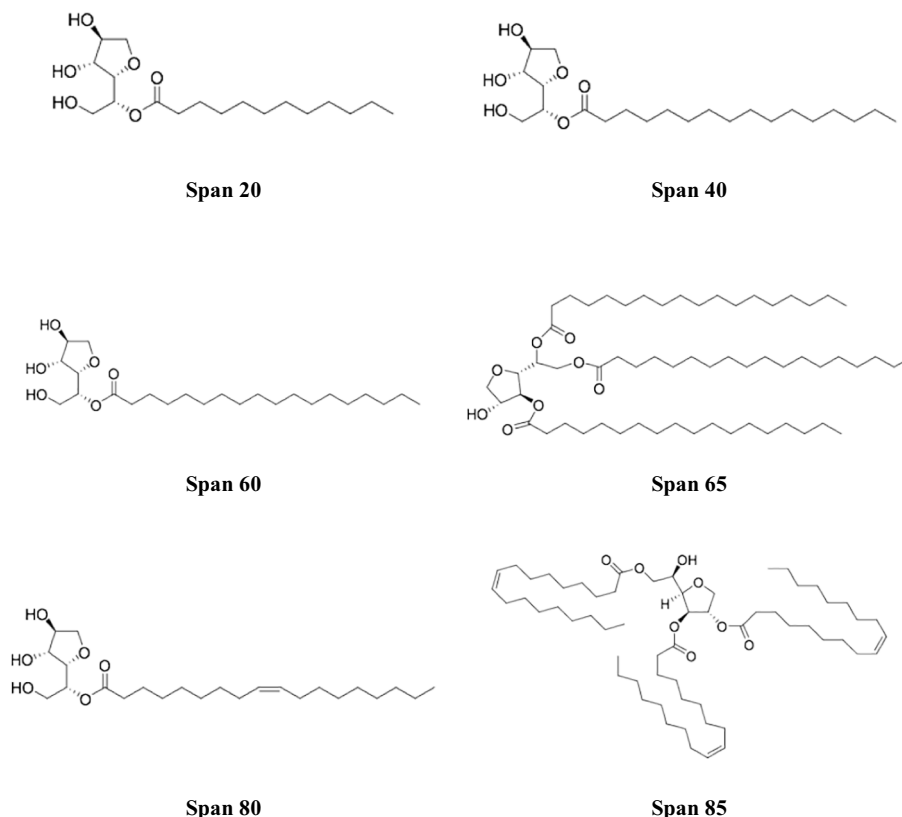


Fig. 1. Molecular structures of Span molecules.



$^1\text{H}$  NMR chemical shift changes of ethanol were evaluated after 5, 10, 30, 60, 120, 180 and 240 min of stirring at 75 °C.

#### 2.4. Aggregate size measurements

Vesicle size was evaluated by dynamic light scattering (DLS) in a Malvern Zetasizer from Malvern Instruments Ltd., equipped with a 633 nm laser as light source. The detector angle relative to the laser was 173°, and all the measurements were taken in triplicate at 25 °C. The vesicles size distribution (in nm) was determined and the mean and standard deviation of the 3 measurements were calculated for all the dispersions obtained by the AIM, after 5 min of stirring. The solutions obtained by the alcohol injection method were analyzed after 240 min of stirring (above the boiling temperature of each alcohol) to monitor the dependence of the vesicle size on the stirring time.

#### 2.5. Transmission electronic microscopy (TEM)

Vesicles images of selected systems were obtained in a transmission electronic microscopic TEM Hitachi HT – 7700, with a tungsten filament with acceleration voltage of 100 kV, in high resolution, equipped with a dispersive energy spectrometer XFLASH detector, 5030 model from Bruker with 133 eV resolution. Sample drops were added to a form-coated copper grid and allowed to dry at room temperature before analyzed in the microscope.

### 3. Results and discussion

The evaluation of the presence of alcohol molecules in the Span vesicle formed by the injection method is described in this section. The results obtained by DLS and  $^1\text{H}$  NMR show interesting features that allow one to understand the role of the alcohols in vesicle preparation.

#### 3.1. Vesicle micrographs by TEM

Selected Span systems (a 1 chain Span – Span 40 – and a 3 chains Span – Span 65) were chosen among all the Span molecules due to their representative architecture regarding the length and the number of chains. TEM images of the two systems, at 1 mM, either obtained by methanol, ethanol and 2-propanol injection method, are illustrated in Fig. 2.

From the analysis of the Fig. 2, we conclude that AIM stabilizes vesicular structures, even with water-insoluble surfactants such as Span 40 and Span 65. Sugar based vesicles are present and show diameters within the range of 100–700  $\mu\text{m}$ . The samples show moderate polydispersity, nonetheless the sizes of the vesicles measured by TEM are in agreement with the sizes obtained by DLS, as shown in the next section.

#### 3.2. Vesicle size by DLS

Fig. 3 shows the effects of Span concentration on the size of the Span vesicles, obtained by the methanol, ethanol and 2-propanol injection methods.

Through the analysis of Fig. 3, the influence of the different types of alcohols in vesicles size is clear: alcohols with longer chains lead to larger aggregates, while alcohols with shorter chains lead to smaller aggregates.

Dalton et al., and Huang et al., proved that the addition of ethanol deteriorates the molecular order of the bilayers, although a small amount (6–7%) will induce their interdigitation and help the process of vesicle formation [17,23].

The relation between the alcohol chain length and the size of the formed vesicles may be related to the fact that some non-negligible amount of alcohol remains in the mixtures after the standard evaporation procedure. Alcohol stabilizes the vesicle dispersion and there

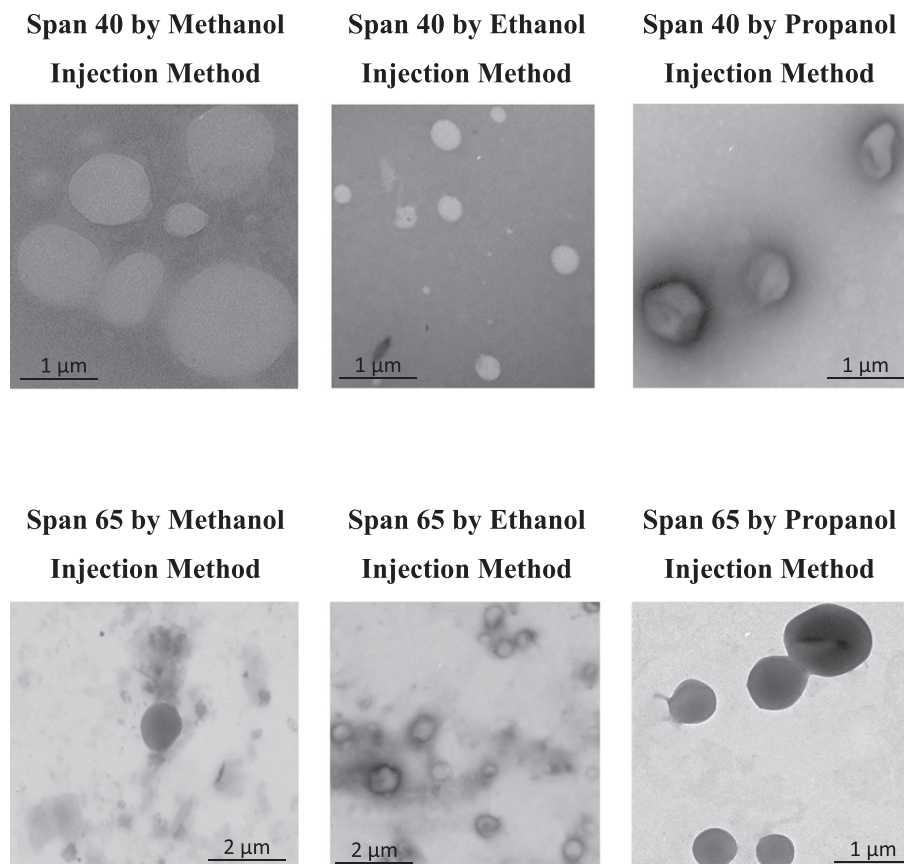
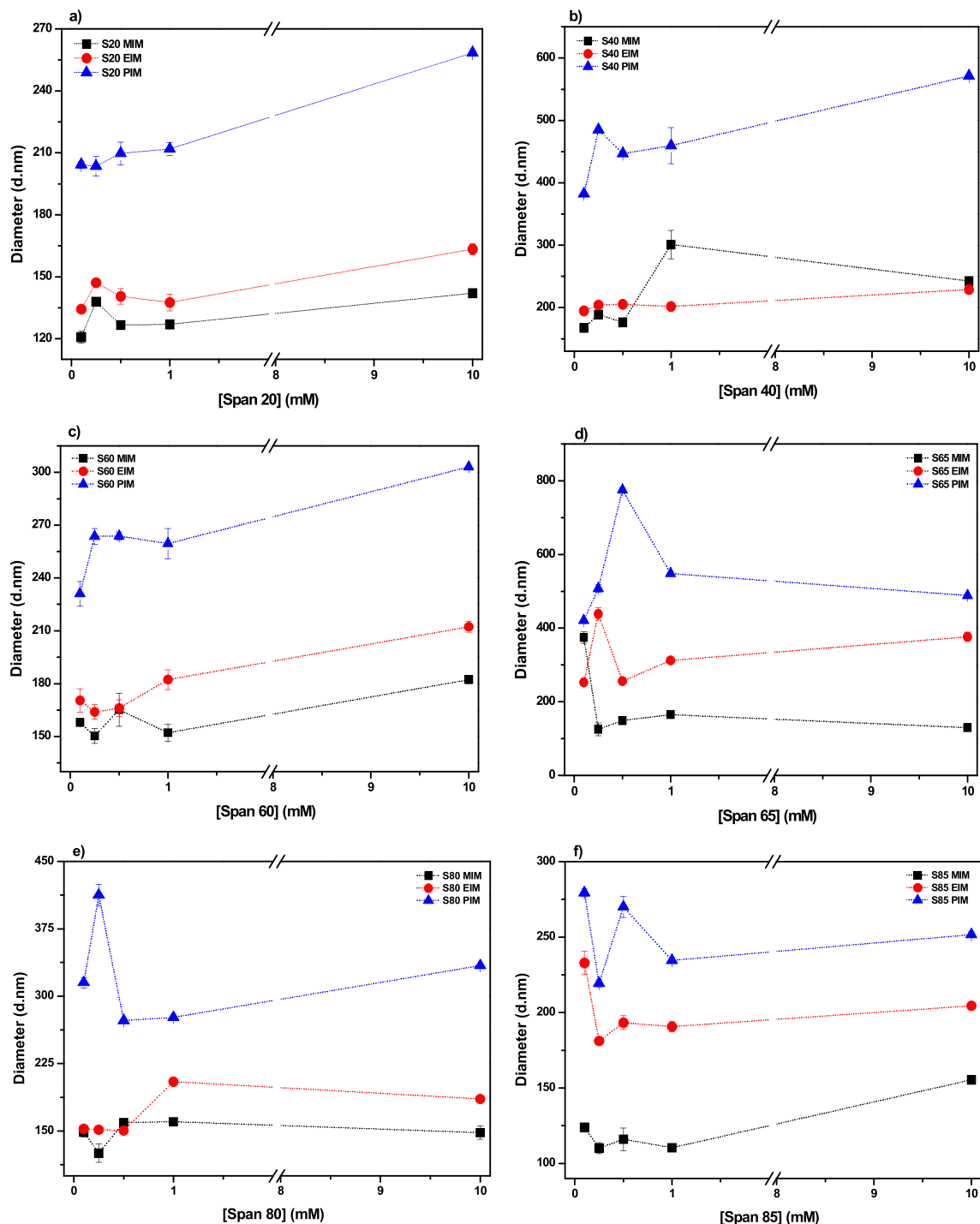


Fig. 2. TEM images showing the presence of vesicles in the systems composed of Span 40 and Span 65, formed by either methanol, ethanol and 2-propanol injection method.



**Fig. 3.** DLS results evidencing the relationship between Span concentration, aggregate size, and alcohol molecules length, for the systems obtained by the injection method with methanol (MIM, black squares), ethanol (EIM, red circles) and 2-propanol (PIM, blue triangles). The studied span concentrations are 0.1, 0.25, 0.5, 1 and 10 mM of a) Span 20; b) Span 40; c) Span 60; d) Span 65; e) Span 80 and f) Span 85. All systems' pH was verified to be neutral. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

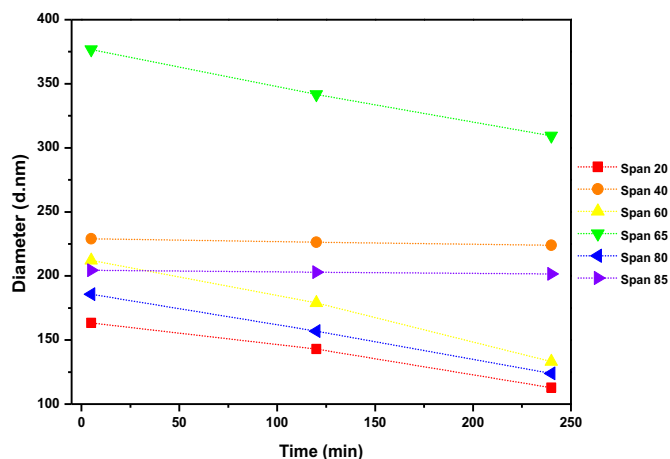
should be a greater penetration of the shorter alcohols in the surfactant polar group, causing a more pronounced increment of the hydrophilic segment of the Span, and a decrease of the critical packing parameter and, therefore, yielding a higher curvature and a smaller aggregate size.

The concentration of Span slightly affects the vesicle size. Even though there is no linear dependence at low concentrations, the aggregate size increases upon the addition of higher amounts of surfactant. This could be explained by the formation of larger multilamellar vesicles

(MLV). This is supported, for instance, by Huang et al. and Lasic [4,17] who reported that the use of injection methods generates MLV.

The dependence of the size of the AIM vesicles on the stirring time at 75 °C is shown in Fig. 4.

Fig. 4 shows that, after stirring for 240 min (6 h) at 75 °C, the size of the Span vesicles decreases slightly. This can be explained by the higher solubility of sorbitan in water than in ethanol. The Span headgroups (sorbitan) loses their direct contact with ethanol molecules, while the ethanol present in the layer adjacent to the vesicles is progressively



**Fig. 4.** Dependence of the Span vesicle diameter on the stirring time, at 75 °C. The Span dispersions were obtained by the ethanol injection method. The temperature of the DLS test was kept constant at 25 °C.

evaporated at 75 °C. The higher solubility of the sorbitan in water leads to a larger volume occupied by the Span headgroup in the absence of ethanol. Therefore, the critical packing parameter of the Span increases and lower sizes may be observed. There should be, however, a fraction of ethanol molecules that resists to the evaporation and are still present inside the bilayer, due to their higher boiling point.

Alcohols with short chain lengths, like methanol or ethanol should display less ability to disturb the vesicle bilayers, as supported by other authors [22,23]. Alcohols have their hydroxyl group in the interfacial region of the bilayer, while their hydrophobic groups are located inside the hydrophobic nucleus of the bilayer, thus affecting the packaging of the surfactant chains, as illustrated schematically in Fig. 5. Each additional  $-\text{CH}_2$  group in the alcohol chain increases the partition coefficient of the alcohol inside the bilayer, as described elsewhere [22].

Patra et al. used computational simulations to clarify the behavior of selected alcohols in bilayers. They concluded that, besides the tendency of the alcohols to be located inside the bilayer, short chain alcohols such as ethanol are located near the oxygen of the ester bond of the surfactants and that most of the alcohol molecules participate in hydrogen bonds with the surfactants [24]. This model is of crucial relevance to understand the behavior of the present surfactant system. Alcohols with a

longer chain possess higher affinity to the surfactants hydrophobic segments and thus will be preferentially located inside the bilayer. This aspect has a tremendous impact on vesicle architecture.

Although the AIM involves an evaporation step, the complete solubilization of the Span molecules in water supports the idea that the alcohols are integrating the vesicle structure, with ethanol and 2-propanol having greater tendency to be located within the bilayer, when compared to methanol.

The increase of the vesicle sizes with the chain length of the alcohol molecules is then explained by a more pronounced penetration degree of the larger chains in the bilayer.

### 3.3. $^1\text{H}$ NMR studies of span vesicles obtained by the ethanol injection method

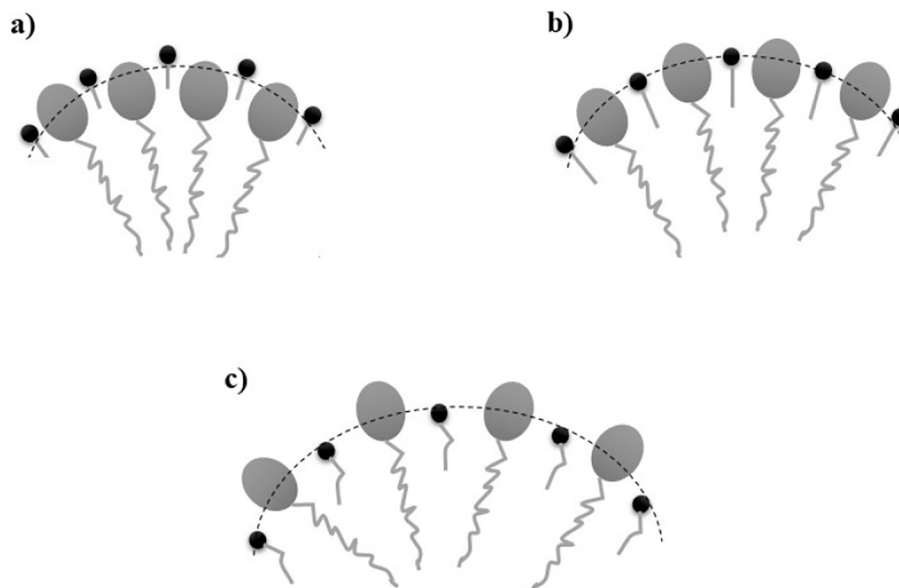
The formation of the Span vesicles upon using the alcohol injection method (even their stabilization after the alcohol evaporation step), could be explained by the presence of some alcohol molecules around the surfactant headgroups. To verify this hypothesis, the presence of alcohol molecules was evaluated by the changes in the chemical shifts of the ethanol signals in  $^1\text{H}$  NMR results Fig. 6 shows the influence of the stirring time, at 75 °C, on the  $^1\text{H}$  NMR spectra of the Span nanostructures, obtained by ethanol injection method.

Based on the analysis of Fig. 6, it can be verified that the intensity of the ethanol peaks in solution clearly decreases with the stirring time. The data shows that after stirring for 5 min at 75 °C, a large amount of ethanol still remains in the dispersions. Major evaporation of ethanol requires a minimum of 180 min stirring at 75 °C. However, ethanol is still detected even after 240 min (4 h). This is in agreement with the hypothesis that predicts the alcohol molecule as a vesicle stabilizer.

For a clear visualization of the changes in the intensity of the NMR peaks of ethanol with stirring time, we plotted the intensity values of each peak of the observed multiplet of the ethanol spectra in  $\text{D}_2\text{O}$ , for each Span molecule, as shown in Fig. 7. The representation of the chemical shifts from each peak of the triplet from ethanol spectra, is shown in the supporting information, Fig. A.

Based on the results depicted in Fig. 7, it can be observed that the multiplet chemical shifts characteristic of ethanol molecules are sensitive to the stirring time at 75 °C (the same effect was verified for the triplet, see Supporting information).

After stirring for 5 min at 75 °C, the chemical shifts of ethanol for all the Span dispersions are the same the chemical shifts pure ethanol. This

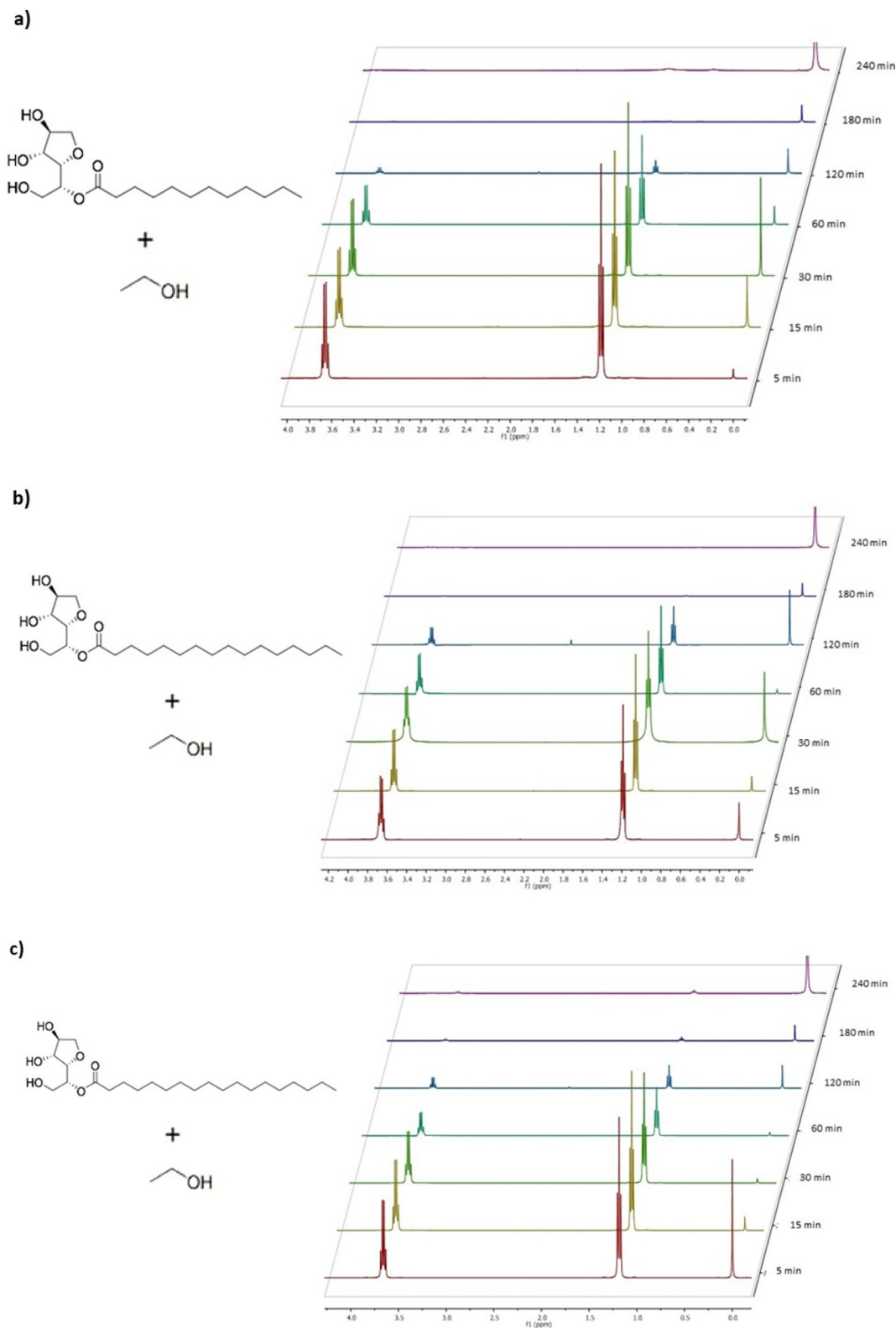


**Fig. 5.** Schematic representation of the influence of the alcohol chain length on the size of the vesicles prepared by a) methanol, b) ethanol and c) 2-propanol injection methods.

supports the role of the alcohol in the Span vesicle formation when using AIM. Ethanol molecules are still present in the dispersion after the 5 min stirring timepoint.

The peaks corresponding to the surfactant molecules can be detected at a higher resolution of the  $^1\text{H}$  NMR spectrum, as shown in Fig. 8.

By increasing the stirring time, and maintaining the temperature at  $75^\circ\text{C}$ , the ethanol molecules start to evaporate, and their concentration in the solution gradually decreases. Within the time range of 180–240 min of continuous stirring it can be concluded that most of the ethanol in the dispersions is evaporated.



**Fig. 6.**  $^1\text{H}$  NMR spectra of vesicular dispersions of a) Span 20, b) Span 40, c) Span 60, d) Span 65, e) Span 80 and f) Span 85, obtained by the ethanol injection method, at  $75^\circ\text{C}$ , after stirring for 5 min (–), 15 min (–), 30 min (–), 60 min (–), 120 min (–), 180 min (–) and 240 min (–). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

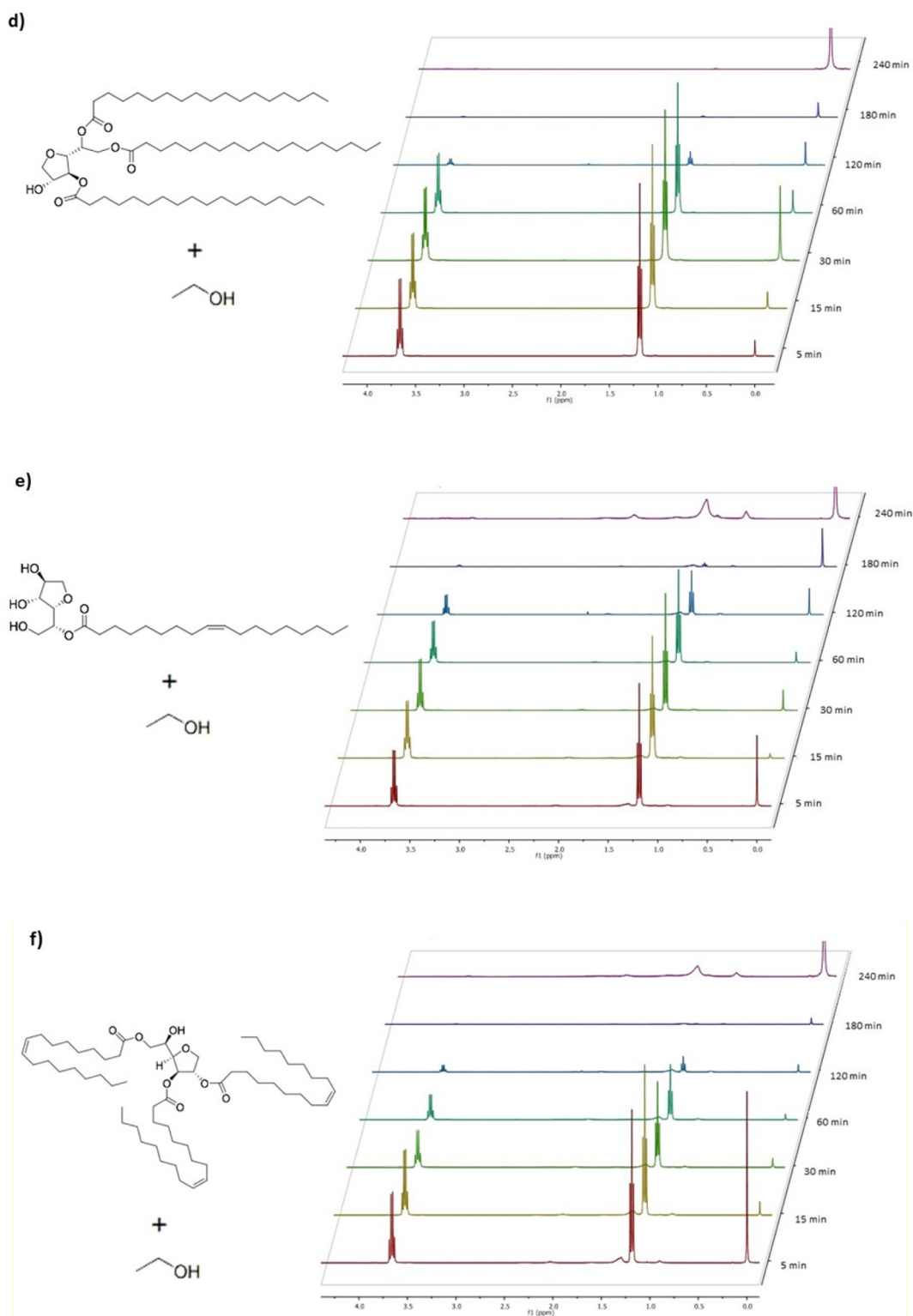
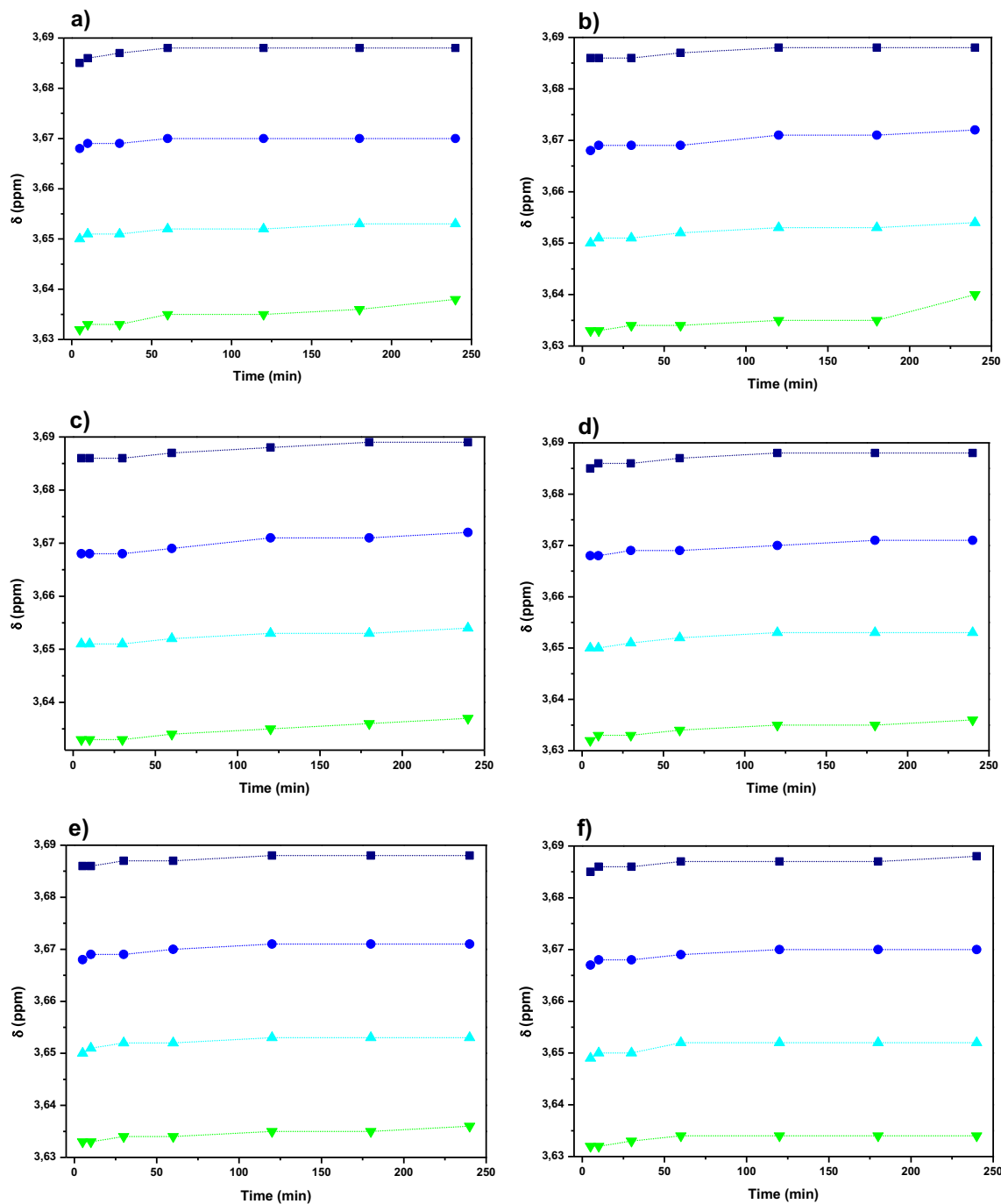


Fig. 6 (continued).

Chemical shifts of the peaks 1, 2, 3 and 4 of the ethanol multiplet are 3.685, 3.668, 3.650 and 3.632 ppm, respectively. They are in line with the  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts of the ethanol-Span-water dispersions, after stirring for 5 min at 75 °C, as reported above. However, longer stirring times lead to visible changes in the chemical shifts. As the ethanol present in the bulk evaporates, the signal of the ethanol present in the vicinity of the surfactant headgroups becomes more visible and thus the ethanol peaks appear at slightly higher chemical shifts.

The hydroxyl group from ethanol that solvates the surfactant molecules might couple with the hydroxyl group of the surfactant through hydrogen bonds affecting the methylene protons and thus explaining their higher chemical shifts.

On the other hand, the protons from the triplet signal (see Supporting information) corresponding to the methyl group of ethanol are not substantially affected by the neighboring atoms as they are only sensitive to the presence of the methylene protons.



**Fig. 7.** Representation of the chemical shifts changes of the ethanol multiplet, in a) Span 20; b) Span 40; c) Span 60; d) Span 65; e) Span 80; f) Span 85 solutions at 10 mM, as a function of stirring time, at 75 °C.

This study allowed one to understand Span vesicle formation via AIM. The hydroxyl groups of the alcohols are interacting with the hydroxyl groups of the surfactant headgroups, through hydrogen bonds. Additionally, it was shown that the vesicle size can be controlled by the alcohol chain length; i.e., depending on the alcohol chain length, the alcohol can be located either inside or outside the bilayer which, in turn, has a crucial impact on the vesicle curvature, size and stability.

#### 4. Conclusions

Span molecules are one of the most important class of sugar-based surfactants which have been used mainly in W/O emulsions. Due to their water insolubility the use of this class of sugar surfactants has

been very limited in aqueous systems. To overcome this limitation, the AIM was applied to easily produce aqueous dispersions of Span vesicles. The AIM is one of the most used methods to produce vesicles. One of the most important advantage of this method is the production of vesicles from water insoluble amphiphiles, once these molecules are previously solubilized in an organic solvent.

Span 20, 40, 60, 65, 80 and 85, were solubilized in three different alcohols (methanol, ethanol and 2-propanol), to evaluate the influence of the alcohol chain length on the vesicle size. DLS analysis allowed to conclude that the alcohol chain length clearly affects the vesicle size. Alcohols with longer chain lengths lead to the formation of larger aggregates as they can penetrate deeper in the layer thus creating a larger space between the tail of the Spans which would otherwise be

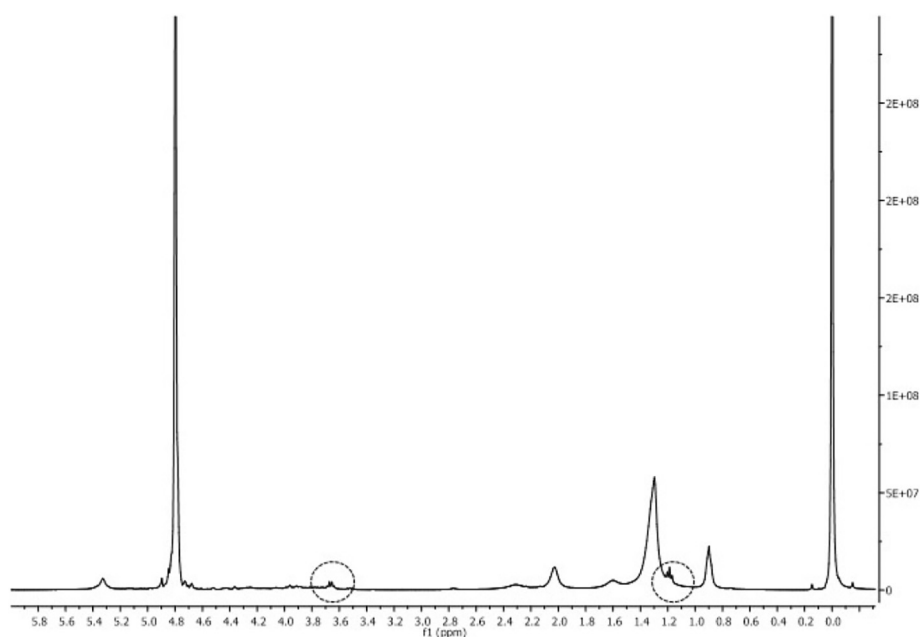


Fig. 8. Representation of the Span 40  $^1\text{H}$  NMR spectra after 240 min, at 75 °C, obtained by ethanol injection method.

more tightly packed. This evidence was supported by  $^1\text{H}$  NMR studies of the Span vesicles dispersions, obtained by the ethanol injection method, demonstrating that ethanol molecules are still present after the stirring process at 75 °C, although at low amounts, as the heated stirring step evaporates mainly the ethanol molecules in the aqueous bulk, but not the alcohol molecules already present in the vesicle structure. The chemical shifts in the ethanol spectra suggest that the non-evaporated ethanol molecules are interacting with the hydroxyl groups of the surfactant's polar groups.

The results show that the size of the sugar based biodegradable Span vesicles can be easily controlled by using appropriate alcohol chain lengths in the AIM. This could give room to a wider use of such encapsulators in aqueous applications that require green surfactants, as foods, pharmaceutical or cleaning agents.

### Acknowledgments

This work was supported by CAPES (Brazil) with PVE project n° 88887.116568/2016-00.

NMR data was collected at the UC-NMR facility which is supported in part by FEDER – European Regional Development Fund through the COMPETE Programme (Operational Programme for Competitiveness) and by National Funds through FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Portuguese Foundation for Science and Technology) through grants REEQ/481/QUI/2006, RECI/QEQ-QFI/0168/2012, CENTRO-07-CT62-FEDER-002012, and Rede Nacional de Ressonância Magnética Nuclear (RNRMN). A sincere thank you to Dr. Sonia Fiuza for her diligent proofreading of this paper.

### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.12.049>.

### References

- [1] E.W. Kaler, et al., Phase behavior and structures of mixtures of anionic and cationic surfactants, *J. Phys. Chem.* 96 (16) (1992) 6698–6707.
- [2] F.E. Antunes, et al., Polymer-vesicle association, *Adv. Colloid Interf. Sci.* 147–148 (2009) 18–35.
- [3] S. Santos, et al., *Amphiphilic Molecules in Drug Delivery Systems*, Springer, 2013.
- [4] D.D. Lasic, The mechanism of vesicle formation, *Biochem. J.* 256 (1) (1988) 1–11.
- [5] C.B.C. Ruiz, *Sugar-based Surfactants: Fundamentals and Applications*, CRC Press/Taylor & Francis, 2009 639.
- [6] Z. Wang, M. Fingas, Analysis of sorbitan ester surfactants. Part I: high performance liquid chromatography, *J. High Resolut. Chromatogr.* 17 (1) (1994) 15–19.
- [7] T. Cottrell, J.V. Peij, *Sorbitan Esters and Polysorbates*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2014 271–296.
- [8] S. Baek, J. Min, J.W. Lee, Equilibria of cyclopentane hydrates with varying HLB numbers of sorbitan monoesters in water-in-oil emulsions, *Fluid Phase Equilib.* 413 (2016) 41–47.
- [9] K. Kato, et al., Temperature-sensitive nonionic vesicles prepared from span 80 (sorbitan monooleate), *Langmuir* 24 (19) (2008) 10762–10770.
- [10] H. Kim, et al., Formation of stable adhesive water-in-oil emulsions using a phospholipid and cosurfactants, *J. Ind. Eng. Chem.* 55 (2017) 198–203.
- [11] A. Takamura, et al., Effects of tween and span group emulsifiers on the stability of o/w emulsions, *Chem. Pharm. Bull.* 27 (12) (1979) 2921–2926.
- [12] F.-F. Tian, et al., Determination of emulsion explosives with Span-80 as emulsifier by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1218 (22) (2011) 3521–3528.
- [13] G. Lv, et al., Characterization of the addition of lipophilic Span 80 to the hydrophilic Tween 80-stabilized emulsions, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 447 (2014) 8–13.
- [14] S. Batzri, E.D. Korn, Single bilayer liposomes prepared without sonication, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 298 (4) (1973) 1015–1019.
- [15] S.M. Phapal, P. Sunthar, Influence of micro-mixing on the size of liposomes self-assembled from miscible liquid phases, *Chem. Phys. Lipids* 172–173 (2013) 20–30.
- [16] R. Naeff, Feasibility of topical liposome drugs produced on an industrial scale, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 18 (3) (1996) 343–347.
- [17] J.B. Huang, et al., Vesicle formation of a 1:1 cationic surfactant mixture in ethanol solution, *Langmuir* 13 (21) (1997) 5759–5761.
- [18] M. Fan, et al., Preparation of solidoside nano-liposomes by ethanol injection method and in vitro release study, *Eur. Food Res. Technol.* 227 (1) (2008) 167–174.
- [19] M. Pons, M. Foradada, J. Estelrich, Liposomes obtained by the ethanol injection method, *Int. J. Pharm.* 95 (1–3) (1993) 51–56.
- [20] P. Quagliotto, et al., Synthesis and properties of new glucocationic surfactants: model structures for marking cationic surfactants with carbohydrates, *J. Org. Chem.* 70 (24) (2005) 9857–9866.
- [21] C. Sebaaly, et al., Effect of composition, hydrogenation of phospholipids and lyophilization on the characteristics of eugenol-loaded liposomes prepared by ethanol injection method, *Food Biosci.* 15 (2016) 1–10.
- [22] H.I. Ingólfsson, O.S. Andersen, Alcohol's effects on lipid bilayer properties, *Biophys. J.* 101 (4) (2011) 847–855.
- [23] L.A. Dalton, K.W. Miller, Trans-unsaturated lipid dynamics: modulation of dielaidoylphosphatidylcholine acyl chain motion by ethanol, *Biophys. J.* 65 (4) (1993) 1620–1631.
- [24] M. Patra, et al., Under the influence of alcohol: the effect of ethanol and methanol on lipid bilayers, *Biophys. J.* 90 (4) (2006) 1121–1135.

## TERMO DE REPRODUÇÃO XEROGRÁFICA

Autorizo a reprodução xerográfica do presente Trabalho de Conclusão, na íntegra ou em partes, para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 25 / 03 / 2019

*Andressa Alexandra dos Santos Alves*

Assinatura do autor