



Solange Sá Magalhães

Produtos de Limpeza: Incorporação de novos tensioativos e sais Estudo de formulações biodegradáveis

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Solange Sá Magalhães

**PRODUTOS DE LIMPEZA:
INCORPORAÇÃO DE NOVOS TENSIOATIVOS E SAIS**
Estudo de formulações biodegradáveis

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química, Área de especialização em
Controlo da Qualidade e Ambiente**

Professor Doutor Filipe Antunes

Co-orientador: Mestre Luís Alves
Engenheiro Marco Sebastião

Setembro 2014

Universidade de Coimbra

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra



Produtos de Limpeza: incorporação de novos tensioactivos e sais

Estudo de formulações
Biodegradáveis

Orientador: Doutor Filipe Antunes

Co-orientador: Mestre Luís Alves

Engenheiro Marco Sebastião

Solange Sá Magalhães

Coimbra

2014

CONFIDENCIAL

NÓS E OS DETERGENTES “GREEN” (NOTA PESSOAL)

O que será vivermos repletos de cinzento, de escuridão provocada pelas nuvens de poluição, smog? O que será do Mundo, ou até mesmo do Universo, se deixarmos de ser o Planeta azul? Seremos um planeta perdido na imensidão da escuridão do Universo?

Que graça teria olhar de manhã pela janela do quarto e ver a natureza morta, sem iluminação?

Olharmos um rio repleto de manchas negras com camadas de reflexos provocados pelas escamas dos peixes mortos a boiar?

De noite não haver estrelas no céu, viver o quotidiano da vida sem cor à escuridão da noite?

“Nas últimas décadas o cuidado com o meio ambiente vem aumentando significativamente. “

Cada vez mais a indústria, o desenvolvimento têm ponderado sobre os caminhos a seguir, para que possamos continuar a sorrir, para continuarmos a ver cor. Para conseguirmos ver o verde da natureza, o azul dos rios, o brilhante das estrelas no céu, para continuarmos a ter vontade de nos levantarmos pela manhã e vir para a rua inalar o prazeroso aroma da vida.

“Políticos, Cientistas e grupos ecológicos têm movimentado a opinião pública de tal forma que a legislação tem limites de emissão bem definidos para diversos processos e atividades industriais. “

A Mistolin, uma empresa de detergentes, é partidária nesta conduta. Um dos objetivos da Empresa é proteger o meio ambiente e o ser Humano, tendo cada vez mais produtos com uma excelente qualidade, mas sempre “GREEN”, produtos que não alterem a cor verde, para cinzento e o azul para preto.

Solange Magalhães

Agradecimentos

“Chegar até ao cimo da montanha e contemplar o imenso vazio do cume pode ser gratificante. Mas nada é superior à árdua caminhada desde o baixo terreno e às dificuldades percorridas nessa viagem, para superar os percalços da subida.”

A caminhada tem sido, sem dúvida, uma experiência muito enriquecedora no âmbito da minha formação académica, não desprezando contudo tudo o que realizei anteriormente.

Foi uma soma de trabalho e dedicação, de objetivos e oportunidades que fui tentando sempre da melhor forma agarrar. E porque nada se consegue isolado, quero aqui expressar o meu agradecimento àqueles que direta ou indiretamente, colaboraram ou influenciaram o meu trabalho.

Ao Professor Doutor Filipe Antunes pela orientação, disponibilidade e apoio, pelos incentivos e desafios que me foi colocando ao longo de todo este tempo de trabalho e por estar sempre presente de uma forma incondicional.

À Professor Doutora Maria João Moreno por me ter indicado o caminho a seguir, por me ter aberto horizontes e oportunidade de aprender sempre mais.

Ao Professor Doutor Tiago Faria pelo tempo que me disponibilizou, pelos conhecimentos transmitidos e pelo auxílio em cada momento.

Ao Engenheiro Marco Sebastião por nunca me deixar perdida nos caminhos a seguir, por estar sempre disponível a auxiliar-me e pela oportunidade que me foi sempre dando ao longo do projeto e a confiança que me deposita a todo o instante.

Ao Professor Doutor Carvalho e Silva pelas palavras, pela motivação, por me fazer acreditar que nada é impossível.

Ao Filipe Oliveira por me ter dado a oportunidade de aprofundar conhecimentos na minha formação, em terras distantes.

Ao Mestre, amigo, companheiro e namorado Luís Alves pela paciência com que partilhou os seus conhecimentos e por estar sempre disponível, de uma forma ativa, a ajudar-me quando eu mais preciso.

À amiga Raquel Rondão por todos os ensinamentos, por todos os momentos vividos, por sempre me auxiliar em todos os instantes e por todos os momentos de incentivo.

Às engenheiras Mónica, Andreia e Lilia por me auxiliarem sempre que necessitei, por me colocarem à vontade sempre que eu não estava na minha zona de conforto.

Às minhas amigas e amigos Carolina Costa, Ana Costa, Ana Raquel, Bruno Nogueira, Rui Cardoso, Margarida Trindade, Cláudia Duarte, Anabela Marques e à minha amiga Elodie Melro, por todas as “dores” e momentos felizes que passámos juntos.

Finalmente, mas não por último, à minha família, ao meus pai, à minha mãe, e ao meu irmão, pelo amor, carinho, formação, educação, incentivo e apoio incondicional que sempre tiveram para comigo.



A todos um sincero

MUITO OBRIGADO!



Índice

Abreviaturas	I
Resumo.....	II
Abstract	III
Capítulo 1	1
Introdução	1
Produtos de Limpeza Biodegradáveis	1
Tensioativos.....	1
Agregação de Tensioativos.....	4
Microemulsões.....	5
Diagrama de fases	6
Polímeros.....	7
Interações entre Polímeros e Tensioativos.....	8
Resistência dos polímeros a ações químicas e físicas	9
Cera	10
Tipos de Resinas e nas formulações de ceras	11
Cristalizador.....	13
Formação de Cristais	14
Tira-Gorduras	16
Saponificação	17
Enzimas.....	17
Enzimas como catalisadores de reações.....	18
Mecanismo catalítico e aplicações sintéticas das hidrolases.....	19
Capítulo 2	21
Resultados e Discussão	21
Ceras.....	Erro! Marcador não definido.
Cristalizador.....	Erro! Marcador não definido.
Tira-Gorduras	Erro! Marcador não definido.
Capítulo 3	22
Conclusões	22
Capítulo 4	24
Experimental	24



Resinas.....	Erro! Marcador não definido.
Silicato de sódio	Erro! Marcador não definido.
Hidróxido de Zinco	Erro! Marcador não definido.
Fosfonato	Erro! Marcador não definido.
Lipase.....	Erro! Marcador não definido.
Etildiglicol (EDG).....	Erro! Marcador não definido.
Tri(2-butoxietil)fosfato (TBEP).....	Erro! Marcador não definido.
Ácido fosfórico	Erro! Marcador não definido.
Ácido tartárico.....	Erro! Marcador não definido.
Carbonato de Cálcio	Erro! Marcador não definido.
Tensioativos.....	Erro! Marcador não definido.
Quantificação de Água	24
Quantificação percentual do Extrato Seco.....	24
Determinação da Concentração de OH-	25
Tensão Superficial	25
Medidor de Brilho	26
Ângulo de Contacto.....	26
Microscopia eletrónica de Varrimento (SEM).....	27
Reologia.....	28
Dispersão Dinâmica de Luz (DLS)	29
Análise termogravimétrica (TGA).....	29
Difração de Raio-X.....	30
Infravermelho com ATR	31
Perfilómetro	31
Espetroscopia UV-Vis	32
Dicroísmo Circular	32
Teste de Escorregamento.....	33
Perspetivas Futuras.....	Erro! Marcador não definido.
Bibliografia	36



Índice de Figuras

Figura 1: Representação esquemática de um tensioativo ^[2]	2
Figura 2: Ilustração esquemática de uma interface óleo-água macroscópica, onde as moléculas de tensioativo estão em equilíbrio dinâmico ^[3a]	2
Figura 3: Exemplo de um tensioativo não-iónico ^[1a]	2
Figura 4: Exemplo de um tensioativo aniónico, o Lauril éter Sulfato (LESS) ^[1a]	3
Figura 5: Exemplo de um tensioativo catiónico ^[1a]	3
Figura 6: Betaína, um exemplo de um tensioativo anfotérico ^[9]	4
Figura 7: Agregação de moléculas anfifílicas ^[3b]	4
Figura 8: Esquema estrutural da microemulsão de água em óleo ^[14]	6
Figura 9: Esquema estrutural da microemulsão de óleo em água (O/W) ^[14]	6
Figura 10: Esquema de um Diagrama de fases ^[1a]	7
Figura 11: Etildiglicol (EDG), um exemplo de um coalescente ^[31]	10
Figura 12: Tributóxiethyl Fosfato (TBEP), como exemplo de um plastificante.....	10
Figura 13: Estrutura molecular da resina alquídica ^[32]	11
Figura 14: Estrutura do monómero base da resina acrílica ^[33]	12
Figura 15: Estrutura molecular de ceras de polietileno ^[35]	12
Figura 16: Estrutura molecular de ceras de esterese ^[36]	12
Figura 17: Princípio do Cristalizador.....	15
Figura 18: Silicato de sódio ^[42]	15
Figura 19: Reação de saponificação ^[44]	17
Figura 20: Estrutura de uma Lipase ^[51]	19
Figura 21: Reação de hidrólise de triglicérides por lipases ^[53]	20
Figura 22:Análise da estabilidade da solução de cera desenvolvida na UC.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 23: Gráficos de DLS, da dependência da intensidade com o tamanho das partículas em solução, obtendo a distribuição do tamanho das partículas com a intensidade, da formulação desenvolvida na UC a 25°C e a 55°C, respetivamente.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 24:Dependência da viscosidade de corte com a tensão de corte, à temperatura de 20°C, da formulação de cera desenvolvida na UC.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 25:Imagens de SEM a) filme formulação pela cera desenvolvida, b) filme formado pela formulação de cera da concorrência e c) Madeira sem tratamento.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 26: Gráfico estatístico referente ao brilho do filme de cera formado sobre o substrato...	Erro! Marcador não definido.
Figura 27: Análise de termogravimetria da formulação desenvolvida e da formulação da concorrência.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 28: Análise visual da estabilidade da solução de cera desenvolvida.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 29: Dependência da viscosidade de corte com a tensão de corte, à temperatura de 20°C, da formulação de cristalizador desenvolvida na UC.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 30: Imagens da gota formada pela água sobre o mármore sem revestimento, sobre o mármore revestido pela formulação da concorrência e ao mármore revestido com a formulação desenvolvida.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 31: Imagens das gotas formadas pelo tolueno, decanol, óleo e azeite, respetivamente, sobre o mármore revestido com a formulação desenvolvida na UC.....	Erro! Marcador não definido.



Figura 32: Imagens do mármore sem revestimento e revestido com o cristalizador desenvolvido, respetivamente, depois de sujeitos a uma gota de tolueno, decanol, óleo e azeite. **Erro! Marcador não definido.**

Figura 33: Espetros de raio-x do mármore comparativamente com o raio-x da reação entre o cristalizador da concorrência com mármore (33^a) vs o espectros de raio-x do mármore comparativamente com o raio-x da reação entre o cristalizador desenvolvido com o mármore (33^b).

..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 34: Espetros de FTIR da reação entre o mármore com a formulação da concorrência e da reação do mármore com a formulação desenvolvida..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 35: Espectro de FTIR do fosfato de cálcio e do mármore após aplicação do cristalizador desenvolvido na UC **Erro! Marcador não definido.**

Figura 36: Espectro de FTIR do carbonato de cálcio e do mármore após aplicação do cristalizador desenvolvido na UC. **Erro! Marcador não definido.**

Figura 37: Ilustração gráfica do brilho do filme formado entre os cálcios disponíveis no mármore e o cristalizador desenvolvido e o cristalizador da concorrência, respetivamente.. **Erro! Marcador não definido.**

Figura 38: Imagens de SEM da superfície do mármore após a aplicação da formulação da concorrência e da formulação desenvolvida na UC, respetivamente.. **Erro! Marcador não definido.**

Figura 39: Imagens de EDS (do Z1 e do Z2) da formulação da concorrência e da formulação desenvolvida na UC, respetivamente..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 40: Espetros de EDS da formulação da concorrência e da formulação desenvolvida, respetivamente **Erro! Marcador não definido.**

Figura 41: Representação do processo de emulsificação da gordura ^[54] **Erro! Marcador não definido.**

Figura 45: Cinética da hidrólise do éster, à temperatura ambiente..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 42: Espectro de CD para helice- α , folha- β e "random coil" ^[55] **Erro! Marcador não definido.**

Figura 43: Gráficos de Dicroísmo Circular das formulações de 3% de Lipase em água e de 3 % de lipase em água com 1% de LES, a 24°C e a 55°C **Erro! Marcador não definido.**

Figura 44: Gráficos de Dicroísmo circular das soluções de 0.3% de lipase em água e da solução de 0.3% de lipase em água com LESS..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 46: Gráficos de DLS, da dependência da intensidade com o tamanho das partículas em solução, obtendo a distribuição do tamanho das partículas com a intensidade, da formulação desenvolvida a 25°C **Erro! Marcador não definido.**

Figura 47: Gráficos de DLS, da dependência da intensidade com o tamanho das partículas em solução, obtendo a distribuição do tamanho das partículas com a intensidade, da formulação desenvolvida a 55°C **Erro! Marcador não definido.**

Figura 48: Dependência da viscosidade de corte com a tensão de corte, à temperatura de 20°C, da formulação de tira-gorduras desenvolvida na UC..... **Erro! Marcador não definido.**

Figura 49: Esquema representativo da queima da gordura (esquerda) e posterior remoção (direita), respetivamente **Erro! Marcador não definido.**

Figura 50: Representação da monocamada de soluto à superfície do líquido 25

Figura 51: Representação da formação das micelas 26

Figura 52: Esquema representativo das tensões interfaciais existentes num sistema trifásico, em que duas das fases estão condensadas 27

Figura 53: Representação da velocidade de corte para pratos paralelos..... 28

Figura 54: Curvas de escoamento de fluidos newtonianos e não newtonianos..... 28



Figura 55: Esquema ilustrativo do fenómeno de difração de raios-X (Lei de Bragg) ^[71]	30
Figura 56: Representação gráfica de uma reflexão simples de ATR ^[72]	31
Figura 57: Luz circular polarizada	32
Figura 58: Espectro de CD para as estruturas helice-a, folha-b e "random coil" ^[74]	33
Figura 59: Teste de fricção da borracha	34

Índice de tabelas

Tabela 1: Brilhos obtidos para os filmes formados pelas diferentes formulações sobre uma superfície de madeira	Erro! Marcador não definido.
Tabela 2: Resultados do teste de escorregamento realizado ao substrato, ao filme formado pela cera da concorrência e ao filme formado pela cera desenvolvida na UC ...	Erro! Marcador não definido.
Tabela 3: Classificação do piso, segundo a norma ENV 12633	Erro! Marcador não definido.
Tabela 4: Tabela dos pKas dos compostos que podem reagir com o cálcio, disperso sobre o mármore, que existem na formulação	Erro! Marcador não definido.
Tabela 5: Classificação da classe do piso em função do risco de escorregamento, tendo em conta a Norma ENV 12633.....	34



Abreviaturas

EPA – Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos

cmc – Concentração micelar crítica

cac – concentração de agregação crítica

CPP – Parâmetro de empacotamento crítico

COV'S – Compostos orgânicos voláteis

LD50 – Dose letal

Pez – Resina de pinheiro

LESS – Lauril éter sulfato de sódio

APGs – Alquil poliglicosídeos

PNPA – Acetato de para-nitrofenil

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

IPA –Álcool isopropílico

MEA - Monoetanolamina

PVC – Policloreto de vinilo

SEM – Microscopia eletrónica de varrimento

DLS – Espalhamento de Luz dinâmica

TGA – Termogravimetria

CD – Dicroísmo circular

EDS – Espetroscopia de dispersão de energia de raio-X

a. u. – Unidades arbitrárias



Resumo

O projeto define as seguintes metas: o desenvolvimento de novas formulações – para ceras, cristalizadores e tira-gorduras ecológicos, apenas empregando materiais não tóxicos e que não apresentem perigos para a saúde humana nem para o ambiente.

Este conceito conhecido como "green" ou "bio" vai ao encontro de uma das mais sensíveis e importantes direções da química: a sustentabilidade.

Numa primeira etapa, nas ceras e nos cristalizadores, foi estudado a forma como o filme interage com o substrato, a rugosidade que este deve possuir para que apresente brilho adequado, mas que não seja considerado um piso escorregadio.

No tira-gorduras foi feito um levantamento dos vários tipos de gorduras, como aderem ao substrato e como podemos hidrolisar a gordura, triglicérides, em compostos mais pequenos, os ácidos gordos, sem usarmos um pH extremamente alcalino.

Procedeu-se à caracterização de formulações existentes no mercado em parâmetros como a hidrofobicidade, quantidade do extrato seco, assim como a quantidade de água, o pH, a viscosidade e a topografia formada pelo revestimento após aplicação nos pisos, bem como o tempo de degradação do filme formado e a resistência do mesmo à abrasão. Assim podemos conhecer melhor a composição das formulações existentes no mercado, entender a importância de cada componente que constitui a formulação das ceras, dos cristalizadores e do tira-gorduras.

A partir dos resultados obtidos, foi feito um levantamento de todos os componentes que apresentam perigos para o ser Humano e para o ambiente, com vista à substituição por compostos menos agressivos, garantindo que cumprem a legislação em vigor para os detergentes, nomeadamente o regulamento CE 648/2004, e o regulamento REACH que estabelecem limites de biodegradabilidade bem definidos, defendendo que a degradabilidade deverá ser superior a 60% em 28 dias.

Finalmente foram elaboradas algumas formulações de cristalizadores, ceras e tira-gorduras, usando sempre compostos químicos que não apresentam, segundo as normas do regulamento REACH, riscos significativos, sempre acompanhadas por um estudo físico-químico das mesmas, de modo a garantir a qualidade do produto.



Abstract

The project sets the following goals: the development of new formulations – of waxes, crystallizers and ecological grease-remover, by using non-toxic and non-hazardous material to human health and environment.

Concept of "green" or "bio" meets one of the most recent sensitive and important directions of Chemistry: the sustainability.

The way the film interacts with the substrate, the roughness that the film should possess to an adequate gloss, was also studied.

In the grease-remover formulation several types of fats were studied. Particular attention was given to the mechanism of adhesion of these fats to the substrate and the hydrolysis at mild pH of the triglycerides into smaller compounds such as fatty acids.

We carried out the characterization of existing formulations in the market. Parameters such as hydrophobicity, the amount of dry extract, as well as the amount of water, pH, surface tension, viscosity and topography of the coated floor, the degradation time of the formed film and its resistance to abrasion, were deeply studied. Thus, we had a deep characterization of the existing formulations on the market, and we were able to understand the importance of each component the formulation of waxes, crystallizers and grease-remover.

From the obtained results, all the components that presents hazards to humans and the environment were identified and replaced by compounds that are less hazardous ensuring that these compounds are in accordance with the legislation for detergents, particularly the EC 648/2004, Regulation and the REACH Regulation that establish a well-defined limits of biodegradability, arguing that the degradability shall be greater than 60 % in 28 days.

Finally some formulations of crystallizers, waxes and grease remover were prepared, always using chemical compounds in agreement with REACH.



Capítulo 1

Introdução

Produtos de Limpeza Biodegradáveis

Nas últimas décadas o cuidado com o meio ambiente tem vindo a aumentar significativamente. Políticos, cientistas e grupos ecológicos têm movimentado a opinião pública de tal forma que na legislação foram determinados limites de emissão bem definidos para diversos processos e atividades industriais. A Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (EPA) conduziu muitos países a tornarem-se partidários nesta conduta.

Com a evolução, o Homem tem vindo a ter um maior cuidado com a limpeza e higiene, o que tem promovido um assinalável aumento na qualidade de vida e esperança média de vida. Desta forma o consumo de produtos de limpeza evoluiu drasticamente. Existe por isso a necessidade de estudar produtos menos agressivos para o Homem e para o meio ambiente, “Produtos Verdes”, produtos que tenham na sua formulação apenas compostos químicos de baixa toxicidade, e com baixo impacto para o ambiente e para a saúde humana.

Tensioativos

Hoje em dia, os tensioativos tornaram-se indispensáveis, e são usados em muitos campos de aplicações: na fabricação de detergentes, sabonetes, shampoos, cosméticos, tintas, pesticidas, etc. Todos os principais tipos de tensioativos, sulfonatos de alquilbenzeno, sulfatos de alquilo, álcoois etoxilados, etc., têm sido amplamente utilizados há décadas. As vias de preparação foram cuidadosamente otimizadas, e o seu comportamento físico é relativamente bem compreendido. Além do constante desafio de encontrar novas formas de minimizar o custo da produção dos tensioativos existentes e a força do mercado para os produtos "mais verdes" tem sido um objetivo primordial para o desenvolvimento de novos tensioativos nos últimos anos.

Praticamente todos os produtos de limpeza contêm tensioativos. Os tensioativos são moléculas que combinam duas partes distintas, uma parte hidrofóbica (apolar), solúvel em solventes apolares, e uma parte hidrofílica (polar), que possui afinidade com a água. São, por isso, denominadas moléculas anfífilas. Um exemplo de um tensioativo está representado na figura 1^[1].

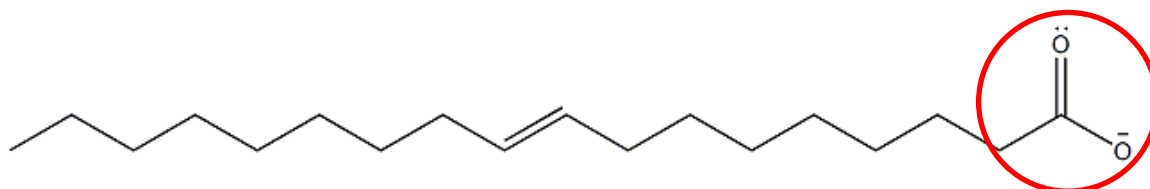




Figura 1: Representação esquemática de um tensoativo^[2]

A parte não polar é em geral constituída por uma ou mais cadeias de hidrocarbonetos, lineares ou ramificados, contendo geralmente entre 8 e 18 átomos de carbono. O número de cadeias, comprimento e grau de ramificação, são parâmetros importantes na determinação das propriedades físico-químicas dos tensoativos^[3]. Como consequência destas propriedades, algumas destas substâncias atuam como agentes emulsificantes, dispersantes e/ou solubilizantes, dependendo do tamanho da parte hidrofílica e do tamanho da parte hidrofóbica^[4].

Estes compostos têm tendência para adsorver nas interfaces (ar-água, óleo-água), e, regra geral, em polímeros de carga oposta ou polímeros modificados hidrofobicamente, produzem estruturas mais ou menos ordenadas^[5]. Esta adsorção resulta numa redução da energia livre entre duas fases, que se traduz também numa redução da tensão superficial.

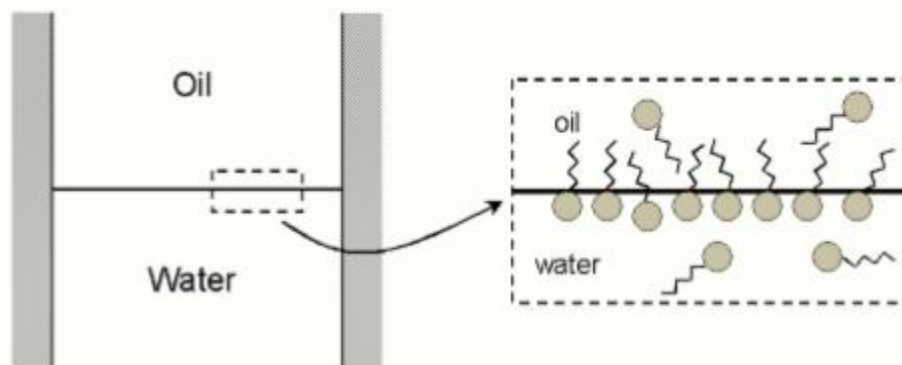


Figura 2: Ilustração esquemática de uma interface óleo-água macroscópica, onde as moléculas de tensoativo estão em equilíbrio dinâmico^[3a]

Os tensoativos são classificados normalmente de acordo com a carga do grupo polar, sendo assim usual dividi-los em aniónicos, catiónicos, não-iónicos e anfotéricos^[1b].

Os tensoativos não iónicos são caracterizados por terem uma parte hidrofílica que não possui carga como representado na figura 3. Possuem uma estrutura polar que interage fortemente com a água através de pontes de hidrogénio, particularmente a baixas temperaturas^[6], e caracterizam-se pela ausência de interações eletrostáticas entre as moléculas que constituem o agregado micelar.



Figura 3: Exemplo de um tensoativo não-iónico^[1a]

As propriedades destes tensoativos estão fortemente dependentes da temperatura - quando esta aumenta, e contrariamente à maior parte das substâncias, ocorre uma diminuição da solubilidade em solução, levando também a uma diminuição da concentração micelar crítica (cmc).



Uma exceção na dependência da solubilidade dos tensoativos não iónicos com a temperatura, é dada pelos alquil poliglicosídeos (APGs). Estes possuem uma parte hidrofílica constituída por monómeros de glicose e uma parte hidrofóbica constituída por álcoois gordos. Comparando com os etoxilados de álcoois gordos, o poder de formação de espuma de APGs é claramente mais forte.

Este tipo de tensoativo possui também um comportamento toxicológico, dermatológico e ecológico considerado excelente^[7].

Os tensoativos aniónicos possuem grupos hidrofílicos, carregados negativamente. Esta parte dos tensoativos é composta normalmente por um grupo sulfato, sulfonato, carboxilato ou fosfato^[8].

São muito usados nas formulações dos detergentes, obtendo uma adequada detergência com cadeias alquila na gama C12-C18. Um aumento na cadeia carbonada produz uma diminuição nos valores da cmc do tensoativo. No entanto também conduz a uma diminuição da solubilidade do tensoativo em solução, pelo que deverá ser obtido um bom equilíbrio entre a solubilidade do tensoativo e a sua cmc, de modo a ser atingida uma detergência ótima.

Os contra-íons mais comumente usados são o sódio, o potássio, o amónio, o cálcio e várias alquil aminas protonadas.

Dentro desta categoria de tensoativos encontra-se o Lauril éter sulfato de sódio (LESS), figura 4, usado neste trabalho. O LESS apresenta uma cmc baixa, elevada solubilidade e um baixo Krafft point (temperatura à qual o tensoativo deixa de ser solúvel em solução aquosa). Sendo as suas principais matérias-primas de origem natural, os derivados do lauril éter sulfato atendem aos requisitos de desenvolvimento sustentável e por serem, também facilmente biodegradáveis, atende aos conceitos de qualidade ambiental.

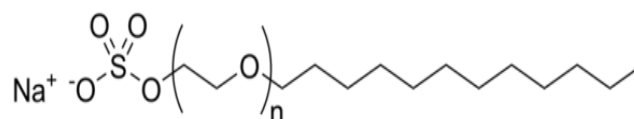


Figura 4: Exemplo de um tensoativo aniónico, o Lauril éter Sulfato (LESS)^[1a]

Os tensoativos catiónicos, figura 5, apresentam na parte hidrofílica um átomo ou grupo carregado positivamente. Os grupos mais comuns neste tipo de tensoativos são os grupos amina e amónio quaternário^[8].

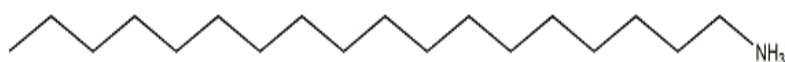


Figura 5: Exemplo de um tensoativo catiónico^[1a]

Os tensoativos anfotéricos, como é exemplo a alquil amido betaína, são tensoativos que apresentam propriedades combinadas de tensoativos iónicos e não iónicos. A parte hidrofílica



deste tipo de tensoativo tem carga positiva e carga negativa^[8]. A betaína é um tensoativo pouco irritante para a pele, pois possui uma cmc muito baixa, e possui uma boa capacidade dispersante.

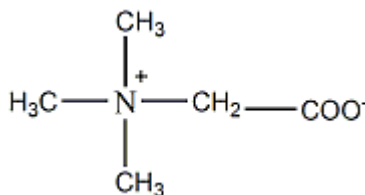


Figura 6: Betaína, um exemplo de um tensoativo anfotérico ^[9]

Agregação de Tensoativos

Em soluções diluídas, os tensoativos existem como moléculas individuais, mas quando a sua concentração excede um determinado valor, que é característico de cada tensoativo, a concentração micelar crítica (cmc), as moléculas de tensoativo organizam-se espontaneamente em agregados, que podem ser micelas esféricas ou cilíndricas, vesículas e fases lamelares ou cúbicas, etc, como podemos observar na figura 7.

A cmc de um tensoativo pode ser determinada pela variação da tensão superficial em função da concentração de tensoativo. Quando se atinge a cmc passa a ocorrer um equilíbrio dinâmico entre os unímeros em solução e as micelas. Os tensoativos nas micelas, quando em solução aquosa, orientam-se de modo a que as cadeias de hidrocarboneto se encontrem no interior do agregado e os grupos polares em contacto com a água. Existem vários fatores que podem influenciar a cmc, como a temperatura, pressão, força iónica, pH, o comprimento da cadeia, a área da cabeça do grupo, entre outras, dependendo do tipo de tensoativo^[10].

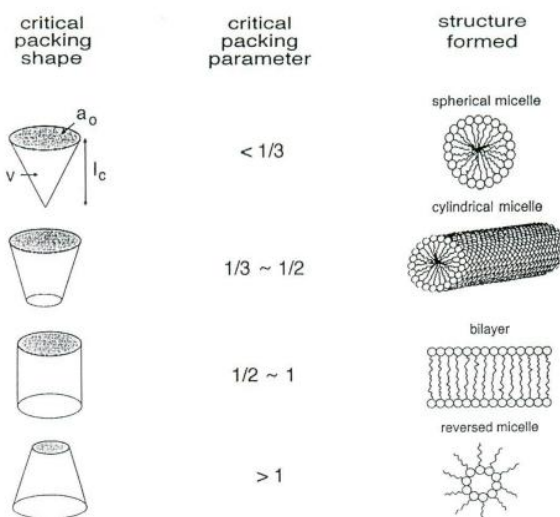


Figura 7: Agregação de moléculas anfífilas^[3b]

A morfologia dos agregados formados após a cmc está diretamente relacionada com a estrutura molecular do agente tensoativo utilizado. A orientação das moléculas na interface pode ser expressa pelo parâmetro crítico de empacotamento, CPP^[11], que representa a relação entre a



área efetiva ocupada pela parte hidrofóbica e hidrofílica do tensioativo. Este parâmetro é determinado pela seguinte equação.

$$CPP = \frac{V}{la_0}$$

Em que v e l representam o volume e comprimento da cadeia de hidrocarboneto, respetivamente, e a_0 a área por grupo polar^[3a]. Este parâmetro representa uma medida do balanço entre as partes hidrofílica e hidrofóbica, e relaciona assim as propriedades das moléculas anfífilas com a curvatura preferida do agregado^[1b].

Microemulsões

Uma microemulsão é uma dispersão de óleo em água ou de água em óleo, estabilizada por tensioativo. Apresentam características de estabilidade completamente distintas das emulsões. Emulsificação é o processo pelo qual as emulsões são preparadas.

Sem agente de estabilização, tais emulsões não são estáveis, e a fase dispersa irá coalescer imediatamente quando a agitação for interrompida. De modo a assegurar a estabilidade de forma adequada, a interface tem que ser "protegida", por um agente emulsionante, por exemplo por um tensioativo.

Dessa forma, recorre-se frequentemente à emulsificação estável destes componentes hidrofóbicos de modo a serem obtidas microemulsões, misturas macroscopicamente homogéneas de componentes hidrofóbicos, água e tensioativo, em que o nível microscópico consiste em domínios individuais de óleo e água, separados por uma monocamada de tensioativos^[3b].

Termodinamicamente, podemos distinguir dois tipos de emulsões. Sistemas que são termodinamicamente estáveis são chamados de microemulsões, enquanto os sistemas metaestáveis (ou cineticamente estáveis) são conhecidos como emulsões^[12].

Do ponto de vista microestrutural, as microemulsões podem ser definidas como agregados de tensioativos (micelas) de água dispersos em óleo ou de óleo dispersos em água. Contudo, os sistemas de microemulsão podem incluir outras estruturas, como bicontínuas. As duas questões fundamentais quando se trata de microemulsões são as relacionadas com os seus prováveis mecanismos de formação e as suas estabilidades termodinâmicas em comparação com as emulsões. Uma emulsão pode coalescer e chegar a separar-se em fases aquosa e oleosa devido à sua falta de estabilidade termodinâmica. Apesar disso, as emulsões podem exibir estabilidade a longo prazo, para algumas finalidades, sendo este comportamento referido como estabilidade cinética. Isso ocorre porque o sistema apresenta uma elevada barreira de energia para a coalescência entre as gotículas de emulsão^[13].

De um ponto de vista estrutural, as microemulsões são formadas por gotículas muito pequenas, dispersas de uma fase externa, com uma camada monomolecular de moléculas anfífilas localizadas na interface. Uma microemulsão rica em óleo, em água como meio dispersante, está



representada na figura 9. Essas estruturas são conhecidas como microemulsão de água em óleo (W / O), micela invertida.

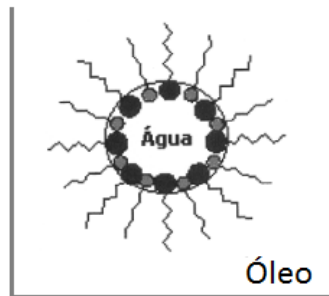


Figura 8: Esquema estrutural da microemulsão de água em óleo^[14]

No caso de uma microemulsão de óleo em água (O / W), as gotículas de óleo são solubilizadas numa fase aquosa externa, como representado na figura 10.

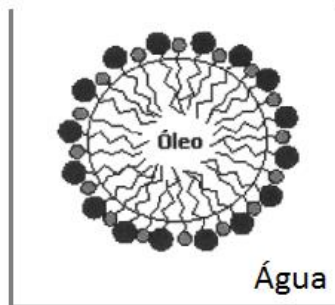


Figura 9: Esquema estrutural da microemulsão de óleo em água (O/W)^[14]

Diferentes parâmetros podem também influenciar a curvatura interfacial espontânea, como temperatura (para tensoativos não iônicos) ^[15], a força iônica (para iônicos), a natureza do óleo, a estrutura do tensoativo (comprimento da cadeia, ramificação, o grupo de cabeça) ou a presença de co-tensoativos.

Diagrama de fases

Os tensoativos em solução podem organizar-se em diferentes fases. Estas podem ser induzidas por diversos fatores como a temperatura, presença de sais ou outros co-solutos e a sua fração volúmica^[16].

Um diagrama de fase é a representação gráfica da organização do sistema, a uma dada temperatura e pressão bem definida e com composição variável. Ele é representado, geometricamente, por um triângulo equilátero, em que o topo do triângulo corresponde aos componentes puros, e cada lado representa possíveis composições de misturas binárias. Qualquer ponto dentro do diagrama representa uma mistura ternária em proporções específicas de cada componente.

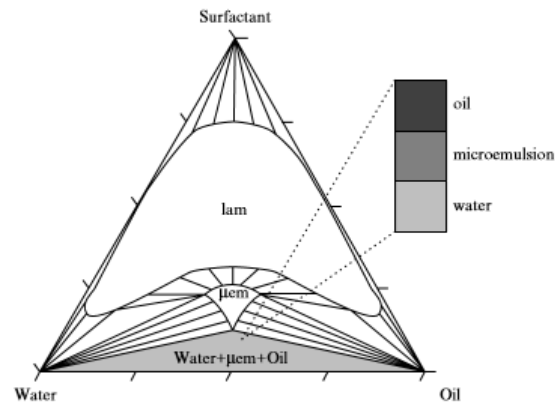


Figura 10: Esquema de um Diagrama de fases^[1a]

A baixas concentrações de tensoativo, podemos obter emulsões ou microemulsões. Nestas existe uma sequência de equilíbrio entre as fases, geralmente referidas como fases Winsor. A fase de microemulsão pode estar em equilíbrio com o excesso de óleo, com um excesso de água ou com excesso de ambas as fases^[3b].

A estabilidade de microemulsões requer baixa solubilidade de tensoativo nas fases aquosa e oleosa, resultando na adsorção do tensoativo na interface óleo-água para provocar uma redução da tensão interfacial^[13].

Quando se aumenta a quantidade de tensoativo, favorece-se a redução da tensão interfacial e conseqüentemente estabilizam-se os agregados formados em solução. A adição de um co-tensoativo apropriado, como por exemplo um álcool de cadeia linear, pode causar uma maior estabilização da microemulsão^[3b].

Polímeros

Os polímeros são, por definição, compostos de elevado peso molecular que resultam da ligação covalente entre várias moléculas (monómeros)^[1b]. O tamanho da cadeia do polímero é estabelecido durante a síntese do mesmo, sendo que o número de monómeros em cada molécula é conhecido por grau de polimerização^[17].

Os polímeros podem ser classificados de diversas formas: em relação à sua ocorrência, estrutura, à natureza da sua cadeia, comportamento mecânico, disposição espacial dos seus monómeros, morfologia e tipo de reação que lhe deu origem. Em relação à sua ocorrência, podem ser sintéticos ou naturais.

Os polímeros naturais são os que existem na natureza, como é o exemplo da celulose, das proteínas e dos ácidos nucleicos. A maioria dos polímeros sintéticos, são compostos orgânicos, produzidos pelo homem através da reação de polimerização de moléculas simples, dos quais são exemplos nylon, poli (cloreto de vinilo) (PVC), entre outros^[18].

No que diz respeito à natureza da cadeia, os polímeros podem ser homogêneos ou heterogêneos. Quando os polímeros são obtidos por reação de polimerização entre monómeros da mesma natureza designam-se por homopolímeros. O polietileno, o polipropileno e o policloreto de



vinilo são alguns exemplos de homopolímeros. Contudo, se as cadeias forem constituídas por mais do que um tipo de unidade repetitiva, a macromolécula resultante é designada por copolímero^[19].

Podem existir quatro tipos fundamentais de copolímeros: copolímeros aleatórios, copolímeros alternados, copolímeros em bloco e copolímeros de inserção. Nos copolímeros aleatórios, os monómeros inserem-se na cadeia sem qualquer ordem aparente; nos copolímeros alternados os monómeros inserem-se de uma forma regular e alternadamente na cadeia, nos copolímeros de bloco os monómeros dispõem-se na cadeia em blocos sequenciais e nos copolímeros de inserção os blocos de um monómero inserem-se, como ramificações, na cadeia constituída pelo outro monómero. A estrutura final do polímero, pode ser linear, ramificada ou reticulada.

A arquitetura molecular do polímero e a sua conformação molecular muito influenciam as propriedades do polímero^[20].

Nos polímeros lineares, cada monómero é ligado somente a outros dois monómeros, existindo a possibilidade de ramificações pequenas, que são parte da estrutura do próprio monómero. Nos polímeros ramificados as ramificações não são da estrutura do próprio monómero, mas são constituídas por vários monómeros ou enxertos. Nos polímeros reticulados existem ligações químicas entre as cadeias dos polímeros, formando-se normalmente um polímero com um peso molecular muito elevado. Um dos parâmetros de controlo de qualidade de um material polimérico é a sua massa molecular. A massa molecular relativa é função do número de unidades repetitivas que constituem o polímero. Esta dependerá do grau de polimerização e da massa molecular relativa da unidade repetitiva. A maioria das reações de polimerização dá origem a cadeias formadas aleatoriamente e, assim, o produto final da reação vai ser uma mistura de cadeias de comprimento diferente. Porém, em muitos casos, a distribuição dos comprimentos das cadeias pode ser determinada estatisticamente podendo o polímero caracterizar-se pela distribuição das massas moleculares relativas dos monómeros e as massas moleculares médias que lhe estão associadas^[21].

Os polímeros são utilizados em diferentes concentrações em solução, dependendo da finalidade que se pretende. São de extrema importância para se conseguir uma boa estabilidade coloidal, emulsificação, floculação e controlo reológico^[1a, 3b, 12, 22].

Interações entre Polímeros e Tensioativos

A adição de tensioativos em soluções poliméricas é muitas vezes usada em indústrias de detergentes, fármacos, entre outras. Assim, torna-se crucial entender a forma como estas duas entidades moleculares interagem em soluções aquosas. Os polímeros são usados para controlar as propriedades reológicas das soluções e evitar separações de fase^[23], enquanto os tensioativos são usados para alterar a solubilidade e promover a emulsificação^[24].

As transições de fase em soluções poliméricas podem ser induzidas pela presença de tensioativos no meio e vice-versa. A associação de polímeros e tensioativos em solução pode acontecer pela formação de uma superfície de adsorção de tensioativos na superfície do polímero^[25]



ou pela formação de micelas na vizinhança da cadeia polimérica. As duas situações surgem por diferentes interações tais como interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre polímero e tensoativo. Para o caso de polímeros que possuam segmentos hidrofóbicos ocorre a formação de sistemas micelares pela associação da parte hidrofóbica do polímero e tensoativo. Um outro aspeto importante é a redução da cmc de um tensoativo na presença de polímero, passando a designar-se concentração de agregação crítica, cac^[26].

Os polieletrólitos são extremamente sensíveis à presença de sal e à concentração de protões em solução. Por exemplo, polímeros com grupos carboxílicos a um pH baixo, adotam uma conformação contraída devido ao aumento de hidrofobicidade, enquanto com pH básico a cadeia do polímero expande-se, devido às repulsões eletrostáticas e entropia dos contra-íões^[27]. O polímero numa conformação contraída em água reflete o seu carácter menos hidrofílico e, favorece as interações hidrofóbicas com o tensoativo. Em meio básico as interações entre o poliácido e os tensoativos catiónicos são essencialmente eletrostáticas. O complexo polímero iónico e tensoativo opostamente carregado adota uma conformação específica tornando-se normalmente insolúvel em água, dando origem a uma separação de fases. A solubilização pode, no entanto, ser restabelecida com adição de sal^[28].

Resistência dos polímeros a ações químicas e físicas

As características mecânicas dos filmes poliméricos são muito sensíveis às condições ambientais que estão sujeitas, ou seja, à presença de água, oxigénio, solventes orgânicos, etc^[29]. As propriedades químicas mais importantes são a resistência à oxidação, ao calor, às radiações ultra-violeta, à água, a ácidos e bases, a solventes e reagentes^[30], conforme descrito a seguir:

Oxidação: A resistência aumenta em macromoléculas apenas com ligações simples entre átomos de carbono.

Calor: A resistência é maior abaixo da temperatura de transição vítrea.

Raios Ultra-violeta: A resistência é menor em macromoléculas com duplas ligações entre átomos de carbono.

Humidade: Os polímeros que absorvem água sofrem alteração de volume, podendo aumentar o peso do material.

Ácidos: o contato com ácidos em geral, em meio aquoso, pode causar a parcial destruição das moléculas polimérica.

Bases: Soluções alcalinas, usualmente aquosas, em maior ou menor concentração, são bastante agressivas a polímeros cuja estrutura apresenta grupos carboxílicos, fenólicos e esterés.

Solventes e reagentes: quando as moléculas de solvente apresentam mais afinidade pelas moléculas do polímero, podem penetrar entre as moléculas macromoleculares, gerando interações físico-químicas. Forças inter-moleculares como pontes de hidrogénio, ligações dipolo-dipolo ou mesmo forças de Van der Waals, permitem a dispersão, a nível molecular, dos polímeros, isto é, a sua dispersão.



Cera

As ceras consistem numa emulsão de resinas acrílicas em combinação com polímeros de polietileno, micronizado e emulsificado, normalmente de elevado peso molecular. Após aplicação sobre a superfície do substrato formam um filme polimérico hidrofóbico e uniforme proporcionando o brilho aos pavimentos.

A formulação das ceras é uma mistura de diversos componentes, em que a água, os polímeros e as ceras representam a maioria dos compostos na formulação. No entanto, os agentes plastificantes, coalescentes, anti-espuma e estabilizadores, também representam uma função muito importante na formulação.

As resinas são usadas na formulação de ceras para aumentar o brilho e o nivelamento da superfície, permitindo em condições específicas a removibilidade do filme formado.

Nas ceras podemos também encontrar emulsões de ceras de polietileno, polipropileno ou poliuretano, que apenas vão conferir mais brilho, resistência e durabilidade ao filme.

Os tensoativos, aniónicos (fluorados) e não-iónicos (álcoois gordos etoxilados), são capazes de emulsificar os componentes hidrofóbicos produzindo assim uma solução uniforme e estável no tempo. A mistura de tensoativos normalmente usada possui uma maior percentagem de tensoativos não-iónicos, sendo que os aniónicos são adicionados apenas para prevenir agregação entre os agregados que contêm os compostos hidrofóbicos, o que poderia levar a que com o tempo ocorresse uma separação de fase.

Os coalescentes e os plastificantes possuem a capacidade de reduzir a temperatura mínima de formação do filme (MFT) permitindo a obtenção de um filme resistente e durável durante a secagem à temperatura ambiente. Os coalescentes, normalmente glicóis que volatilizam durante o processo de secagem apenas vão ajudar o filme a “espalhar-se”/ uniformizar-se sobre o substrato.

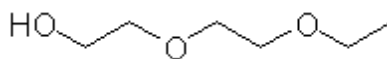


Figura 11: Etildiglicol (EDG), um exemplo de um coalescente^[31]

Os plastificantes, normalmente compostos de fosfato, são absorvidos completamente pelo polímero, pois vão “unir” o filme ao substrato, e permanece no filme para fornecer plastificação contínua.

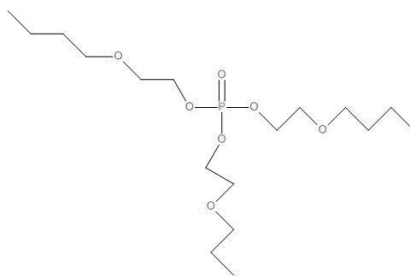


Figura 12: Tributoxietyl Fosfato (TBEP), como exemplo de um plastificante



O anti-espuma, à base de silicone, é absolutamente necessário para que quando a cera é aplicada sobre o substrato, não apresente bolhas de ar para que a sua aparência seja uniforme e regular. Os estabilizadores protegem a cera durante o transporte e armazenamento, de aumentos na viscosidade ou desestabilização causados por altas temperaturas ou congelamento, aumentando assim o tempo de vida da cera. E os conservantes evitam o crescimento de fungos e bactérias.

Tipos de Resinas e nas formulações de ceras

Alguns tipos de polímeros usados em formulações de higiene e limpeza são polímeros hidrofóbicos, que necessitam de ser estabilizados em solução aquosa através do uso de tensioativos, formando microemulsões. Esses polímeros são chamados de resinas e são responsáveis pela formação do filme polimérico na superfície do pavimento após secagem física e/ou química. Diferentes tipos de resina podem conduzir a filmes com diferentes brilhos e resistência. As resinas podem ser caracterizadas por resinas sólidas e resinas líquidas.

Dentro das resinas líquidas podemos encontrar as resinas alquídicas (Figura 13). São resinas compostas por uma elevada percentagem de compostos orgânicos voláteis, que apresentam uma menor resistência a abrasão e a intempéries.

Uma desvantagem deste género de resinas é que quando expostas aos raios UV, o processo de oxidação é acelerado, quebrando a dupla ligação C=O.

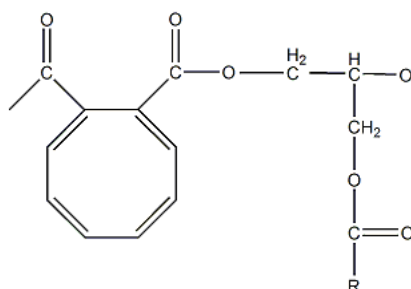


Figura 13: Estrutura molecular da resina alquídica^[32]

Existe atualmente uma tendência por estas resinas serem usadas em emulsão em base aquosa, para evitar o uso de solventes orgânicos devido à libertação de compostos orgânicos voláteis (COV's), cujos limites de emissão estão definidos na Diretiva Europeia 1999/13/CE de 11 de Março de 1999 transposta em Portugal pelo Decreto-lei 242/2001 de 31 de Agosto.

As resinas acrílicas, outro género de resina classificada como resina líquida, são resinas muito utilizadas neste momento.

As resinas acrílicas em base solvente têm vindo a perder terreno pelo mesmo motivo indicado nas resinas alquídicas uma vez que possuem compostos suscetíveis de libertar COV's estando portanto abrangidas pela legislação que regula esses compostos.

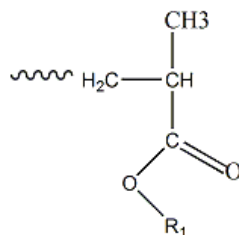


Figura 14: Estrutura do monómero base da resina acrílica^[33]

As resinas acrílicas em base aquosa têm vindo a ganhar terreno uma vez que também apresentam muito boas propriedades químicas e mecânicas, como o brilho e a resistência e não contêm compostos suscetíveis de libertar COV's.

Para conferir uma maior resistência às resinas, são adicionados plastificantes (ceras, óleos, minerais, polietilenos de baixa e alta densidade)^[34].

No conjunto das resinas sólidas, encontramos as resinas alquídicas e as resinas de hidrocarbonetos. As resinas alquídicas de origem natural como por exemplo o pez (resina de pinheiro), são obtidas por um processo de destilação do pez. São resinas que para poder ser aplicadas têm que ser aquecidas, e dado que são termoplásticas, quando arrefecem regressam à sua forma original.

Da mesma forma que descrito nas resinas líquidas, os plastificantes também são utilizados para aumentar a resistência.

As resinas de hidrocarbonetos como o próprio nome indica têm origem no petróleo e possuem na sua composição como um elevado número, anéis aromáticos. Como tal e por razões químicas, apresentam uma fraca resistência a intempérie. Por esse motivo e por motivos económicos são resinas muito pouco utilizadas^[34].

As ceras estão presentes nas formulações para reforçar a resistência à abrasão, a durabilidade e o brilho. As mais utilizadas na formulação das ceras comerciais são:

Cera de polietileno, em grande quantidade (15% ou mais), tendem a produzir filmes leves, e com brilho elevado.

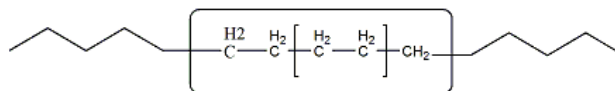


Figura 15: Estrutura molecular de ceras de polietileno^[35]

Ceras de esteres apresentam elevada rigidez e brilho, apesar de possuírem uma cor mais escura.

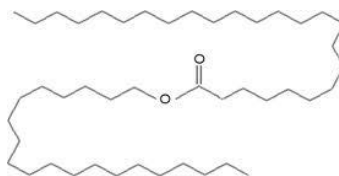


Figura 16: Estrutura molecular de ceras de esteres^[36]



Ao aplicar a cera sobre a superfície, com a evaporação do solvente, inicia-se o processo de reticulação (cross linking). Trata-se neste caso de uma reticulação química, processo em que os polímeros se interligam, produzindo uma rede polimérica tridimensional o que equivale a obtermos um polímero com uma massa molar extremamente elevada.

Com o aumento da reticulação, a estrutura torna-se mais rígida e o filme fica desta forma aplicado de uma forma homogénea sobre a superfície, proporcionando brilho por reflexão da luz.

Cristalizador

Os cristalizadores servem para fornecer resistência e brilho a revestimentos de pedra.

A conceção de um cristalizador envolve a formação de cristais por mecanismos eletrostáticos que conferem rigidez e brilho ao pavimento. Uma formulação de cristalizador possui ácidos inorgânicos que conferem um pH muito baixo à solução. Esta ao ser aplicada sobre a superfície de mármore, vai provocar uma troca de iões, os cálcios vão deixar de estar associados aos carbonatos para estar ligados aos iões dos ácidos que se encontram na solução do cristalizador, através de uma associação eletrostática, dando início à formação do cristal.

O grande problema dos cristalizadores é o facto de possuírem na sua constituição compostos como o fluorsilicato de magnésio, que é um composto químico tóxico para o ser Humano.

Nos primórdios dos cristalizadores utilizava-se o ácido oxálico, um ácido orgânico saturado, incolor, que cristaliza a partir de soluções aquosas com duas moléculas de H₂O. Estes podem ser transformados em sais de oxalato durante o transporte para a atmosfera, numa mistura de compostos oxálicos que contêm ácidos. A maior parte do ácido oxálico está presente como um metal nos complexos de oxalatos de aerossóis. Aerossóis atmosféricos afetam o clima diretamente através de dispersão e absorção da radiação solar^[37].

Além disso, o oxalato ocorre em muitas plantas e é também o principal constituinte do tipo mais comum de pedra nos rins ^[37], pois este reage quimicamente com certos compostos comumente encontrados no corpo humano, tais como magnésio e cálcio. Quando se combinam, o resultado é, em termos químicos, um sal denominado por oxalatos.

Os oxalatos vão privar o Homem de certos nutrientes essenciais, dando origem à conhecida doença de pedra nos rins, uma doença urológica, em que 80% deriva de oxalatos de cálcio.

Por esta razão o ácido oxálico foi substituído pelo fluorsilicato de magnésio em mistura com um ou mais ácidos em solução. O fluorsilicato, responsável pela formação de cristais, e o ácido para conferir à solução um pH muito baixo de modo a digerir a camada superficial das pedras a quando da aplicação do produto.

Porém o fluorsilicato de magnésio quando sujeito a elevadas temperaturas liberta ácido fluorídrico (HF) na forma gasosa.



Os compostos de fluor na forma gasosa, mesmo em baixas concentrações, podem resultar em problemas para o meio ambiente e para o ser humano. O fluoreto pode ser absorvido pelo organismo humano por meio da ingestão, inalação e/ou absorção.

O grande desafio deste projeto é encontrar um composto químico capaz de formar cristais, tal como o ácido oxálico e o fluor silicato de magnésio, e ao mesmo tempo que não apresente estes problemas a nível ambiental e para a saúde humana. A formulação mais comum atualmente encontrada no mercado tem como base os seguintes compostos:

Formulação alvo:

Água

Fluor-silicato de Magnésio

Emulsão de cera

Ácido fosfórico

Álcoois gordos etoxilados

Corante

Cloreto de Cálcio

O processo de cristalização ocorre devido à associação eletrostática entre os iões de fluor-silicato de magnésio, provenientes da formulação e os cálcios que se encontram no mármore.

Este complexo de silicato de cálcio precipita dentro da matriz polimérica, as ceras, formando cristais, organizados num padrão tridimensional bem definido, que se repete no espaço, formando uma estrutura com uma geometria específica^[38].

Formação de Cristais

Os cristais caracterizam-se por possuírem uma composição química bem definida e uma estrutura atómica ordenada. A estrutura de um cristal é composta por unidades regulares que se repetem para constituir um retículo, ou seja uma rede tridimensional. As unidades têm forma de poliedros, sólidos geométricos cujas faces, também chamadas de planos, são poligonais: triangulares, quadradas, pentagonais, hexagonais, etc.

A simetria é uma característica fundamental dos cristais. Os elementos constituintes situam-se em posições simétricas em relação a um ponto, eixo ou plano^[39].

A forma de um cristal é, sem dúvida, a sua peculiaridade mais destacada. Os cristais equidimensionais são os que possuem, aproximadamente, as mesmas medidas nas três dimensões do espaço. Quando a forma é alongada, e de acordo com a sua espessura, os cristais podem ser aciculares, isto é, em forma de agulha. Quando são alongados e as suas faces se distinguem claramente, dizemos que estes cristais têm hábito prismático. Quando são espalmados em vez de alongados, podem ser lamelares (em forma de lamela), se forem muito finos, ou tabulares, quando têm uma determinada espessura.



A crosta terrestre é constituída essencialmente (99%) por oito elementos, sendo que o oxigénio e o silício constituem quase dois terços da percentagem. Estes dois elementos combinam-se entre si de múltiplas formas, constituindo o grupo mais comum dos minerais: os silicatos^[40].

As três principais formas cristalinas de silicato, SiO₂, (quartzo, tridimite, cristobalite) possuem estruturas cristalinas muito diferentes, tendo em conta um campo de estabilidade bem definido sob condições de equilíbrio. Cada forma cristalina de SiO₂ tem além disso um polimorfo α e β . O polimorfo α é característico das baixas temperaturas, e o β forma-se mais frequentemente quando sujeito a altas temperaturas^[41]. Um dos objetivos do nosso trabalho é obter a forma α bem definida, que corresponde ao polimorfo de baixa temperatura.

Compreendendo que o princípio base do cristalizador é a ligação eletrostática entre o silicato e o cálcio, é da reação que se consegue possuir a capacidade de controlar o número de cristais e a sua forma.

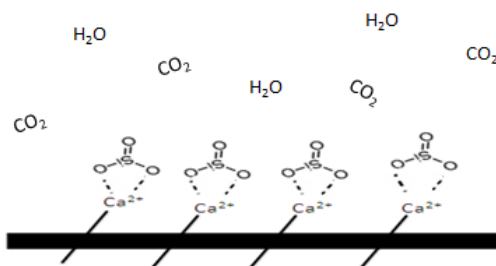
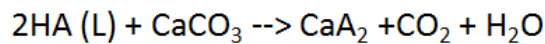


Figura 17: Princípio do Cristalizador

Dentro da grande gama de produtos químicos disponíveis equacionou-se o uso do silicato de sódio, Na₂SiO₃, representado na figura 18, um sal inorgânico que ao precipitar forma cristais transparentes e muito bem definidos. É utilizado na indústria automóvel, produtos têxteis e madeiras, e não apresentando tantos malefícios para o ambiente e para a saúde pública como o fluor silicato de magnésio. Uma vez que possui duas cargas negativas, quando em solução aquosa, vão estar estabilizadas por duas moléculas de sódio. Porém quando em contacto com o mármore, as duas cargas negativas vão reagir com as duas cargas positivas do cálcio que o mármore possui, formando um cristal transparente e bem definido.

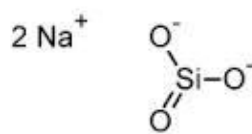


Figura 18: Silicato de sódio^[42]



O silicato de sódio é um sólido branco solúvel que em água apresenta um ponto de fusão relativamente elevado, 1088°C. Comercialmente, podemos encontra-lo em solução no estado líquido, com uma cor transparente e inodoro. Esta solução de silicato de sódio apresenta um pH alcalino.

A densificação de cristais líquidos é monoatômica e iónica devido ao encurtamento das distâncias atômicas e pelo aumento do número de coordenação. Além disso, a mudança de rede tridimensional criada pela ligação tetraédrica entre o oxigénio e o silicato, pode contribuir para a densificação^[43].

Segundo a Diretiva 67/548/EEC (27 de Junho de 1967), relacionada com as disposições legislativas, regulamentares e administrativas de classificação, embalagem e rotulagem de substâncias perigosas, o silicato de sódio não apresenta quaisquer riscos para a saúde humana e para o meio ambiente.

Este é estável em soluções neutras e alcalinas. Contudo em soluções ácidas, o ião silicato reage com o protão para formar o ácido silícico, o qual quando aquecido e calcinado forma sílica gel, uma substância dura e vítrea. Dado que a formulação de cristalizador será elaborada com a incorporação de ácidos inorgânicos, com um pH bastante baixo, iremos ter em solução, ácido silícico. Uma forma de evitarmos que este agregue e precipite, é possuímos polímeros e tensoativos na formulação, para desta forma dispersarmos o ácido silícico.

A formulação de cristalizador tem de possuir um pH ácido para promover a troca de ião no cálcio, ou seja, o pH ácido permite a dissolução do carbonato de cálcio à superfície permitindo desta forma a mudança no complexo de cálcio, de carbonato de cálcio para silicato de cálcio, sempre por associações eletrostáticas. A adição de ácido fosfórico (H_3PO_4) em solução confere um pH baixo à formulação e permite este ataque. É um composto líquido, incolor, solúvel em água e etanol e tem a capacidade de absorver a humidade do ar e conseguir dissolver-se^[43].

Para além do ácido fosfórico adicionou-se ácido tartárico, porque para além de reduzir o pH também forma cristais incolores ao precipitar. Este é encontrado geralmente no estado sólido, cristais de cor branca, inodoro, estável ao ar e à luz, é solúvel em água e biodegradável^[43].

Tira-Gorduras

O tira-gorduras possui a função de remover os triglicerídeos. Esta remoção pode ser conduzida de várias formas como quebrar as ligações éster dos triglicerídeos.

Estes possuem na generalidade, uma mistura de tensoativos, para estabilizar a solução e permitir uma maior facilidade de remoção da gordura, assim como compostos carboxilados com a função de sequestrantes de sais divalentes, glicóis como solventes e hidróxido de potássio ou sódio para saponificar as gorduras.

O grande desafio é encontrar um composto químico capaz de remover a gordura do substrato, necessitando para isso de ser capaz de quebrar a ligação éster do triglicerídeo (saponificação), facilitando deste modo eficientemente a remoção eficaz da gordura. O objetivo



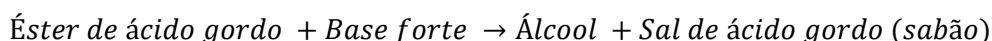
passa também por regular o pH do produto desenvolvido para valores entre 7 e 9 evitando-se pH demasiado elevados como encontrados nos Tira-gorduras do mercado. A formulação mais comum atualmente encontrada no mercado possui um pH entre 13 a 14, o que o torna um produto muito caustico. A alcalinidade apresentada pelo produto provém na maioria das vezes da grande percentagem de silicatos de sódio, ou hidróxido de sódio ou até mesmo hidróxido de cálcio, que existe na formulação.

Saponificação

Saponificação é a reação química que ocorre entre um triglicerídeo existente num óleo ou numa gordura com uma base forte, levando à quebra das ligações éster do triglicerídeo.

O sabão é um sal de ácidos carboxílicos e, por possuir uma longa cadeia carbonada na sua estrutura molecular, ele é capaz de se solubilizar tanto em meios polares quanto em meios apolares. Além disso o sabão é um tensoativo, ou seja, reduz a tensão superficial da água fazendo com que a molhabilidade aumente.

A reação alcalina de saponificação pode ser representada pela seguinte equação:



No exemplo indicado em baixo, a reação ocorre com a soda cáustica, sendo um processo muito usado industrialmente e a nível doméstico. Os radicais R, R1 e R2 representam as cadeias carbonadas longas, características dos ácidos gordos.

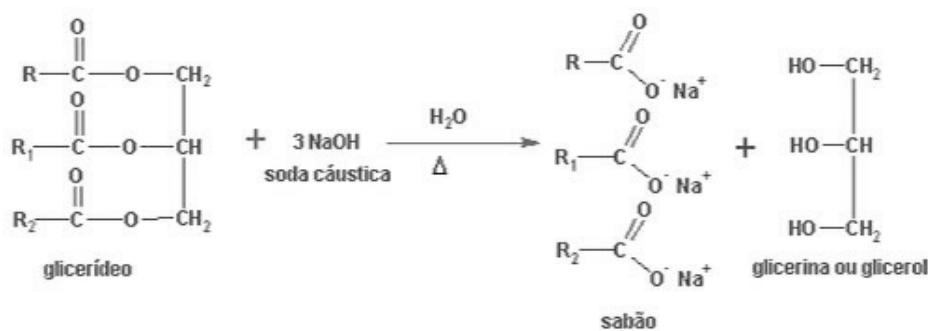


Figura 19: Reação de saponificação^[44]

Enzimas

As enzimas são proteínas com funções catalíticas indispensáveis à manutenção da vida. Na Natureza, as enzimas promovem a interconversão de um vasto número de espécies químicas, gerando o material e a energia necessários à sobrevivência e ao crescimento das células. Assim, as enzimas atuam como catalisadores altamente seletivos, de tal forma que conseguem catalisar reações específicas em substratos específicos.

Nos últimos anos, a biocatálise, que se pode definir como a utilização de catalisadores biológicos, células ou enzimas isoladas, para promover a transformação de moléculas, tem



encontrado um campo de aplicação cada vez mais vasto. De facto, as enzimas ocupam já uma posição única em química orgânica sintética por serem catalisadores seletivos e eficientes sob condições reacionais suaves^[45].

Enzimas como catalisadores de reações

As enzimas, catalisadores biológicos, devem obedecer a critérios de atividade, estabilidade e seletividade, além disso, oferecem vantagens notáveis em síntese orgânica. Com efeito, promovem reações com elevada químio-, regio- e estereo-seletividade, possibilitando a síntese de compostos complexos e/ou opticamente ativos, sendo, portanto, vantajosas na síntese de moléculas com diversos grupos funcionais semelhantes ou com estereocentros. Vários exemplos mostram a capacidade dos biocatalisadores para promover reações difíceis ou impossíveis pelas vias sintéticas clássicas^[45-46].

Além disso, as enzimas são catalisadores eficientes do ponto de vista energético, dado operarem a temperaturas e pressões moderadas. Em muitos casos, o meio reacional é a água e o pH do meio situa-se numa gama moderada, oferecendo condições reacionais suaves. Adicionalmente, os biocatalisadores são naturais e, portanto, com um impacto ecológico menor que os catalisadores sintéticos, os quais são, por vezes, obtidos por vias sintéticas complexas e poluentes.

As enzimas são classificadas em seis classes com base no tipo de reações catalisadas, de acordo com a Enzyme Commission, da International Union of Biochemistry and Molecular Biology. As classes principais de enzimas são, ainda, divididas em sub-classes e sub-grupos. As enzimas são individualmente classificadas de forma sistemática com base no nome químico do substrato natural e no mecanismo de reação^[45, 47].

As oxido-redutases catalisam reações de oxidação/redução, transferindo hidrogénio, oxigénio e/ou eletrões entre moléculas. As desidrogenases (enzimas que catalisam a transferência de hidrogénio), as oxidases (enzimas que transferem oxigénio molecular), as oxigenases (enzimas que catalisam a transferência de oxigénio a partir de oxigénio molecular) e as peroxidases (enzimas que transferem eletrões para peróxidos) pertencem a classe de enzimas oxido-redutases.

As oxido-redutases são dependentes de cofatores, os quais fornecem ou aceitam o(s) equivalente(s) de oxidação ou de redução. Os cofatores mais comuns são NADH/NAD⁺, NADPH/NADP⁺, FADH/FAD⁺, ATP/ADP e PQQ. Devido ao elevado custo dos cofatores, a sua regeneração eficiente é essencial para a implementação de processos industriais usando oxido-redutases isoladas como catalisadores.

As transferases catalisam a transferência de grupos químicos, por exemplo acilo, fosforilo, glicosilo ou amino, de um dador para um aceitador adequado. Algumas destas enzimas exibem elevada regio- e estereo-seletividade.

As hidrolases catalisam a clivagem hidrolítica de ligações C-O, C-N, C-C, P-O, entre outras. Assim, as esterases catalisam a hidrólise de ésteres, as proteases catalisam a hidrólise de



peptídeos e as lipases catalisam a hidrólise de acilgliceróis. Uma grande parte das enzimas comercialmente disponíveis pertence a esta classe.

As liases catalisam a clivagem não hidrolítica de ligações C-C, C-N, C-O, por reações de eliminação dando produtos com dupla ligação. Na reação inversa, estas enzimas catalisam a adição de grupos à dupla ligação do substrato. São exemplos a fumarase, a aspartase, as descarboxilases, as desidratases, as aldolases e as oxinitrilases.

As isomerases catalisam reações de isomerização dentro da mesma molécula. Nesta classe de enzimas encontram-se epimerases, racemases, cis–trans isomerases, tautomerases e mutases, dependendo do tipo de reação que catalisam. O exemplo mais conhecido é a enzima glucose isomerase, usada industrialmente na produção de frutose.

As ligases catalisam a formação de uma ligação covalente C-O, C-S, C-N ou C-C entre duas moléculas, concomitante com a hidrólise de uma ligação pirofosfato no ATP ou num trifosfato semelhante.

As hidrolases são as enzimas usadas neste trabalho, concretamente, as lipases. Assim, passamos a rever as características e potencialidades sintéticas destas enzimas em particular.

Mecanismo catalítico e aplicações sintéticas das hidrolases

As hidrolases catalisam a clivagem hidrolítica de ligações C-O, C-N, C-C e P-O. As hidrolases são as enzimas mais comuns em processos industriais, inclusivamente ao nível da química fina. De facto, cerca de 80 % das enzimas usadas ao nível industrial são hidrolases^[45].

As hidrolases não requerem cofatores e, além de aceitarem uma grande diversidade de substratos não naturais, exibem elevada químio-, regio- e enantio-seletividade^[48].

As aplicações das hidrolases são muito diversas, incluindo esterificação de ácidos gordos e de hidratos de carbono na indústria alimentar ^[49], síntese industrial de compostos químicos, incluindo fármacos ^[50], formulações de detergentes e produção de cosméticos^[49].

As lipases, ou triacilglicerol acil hidrolases, catalisam *in vivo* a hidrólise de triacilgliceróis, estando amplamente distribuídas em microrganismos, plantas e animais.

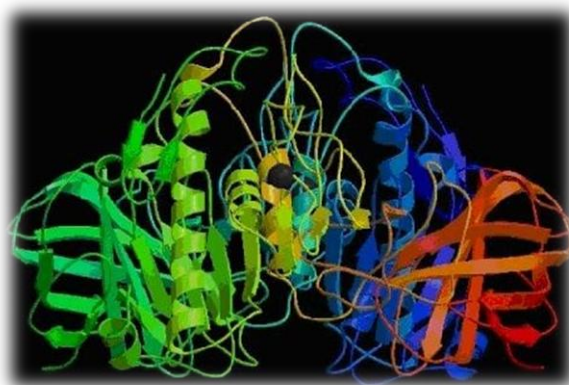


Figura 20: Estrutura de uma Lipase^[51]



Na maioria das lipases, existe uma parte da molécula da enzima que cobre o sítio ativo com uma estrutura hélice- α , e é chamada de flip flop (tampa). O lado da “tampa” voltado para o sítio catalítico, assim como as cadeias proteicas ao redor deste, são compostos principalmente por cadeias laterais hidrofóbicas. Em ambientes aquosos, sem o seu substrato natural, a “tampa” cobre o sítio catalítico, ficando a lipase assim inativa, e diz-se que ela está na sua forma “fechada”. Na presença de substratos hidrofóbicos, as lipases são “adsorvidas” na interface hidrofóbica, o que promove mudanças dramáticas na sua estrutura enzimática, levando à forma “aberta” da lipase, deixando assim a enzima ativa. Esta mudança na estrutura tridimensional da lipase em interfaces água/óleo é conhecida como “ativação interfacial”^[52].

As lipases são enzimas solúveis em água, que atuam sobre manchas que contém gorduras, transformando os triglicerídeos em ácidos gordos que, em pH alcalino, formam carboxilatos, que são solúveis em água.

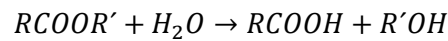


Figura 21: Reação de hidrólise de triglicerídeos por lipases^[53]



Capítulo 2

Resultados e Discussão

O desafio central deste projeto é compreender o funcionamento das três diferentes formulações, entender o papel de cada um dos componentes no seu desempenho, e desenvolver novos produtos com base nos conhecimentos adquiridos. As propriedades físico-químicas das ceras, do cristalizador e dos tira-gorduras, foram determinadas usando diferentes técnicas, e foi clarificada a contribuição que cada componente tem nestas, de modo a ser possível substituir os compostos que, tendo em conta o regulamento REACH, possuem um elevado grau de toxicidade e são considerados perigosos para a saúde pública e para o meio ambiente.

Verificou-se que as ceras possuem tensioativos fluorados, tensioativos que apresentam um certo grau de toxicidade. São utilizados nas formulações de ceras para impedir a separação de fase, evitando que haja coalescência em solução. Quanto aos cristalizadores que existem no mercado, verifica-se o uso de fluorsilicato de magnésio, podendo levar à libertação de ácido fluorídrico que é tóxico para o ser Humano. As formulações de tira-gorduras são muito cáusticas, proveniente da elevada concentração de hidróxidos que possuem na formulação, de modo a promoverem a hidrólise dos triglicerídeos.

Sabendo os princípios ativos dos diferentes compostos, podemos desenvolver/ procurar outras substâncias, que não apresentem malefícios para a saúde pública e para o meio ambiente, atingindo os mesmos resultados finais.

CONFIDENCIAL

Por questões de propriedades intelectual o capítulo 2 foi ocultado, de modo a garantirmos à entidade empresarial em questão o uso exclusivo do conhecimento físico-químico explorado na tese de mestrado apresentada.



Capítulo 3

Conclusões

Este projeto abordou o estudo e o desenvolvimento de novos revestimentos e produtos de limpeza estáveis e com características químico-físicas adequadas à sua aplicação. O projeto foi acompanhado por uma empresa Portuguesa que comercializa detergentes para uso doméstico e industrial, e visou uma abordagem fundamental, onde se discutiram aspetos de entendimento molecular, mas também uma abordagem prática de desenvolvimento de produtos para o mercado.

Foi utilizada uma grande diversidade de técnicas de caracterização, tanto a nível laboratorial como a nível de scale up.

As características reológicas, a estabilidade, assim como o brilho do filme formado depois dos revestimentos de uma eficiente formulação.

Para ceras de aplicação em superfícies foram selecionadas resinas poliméricas com graus de reticulação e massa molecular específicos para proporcionar a formação de filmes resistentes e com brilho elevado. Foi identificado também o papel dos tensoativos iónicos na estabilização das emulsões de cera, eliminado o típico fenómeno de separação de fase a temperaturas elevadas, quando a emulsão é estabilizada com tensoativos não iónicos.

A cera desenvolvida apresenta elevada estabilidade e brilho, e viscosidade adequada à aplicação. O brilho do filme é uma das características mais importantes das ceras, é proporcional à uniformidade da superfície do filme. Através de SEM, pode-se constatar que o substrato se encontra integralmente revestido pelo filme formado pela formulação desenvolvida. Verificou-se ainda que os filmes formados possuem uma temperatura de degradação muito elevada, permitindo a sua aplicação em grande parte das superfícies.

Para os cristalizadores, foram selecionados ácidos que permitem a regeneração das superfícies de mármore danificadas e, adicionalmente, foram incluídas resinas poliméricas para proteger as superfícies e conferir brilho. A formulação desenvolvida que melhores resultados obteve, reage com os carbonatos existentes nos pavimentos de mármore, permitindo que o cálcio forme novos complexos e regenere as superfícies. As características reológicas foram ajustadas para permitir a sua aplicação através de pulverização.

Os cristais formados pela interação eletrostática entre o cálcio e os vários aniões dos ácidos e sais em solução apresentam um brilho elevado e a capacidade de repelir o óleo, num efeito semelhante ao efeito de Lotus.

Para o tira-gordura foram incluídas moléculas para possibilitar a remoção de substâncias hidrofóbicas através de processos de emulsificação, solubilização, saponificação e ataque



enzimático. O hidróxido de zinco é responsável pela saponificação dos triglicérides que compõem as gorduras. Para a solução ser estável e o hidróxido de zinco permanecer em solução é necessário adicionarmos à formulação tensioativos que o emulsifiquem, de modo que este não precipite. A quantidade e tipo de tensioativo foi selecionado para permitir não só uma adequada emulsificação do hidróxido de zinco mas também uma eficiente emulsificação dos triglicérides das gorduras.

Os produtos estudados e desenvolvidos e desenvolvidos na UC estão em processo de patenteamento e ir-se-á iniciar a comercialização em breve.



Capítulo 4

Experimental

Técnicas

Quantificação de Água

Usou-se o equipamento Karl Fischer para quantificar a quantidade de água que continha a formulação de cera e de cristalizador.

Esta quantificação é baseada na oxidação de SO_2 pelo I_2 em presença de água.



RN = base (imidazol)

Karl Fischer propôs um reagente preparado pela ação de dióxido de enxofre sobre uma solução de iodo numa mistura de imidazol e metanol anidros. A água reage com este reagente num processo de duas etapas, no qual uma molécula de iodo desaparece para cada molécula de água presente^[54].

A determinação do ponto final da reação pode ser visual, isto é, quando for detetado um pequeno excesso de titulante, observa-se uma mudança de cor da solução, dá-se assim a viragem de amarelo para uma coloração parda.

Quantificação percentual do Extrato Seco

O método consiste em colocar uma quantidade de cera/cristalizador num copo com a massa pesada previamente. Coloca-se o copo dentro da estufa a $100^\circ C$ e deixa-se a água e os solventes evaporarem durante 24h. Quando se retira o copo da estufa, e após arrefecimento, volta-se a pesar, e o quociente entre a massa de sólido pesado e a massa de amostra pesada, multiplicada por 100, dá-nos informação percentual de extrato seco.

$$\frac{m(\text{sólido})}{m(\text{liquido})} \times 100$$



Determinação da Concentração de OH⁻

O método consiste numa titulação ácido base, quando determinado o ponto de viragem, com uma solução de ácido clorídrico de 0.1mol/L como titulante, conseguimos determinar a alcalinidade. De seguida obtemos a concentração de OH⁻.

Tensão Superficial

As moléculas que se encontram no seio de um líquido puro homogéneo, têm interações isotrópicas com as moléculas vizinhas, por ação de forças (atrativas e repulsivas) que dependem da distância intermolecular. Pelo contrário, as moléculas que se encontram na interface líquido-gás, possuem dois hemisférios vizinhos completamente diferentes^[55].

As moléculas situadas na parte líquida da interface do sistema possuem distâncias entre as moléculas inferiores às distâncias entre as moléculas situadas na parte gasosa. Por essa razão uma molécula situada na superfície do líquido interage muito mais fortemente com a sua vizinhança líquida.

Quando esta se aproxima da fase gasosa, fica sujeita a uma força atrativa resultante de todas as interações e dirigida para o interior do líquido.

As moléculas tendem pois a permanecer no interior do líquido, minimizando deste modo a energia de superfície e levando o líquido a adotar a forma com a menor área superficial possível, para um dado volume^[55].

Como um aumento de área superficial do líquido implica trazer moléculas do interior da solução para a superfície, aumentando-se a energia potencial total, isso só pode acontecer com a realização de trabalho. Para cada líquido, há um valor característico do trabalho por unidade de área a que se dá o nome de tensão superficial, γ . Esta representa assim uma energia superficial por unidade de área.

O valor lido na escala no ponto de desprendimento é a força exercida pela superfície do líquido sobre o anel, ou seja, a tensão superficial aparente P. A tensão superficial (Γ) é obtida multiplicando P pelo fator de correção F obtido na equação descrita em baixo.

Quando numa solução possuímos moléculas anfifílicas, vamos ter a parte polar da molécula “mergulhada” no líquido e a parte apolar fica no exterior do líquido em contacto com a parte gasosa. Quando a parte apolar da molécula anfifílicas é muito maior do que a parte polar, há uma formação de uma monocamada de soluto à superfície do líquido, como podemos ver na figura 47.

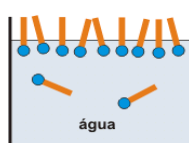


Figura 22: Representação da monocamada de soluto à superfície do líquido



Para concentrações mais elevadas, observa-se separação de fases ou, no caso dos tensioativos, formação de micelas (figura 48).



Figura 23: Representação da formação das micelas

$$T=P \times F$$

Através da representação gráfica do valor da tensão superficial de um líquido em função da concentração de tensioativos adicionados é possível obter o valor da concentração micelar crítica, que corresponde ao ponto de inflexão da curva da tensão superficial em função da concentração de tensioativos.

A tensão superficial das soluções foi analisada, ao longo das experiências, usando um tensiómetro TDI Lauda (tensiómetro de DuNouy).

Medidor de Brilho

Medidores de brilho são usados para medir a reflexão especular. A reflexão especular tem uma relação direta entre o quociente de luz incidente e luz refletida.

$$Brilho = \frac{Luz_{incidente}}{Luz_{refletida}}$$

O medidor de brilho Micro-TRI-gloss é um medidor de brilho portátil notavelmente compacto com ângulos múltiplos de medição que estão em total conformidade com as normas ISO, ASTM, DIN, BS e JIS. Este possui três ângulos de medição de brilho, 20°, 60° e 85°, uma ampla variedade de superfícies pode ser medida, de fosco a alto brilho.

Os estudos foram efetuados num micro-TRI-gloss, da BYK Gardner^[56].

Ângulo de Contacto

A eficiência dos revestimentos das superfícies depende primariamente do controlo da capacidade “molhante” da solução formadora de revestimento, afetando a espessura do revestimento. As formulações de revestimentos edíveis deverão molhar e espalhar-se uniformemente na superfície do piso. Após secagem, os revestimentos deverão ter uma adesão, coesão e durabilidade adequada^[4]. Enquanto as forças adesivas fazem com que o líquido se espalhe sobre a superfície sólida, as forças coesivas fazem com que o fluido se contraia^[4].

O ângulo de contacto da gota de líquido na superfície sólida é definido pelo equilíbrio mecânico da gota sob a ação de três tensões interfaciais: sólido-vapor (γ_{SV}), sólido-líquido (γ_{SL}) e líquido-vapor (γ_{LV}).

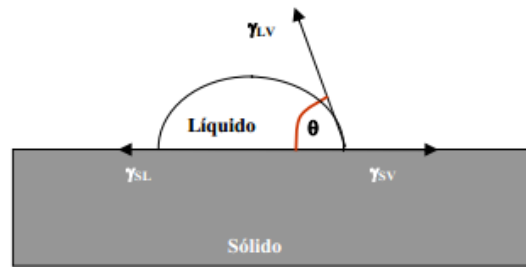


Figura 24: Esquema representativo das tensões interfaciais existentes num sistema trifásico, em que duas das fases estão condensadas.

Esta relação de equilíbrio é conhecida como equação de Laplace Young^[4].

$$\cos \theta = \frac{(\gamma_{SV} - \gamma_{SL})}{\gamma_{LV}}$$

A equação de Laplace Young fornece uma definição termodinâmica do ângulo de contacto.

Construindo um gráfico $\cos \theta$ versus γ_{LV} poderá obter-se o valor da tensão superficial do líquido.

O nosso estudo foi feito com o OCA 20, e o fluido usado foi água, à temperatura ambiente.

Microscopia eletrónica de Varrimento (SEM)

O princípio de funcionamento do SEM baseia-se na incidência de um feixe de eletrões num ponto da superfície da amostra, e a subsequente recolha dos sinais eletrónicos emitidos pelo material. As amostras são percorridas sequencialmente por um feixe de eletrões acelerado, resultando a emissão de diversos tipos de radiação e eletrões, entre os quais os eletrões secundários (ES) utilizados na formulação da imagem da amostra. Os eletrões retrodifundidos (ER) permitem a distinção, na amostra em análise, de regiões de átomos leves e pesados^[57].

O equipamento SEM é fornecido com um dispositivo de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS), para a microanálise de elementos por EDS^[58].

As observações das ceras foram realizadas sem previamente ser efetuado qualquer revestimento adicional da superfície com filme de carbono. Os cristalizadores foram revestidos por um filme de carbono, para serem analisados. As imagens das ceras foram obtidas em diferentes ampliações (1000 e 3500x), assim como os cristalizadores (200, 1500x) e microanálise por EDS (análise específica e geral) foi realizada para cada ampliação nas ceras e nos cristalizadores foi realizada a uma ampliação de 200.



Reologia

A Reologia é a ciência que estuda a deformação e o fluxo da matéria. Os testes reológicos dão-nos informação sobre a fluidez do material, eles medem as propriedades reológicas de fluidos complexos em função da velocidade de corte ou da frequência da deformação^[59].

Nos testes rotacionais a amostra é colocada entre dois pratos paralelos e é-lhe aplicada uma força controlada.

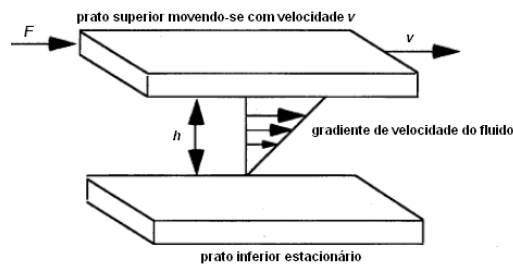


Figura 25: Representação da velocidade de corte para pratos paralelos

Os pratos estão separados por uma certa altura h , muito inferior às dimensões dos pratos. Quando a força F é aplicada, paralela ao prato superior (prato móvel) a porção de fluido em contacto com esse prato vai adquirir uma velocidade v , enquanto a porção de fluido em contacto com o prato inferior (prato fixo) não se move, existindo portanto um gradiente de velocidades na amostra, como podemos observar na figura 50^[60].

Se a viscosidade se mantiver constante com o aumento da velocidade de corte estamos na presença de um fluido Newtoniano. Caso a viscosidade se altere com a variação da velocidade de corte, estamos na presença de um fluido não-Newtoniano, como se pode analisar na figura 51.

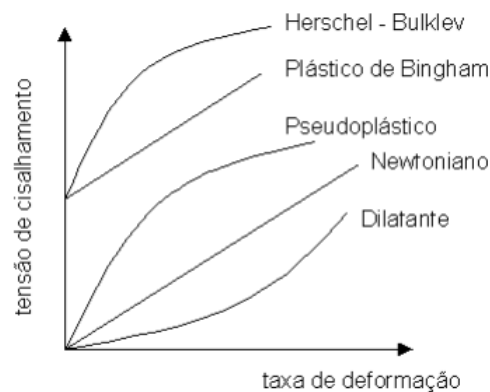


Figura 26: Curvas de escoamento de fluidos newtonianos e não newtonianos

Os testes reológicos foram efetuados num réómetro Reologica StressTech, usando a geometria cone e copo, CC15 (cone e um copo com 15 mm de diâmetro), com o controlo de temperatura efetuado pelo sistema de banho de água.



Dispersão Dinâmica de Luz (DLS)

A técnica de DLS mede a variação da intensidade de luz espalhada pelas gotas que passam por movimento browniano^[61].

Quando um feixe de luz passa através de uma dispersão coloidal, um movimento oscilante de dipolo é induzido nas partículas, irradiando assim a luz^[62]. A intensidade da luz espalhada será relacionada com a direção de polarização da luz incidente, do ângulo de espalhamento e dos parâmetros da solução. Partículas dispersas num meio líquido movem-se ao acaso (movimento Browniano). Esse movimento causa flutuações de concentração num dado volume da solução em função do tempo. No espalhamento de luz dinâmico a intensidade de espalhamento (em curtos intervalos de tempo) é registrada como função do tempo, e flutuações nessa intensidade de espalhamento são observadas como variações de concentração no volume de espalhamento. O tempo necessário para as flutuações na intensidade de luz espalhada acontecerem é a característica mais importante do sinal, uma vez que esse tempo contém informação sobre as propriedades dinâmicas das moléculas do soluto^[63].

Neste projeto foi usado um equipamento da marca Malvern, modelo zetalyzer nano.

Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) mede a variação de massa em função da temperatura numa atmosfera controlada.

Esta técnica possibilita o conhecimento e observação das alterações que a amostra ou a substância adquire no decorrer do ensaio permitindo a verificação de aspetos relacionados com a decomposição, oxidação, combustão etc. São existentes três tipos de análises termogravimétricas são elas: “TG isotérmica”, “TG quase isotérmica” e “TG dinâmica ou convencional”.

Na TG isotérmica, a massa da substância é registrada em função do tempo a uma temperatura constante. Na TG quase-isotérmica, a amostra é aquecida a uma razão de aquecimento linear enquanto não ocorre variação de massa, a partir do momento que a balança deteta a variação da massa, a temperatura é mantida constante até se obter nova condição e assim sucessivamente durante uma programação estabelecida anteriormente. No TG dinâmica ou convencional, a amostra é aquecida ou resfriada num ambiente cuja temperatura varia de maneira pré-determinada, de preferência, a uma razão de aquecimento ou resfriamento linear.

As experiências realizadas com o objetivo de verificar uma alteração de massa num determinado “item”, devem ser realizadas com o auxílio de uma termobalança (associação forno-balança), existindo assim, a possibilidade de permitir um trabalho sob as mais variadas condições experimentais: diferentes atmosferas, razões de aquecimento/resfriamento, entre outros parâmetros^[64].

Foram utilizados cadinhos de alumina como porta-amostras colocados na termobalança para se realizar a análise.



Difração de Raio-X

A difração de raio-X é uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos, encontrando aplicações em diversos campos do conhecimento, como na Física, ciência de materiais, engenharia metalúrgica, dentre outros^[65].

Esta representa o fenômeno de interação entre o feixe de raios-X incidente e os elétrons dos átomos componentes de um material, relacionando o espalhamento coerente. A técnica consiste na incidência da radiação numa amostra e na detecção dos fótons difratados, que constituem o feixe difratado. Num material onde os átomos estejam arranjados periodicamente no espaço, característico das estruturas cristalinas, o fenômeno da difração de raios-X ocorre nas direções do espalhamento que satisfazem a Lei de Bragg (equação 1)^[66].

Admitindo que um feixe monocromático de determinado comprimento de onda (λ) incide sobre um cristal a um ângulo θ , chamado de ângulo de Bragg, tem-se:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

Equação 1: Lei de Bragg^[66]

onde, θ corresponde ao ângulo medido entre o feixe incidente e os determinados planos do cristal, “d” é a distância entre os planos dos átomos e “n” a ordem de difração. A figura 52 representa a lei de Bragg.

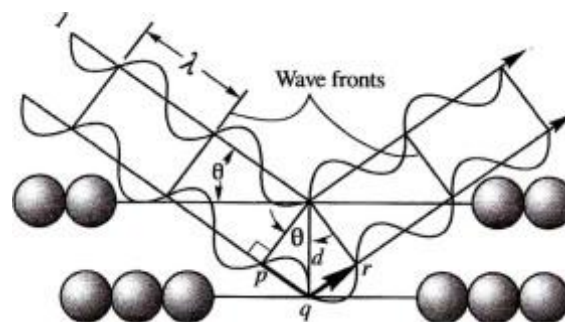


Figura 27: Esquema ilustrativo do fenômeno de difração de raios-X (Lei de Bragg)^[67]

Os instrumentos tradicionais de medida são o difratômetro (método do pó) e as câmaras de monocristais, estas últimas atualmente com o seu uso restrito a situações específicas para determinação de parâmetros cristalográficos. No difratômetro tradicional a captação do eixo difratado é feito por meio de um detetor, segundo um arranjo geométrico conhecido como a geometria Bragg-Brentano (figura 52), que habilita a obtenção do ângulo 2θ ^[66].

As análises de difração de raios-X foram realizadas num equipamento da marca Siemens modelo D500.



Infravermelho com ATR

A refletância total atenuada (ATR) é hoje a mais utilizada ferramenta de amostragem de infravermelho (FTIR). O ATR geralmente permite a análise qualitativa ou quantitativa da amostra com pouca ou nenhuma preparação da amostra, que acelera bastante a análise da amostra. O principal benefício do ATR vem do percurso ótico de amostragem, muito fino e com uma profundidade de penetração do feixe de infravermelhos para a amostra. Isto está em contraste com a amostragem de FTIR tradicional por transmissão onde a amostra deve ser diluída com sal transparente IR, prensados numa pastilha ou comprimido para um filme fino, antes da análise para impedir totalmente bandas absorventes no espectro de infravermelho^[68].

No ATR colocamos a amostra sobre um cristal, direcionamos o feixe de IR no cristal de relativamente maior índice de refração. O feixe de IR reflete a partir do interior da superfície do cristal e cria uma onda evanescente, que projeta ortogonalmente na amostra em contato íntimo com o cristal de ATR. Uma parte da energia da onda evanescente é absorvida pela amostra e a radiação refletida é devolvida para o detetor. Este fenómeno é ilustrado graficamente na seguinte representação^[68].

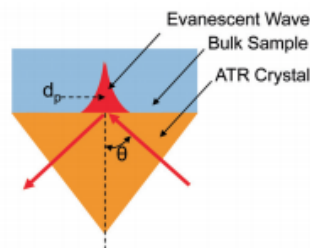


Figura 28: Representação gráfica de uma reflexão simples de ATR^[68]

Perfilómetro

A técnica de perfilometria utiliza uma agulha fina com ponta de diamante acoplada a um transformador diferencial variável linear. Na realização da medida a amostra deve estar bem fixada ao substrato, para não ser arrastada pela agulha do perfilómetro durante a medida. Para se analisar a espessura, a amostra é primeiramente riscada com uma ponta fina de forma a remover completamente o depósito sem riscar ou deformar o substrato e a varredura da agulha do perfilómetro é realizada na direção perpendicular à risca.

As medidas de perfilometria das amostras foram feitas com o perfilómetro Dektak XT da Bruker.



Espetroscopia UV-Vis

Esta técnica utiliza basicamente o princípio de que os átomos livres gerados num atomizador são capazes de absorver radiação de frequência específica que é emitida por uma fonte espectral. A quantidade obedece desta forma, ao princípio da lei de Beer Lambert (equação 4.3.15.1).

$$A = \varepsilon cl$$

(4.3.15.1)

Os espectros de absorção dos compostos em estudo foram traçados à temperatura ambiente num espectrofotómetro Shimadzu UV-2100, utilizando células de quartzo de quatro faces com percurso óptico de 1cm.

Dicroísmo Circular

Dicroísmo circular (CD) é uma técnica de espectroscopia rápida e relativamente fácil para estudar moléculas quirais em solução, como por exemplo, proteínas. Através do reconhecimento das características espectrais de CD das diferentes estruturas secundárias existentes nas proteínas (hélice- α ou folha- β), é possível determinar a quantidade destas estruturas para diferentes proteínas e/ou para a mesma proteína em várias condições experimentais.

A técnica de CD baseia-se na diferença de absorção entre a luz circular polarizada à esquerda e luz circular polarizada à esquerda por moléculas opticamente ativas^[69].

Circular

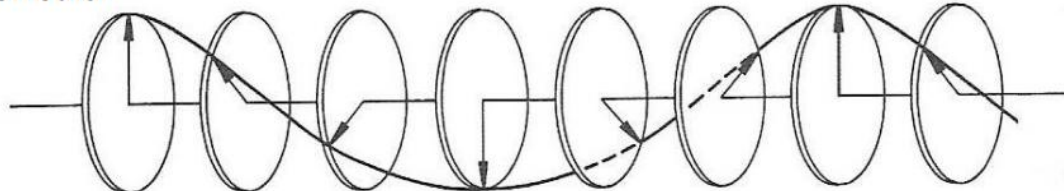


Figura 29: Luz circular polarizada

O dicroísmo circular na região do espectro eletromagnético referente ao ultravioleta longínquo cujo comprimento de onda se estende de 190 a 260nm corresponde à região dominada pelo esqueleto peptídico. Um grande número de experiências têm revelado que, pelo menos, qualitativamente, a natureza das cadeias laterais alifáticas não afetam significativamente o espectro de CD nesta região. Portanto, como aproximação, consideramos uma proteína simplesmente como uma combinação linear das regiões do esqueleto peptídico com hélice- α , folha- β ou estruturas desordenada ou sem estrutura definida (“random coil”) ^[70] O conjunto de espectros de cada uma destas estruturas secundárias é representado na figura seguinte.

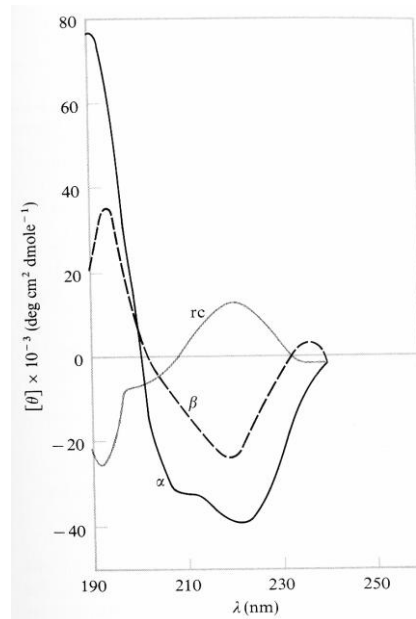


Figura 30: Espectro de CD para as estruturas helice- α , folha- β e "random coil" [70]

Como se pode observar os espectros da figura 54, são bastante distintos. A estrutura em hélice α apresenta dois mínimos no espectro de CD (a cerca de 208 e 220 nm) enquanto que a estrutura em folha- β apresenta apenas um mínimo a cerca de 215 nm. A estrutura desordenada de proteínas apresenta um espectro com um mínimo a cerca de 195 nm. Assim, é possível avaliar a estabilidade estrutural de uma proteína pela análise de espectros de CD obtidos em diferentes condições experimentais.

Teste de Escorregamento

O escorregamento pode ser definido como sendo um decréscimo intenso no valor do coeficiente de atrito entre o corpo em movimento e a superfície de apoio, ocorrido de maneira brusca.

O ato de escorregar pode ser definido como sendo uma perda de equilíbrio causada por um movimento inesperado, imprevisto e fora de controlo, do pé, sendo usualmente produto final de um coeficiente de atrito insuficiente.

O ensaio de medição do coeficiente de atrito estático/escorregamento é realizado com um Pêndulo vertical em relação amostra e que ao passar sobre a amostra regista o valor do ângulo formado. Pode ser medido em superfícies lisas ou rugosas. Entre a superfície a analisar e o pêndulo há um material de borracha padronizado para simular os pés calçados. O método é utilizado sobre superfícies húmidas e ou secas. Deve-se garantir que a borracha aplicada esteja posicionada paralelamente a superfície de ensaio.

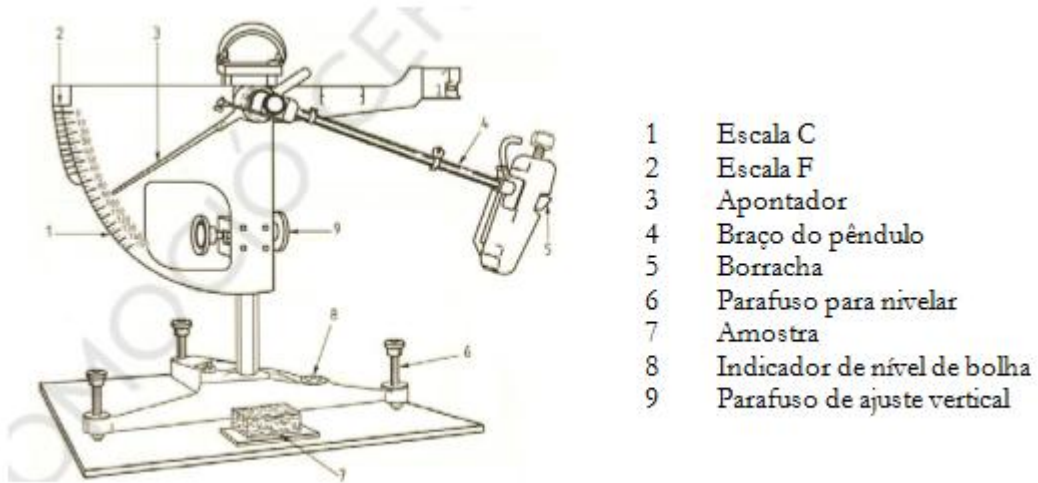


Figura 31: Teste de fricção da borracha

Tendo em conta o valor do ângulo obtido na escala C (número 1 da figura 55), correspondeste ao valor da resistência de escorregamento (R_d), consegue-se obter a respetiva classe da superfície.

Classificação do piso	
Resistência ao escorregamento (R_d)	Classe do piso
$R_d \leq 15$	Classe 0
$15 < R_d \leq 35$	Classe 1
$35 < R_d \leq 45$	Classe 2
$R_d > 45$	Classe 3

Tabela 1: Classificação da classe do piso em função do risco de escorregamento, tendo em conta a Norma ENV 12633



FLOOR CLASS AS A FUNCTION OF SLIP RISK	
Area	Floor class
Dry internal areas	
- surfaces with a slope of less than 6%	Class 1
- surfaces with a slope of 6% or higher and stairs	Class 2
Wet internal areas, such as bathrooms, kitchens, indoor swimming pools, etc. ⁽¹⁾	
- surfaces with a slope of less than 6%	Class 2
- surfaces with a slope of 6% or higher and stairs	Class 3
Internal areas in which, in addition to water, there may be agents that reduce slip resistance (grease, lubricants, etc.), such as industrial kitchens, slaughter houses, garages, areas of industrial use, etc.	Class 3
External areas. Swimming pools ⁽²⁾	Class 3



Bibliografia

- [1] a) B.Lindman in *Surfactant-Polymer Systems*, Vol. K. Holmberg (Ed.), John Wiley & Sons, Ltd: West Sussex, **2002**, p. 445; b) M. J. M. J. Sérgio Seixas de Melo, Hugh D. Burrows, Maria Helena Gil, *Química de Polímeros*, Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, p.
- [2] in *Teoria e Prática dos Tensioativos*, Vol. Química Geral Sul, Ltda.
- [3] a) H. W. D.F.Evans, *The Colloidal Domain – where physics, Biology and Technology Meet*, Wiley-VCH:New York, 2ªedição, **1999**, p; b) B. J. K.Holmberg, B. Kronberg, B. Lindman., *Surfactants and polymers in Aqueous Solutions*, John Wiley & Sons, Ltd: West Sussex, 2ªedição, **2003**, p.
- [4] D. J. Shaw, *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, Oxford: Butterworth Heinemann, **4º edição, 1992**, p.
- [5] J. H. Fendler, *Membrane Mimetic Chemistry*, Wiley-Interscience: New York, **1982**, p.
- [6] S. Y. L. L. J. Chen, C. C.Huang e E. M. Chen, *Colloids and Surfaces: Physicochemical and Engineering Aspects* **1998**, 135, 1-3, 175-181.
- [7] K. H. U. M. W. H., W. Steiling e W.M., In: *18th IFSCC International Congress; The Cosmetic Image - A Mosaic of Biosciences IFSCC (1994)*, 4, 317-323.
- [8] in *Environmental assessment of laundry detergents; Surfactants*, Vol.
- [9] D. T. d. B. G. y. G. P. Heiko Greimann, Director de Servicios Técnicos de Danisco Animal Nutrition in *La betaína mejora la utilización de la energía en cerdos*, Vol. CLADAN Nutricion Animal, **2010**.
- [10] H.-U. Kim and K.-H. Lim, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2004**, 235, 1-3,121-128.
- [11] a) M. D. J. Israelachvili J.N., Ninham B.W., J, **1976**, 1525; b) N. B. W. D.J., **1981**, 601.
- [12] L. P. e. G. K. B. Lindman in *Phase Behavior of Polymer-Surfactant Systems*, Vol. J. C. T. Kwak (Ed.), Marcel Dekker, Inc.: New York **1998**, p. 65.
- [13] D. T. Wasan, et al in *Surfactants in Chemical/Process Engineering (Surfactant Science)*, Vol. CRC Press; 1 edition (May 19, 1988), **1998**, p. 544
- [14] A. G. d. e. a. OLIVEIRA in *Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos*, Vol. Quím. Nova, **2004**, volume **27**, nº1, páginas **131-138**.
- [15] C.-T. M. D. Garza C., Castillo R., **2004**, 276.
- [16] R. Koningsveld, W. H. Stockmayer and E. Nies, *Polymer Phase Diagrams*, Oxford University Press: New York, **2001**, p.
- [17] P. K. A. D. Jenkins, R. F. T. Stepto e U.W.Suter, *International Union of Pure and Applied Chemistry, Macromolecular Division Commission on Macromolecular nomenclature IUPAC Recommendations 1996*.
- [18] I. Teraoka, *Polymer Solutions_ An introduction to physical properties*, Wiley- Interscience, A John Wiley & Sons, Inc. Publication, Brooklyn, New York, **2002**, p.
- [19] C. A. Daniels, *Polymers: Structure and Properties*, Published by Technomic Pub Co, **1989**, p.
- [20] M. G. P. Bajaj, R. B.Chavan, *Polymer Gels and Networks* **1995**, 3, 221-239.
- [21] W. H. Tuminello in *Determining Molecular Weight Distributions From The rheological properties of polymer melts*, Vol. Presented at the Society of Rheology Meeting, Oct. , **1999**.
- [22] K. B. Lindman in *Polymer - Surfactant interactions - recent developments*, Vol. E.Goddard, K. Ananthapadmanabhan (Eds.), CRC Press: Boca Raton, **1993**, p. 203.
- [23] F. E. X. M. Juliana Tófono de Campos Leite Toneli, Kil Jin Park, *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, Especial* **2005**, 1, nº2, 181-204.
- [24] Y. R. e. S. H. Y. Akash Jain in *Effect of pH-sodium lauryl sulfate combination on solubilization of PG-300995 (an Anti-HIV agent): A technical note*, Vol. **2004**.
- [25] J. T. K. D. Penfold, *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2006**, 11, 337-344.



- [26] J. R. L. I. P. Purcell, R. K. Thomas, A. M. Howe e J. Penfold, **Langmuir** **1998**, *1*, 7, 1637-1645.
- [27] C. A. L. e. A. C. R. B. Iglesias, *International Journal of Pharmaceutics* **2003**, *258*, 179-191.
- [28] a) J. K. e. S. K. C. Note, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2006**, *288*, 158-164; b) B. L. e. M. M. F. Antunes, *Langmuir* **2005**, *21*, 10188-10196.
- [29] W. D. Callister Jr. in *Ciência e Engenharia dos Materiais - Uma Introdução.*, Vol. LTC - Livros Técnicos e Científicos S.A Rio de Janeiro, **2002**.
- [30] E. B. Mano in *Polímeros como Materiais de Engenharia*, Vol. Edgard Blucher Ltda. , São Paulo, **2002**.
- [31] V. L. i. Essence in *Ficha técnica de Etildiglicol (EDG)*, Vol. **23/01/2014**.
- [32] B. Dholakiya in *Unsaturated Polyester Resin for Specialty Applications*, *Polyester*, Vol. **2012**.
- [33] in *Vol.*
- [34] D. G. Grilo in *Resinas e as suas propriedades*, Vol. **2012**.
- [35] I. L. M. Fernanda M. B. Coutinho, Luiz C. de Santa Maria, *Polímeros: Ciência e Tecnologia, Instituto de Química, UERJ* **2003**, *13*, nº 1, 1-13.
- [36] in *Ingredients*, Vol.
- [37] H. H. Qingxin Ma, Chang Liu, *Atmospheric Environment* **2013**, *69*, 281-288.
- [38] R. S. A. G. E. L. O. P. D. L. H. G. Liddell.
- [39] in *Portam EMDIV; Uma janela para o Mundo*, Vol.
- [40] C. C. M. d. G. d. Barcelona) in *Os segredos dos Minerais*, Vol. RBA Coleccionables S.A.; Espanha, **2003**, p. 1.
- [41] R. A. H. W. A. Deer, J. Zussman in *Minerais Constituintes das Rochas*, Vol. Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª edição, Editora, **2000**.
- [42] in *Silicato de sódio*, Vol. **2013**.
- [43] M. Bauchy, *Journal of Chemical Physics* **2012**.
- [44] L. A. d. Souza in *Reação de Saponificação*, Vol.
- [45] S. H. Krishna in *Developments and trends in enzyme catalysis in*, Vol. **2002**, pp. Biotechnology Advances 20 (2002) 2239 – 2267.
- [46] K. Koeller in Wong, C.-H. *Enzymes for chemical synthesis*, Vol. **2001**, pp. 409, 232-239. .
- [47] K. F. T. Sinead Boyce in *Enzyme Classification*, Vol. **2001**, pp. 1-11.
- [48] R. S. Carrea in *Properties and Synthetic Applications of Enzymes in Organic Solvents*, Vol. **Angew Chem Int Ed Engl.** **2000 Jul 3;39(13):2226-2254**.
- [49] A. P. SAILAS BENJAMIN in *Candida rugosa Lipases: Molecular Biology and Versatility in Biotechnology*, Vol. **1998**, pp. Yeast 14, 1069–1087
- [50] S. M. Roberts in *Preparative biotransformations*, Vol. **2001**.
- [51] J. Massada in *Comunicação na área da Engenharia de Bioprocessos dá prémio à UA*, Vol. Jornal de Ciência Viva, Tecnologia e empreendedorismo, **2013**.
- [52] K.-E. J. a. T. Eggert in *Lipases for biotechnology*, Vol. **2002**, pp. 13:390–397.
- [53] K. H. P. Reis, H. Watzke, M. E. Leser e R. Miller, *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, *147–148*, 237-250.
- [54] P. D. K. J. Park and D. G. C. Antonio, *Análises de Materiais Biológicos*, Faculdade de Engenharia Agrícola; UNICAMP, **2º Semestre / 2006**, p.
- [55] *Tensão superficial de soluções aquosas de um tensoactivo,* " Laboratório de Química-Física, Técnico de Lisboa., p.
- [56] in *BYK-Gardner-microtrigloss-gloss-meter*, Vol. Labequiq.
- [57] C. Sá, *Digital Analyses of SEM images for materials characterization and interface/surface studies of biological materials*, CEMUP, Porto, p.
- [58] J. G. E. F. M. T. C. B. A. C. e. F. T. O. Monge-Amaya, *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review: An International Journal* **2013**, *34*, 422-428.
- [59] F. Antunes in *Mixed solutions of polymers and surfactants*, Vol. Coimbra, In PHD dissertation, **2006**.
- [60] A. L. Motyka, *Journal of Chemical Education* **1996**, *1*, 73.



- [61] P.N.Pusey, in: *Industrial Polymers: Characterisation by Molecular Weights*, Transcripta Books, London, J.H.S.Green and R.Dietz (eds.), **1973**, p.
- [62] T. F. Tadros, *An Introduction to Surfactants*, Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston, **2014**, p.
- [63] L. A. D. C. Teixeira in *QP 433 - Física- Química de Soluções de Polímeros e surfactantes; Dynamic Light Scattering*, Vol. **2002**.
- [64] Canevarolo, **2004**, 88.
- [65] P. D. H. Kahn, *PMI-2201 DIFRAÇÃO DE RAIOS X* p.
- [66] E. M. Teixeira in *REFINAMENTO DE TAMANHO DE PARTÍCULA E MICRODEFORMAÇÃO DE AMOSTRAS POLICRISTALINAS ATRAVÉS DE PERFIS TEORIAS CINEMÁTICA E DINÂMICA*, Vol. Fortaleza-Ceará, **2003**.
- [67] J. C. d. A. Filho in *Mineralogia Fundamental de Solos*, Vol.
- [68] P. technologies in *ATR-theory and applications*, Vol.
- [69] R. H. Giuliano Siligardi, Simon G.Patching, Mary K. Phillips-Jones in *Ligand- and drug-binding studies of membrane proteins Revealed through Dircular Dichroism Spectroscopy*, Vol. **January 2014, vol. 1838, Part A**, pp. 34-42.
- [70] P. R. S. Charles R. Cantor, *Biophysical Chemistry, Part II: Techniques for the Study of Biological Structure and Function*, W. H. Freeman and Company, New York, **1942**, p.