



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE SISTEMAS MICELARES REVERSOS E APLICAÇÃO
EM PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA**

GLÊCE MILENE SANTANA GOMES

**ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
2012**

GLÊCE MILENE SANTANA GOMES

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE SISTEMAS MICELARES REVERSOS E APLICAÇÃO
EM PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora:

Prof^a. *Dr. Sc.* Renata Cristina Ferreira Bonomo

Co-Orientadores:

Prof^a. *Dr. Sc.* Cristiane Martins Veloso

Prof^o. *Dr. Sc.* Luis Henrique Mendes da Silva

**ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
2012**

661.807 G614e	<p>Gomes, Glêce Milene Santana.</p> <p>Estudo da formação de sistemas micelares reversos e aplicação em processos de extração de α - lactoalbumina / Glêce Milene Santana Gomes. – Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2012. 65 fl..</p> <p>Dissertação do Programa de Pós-Graduação “<i>Strictu Senso</i>” do Curso de Especialização em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof^a. D Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo e co-orientação da Prof^a D Sc. Cristiane Martins Veloso e do Prof.. D Sc. Luis Henrique Mendes da Silva.</p> <p>1. Solventes orgânicos – Sistemas micelares reversos. 2. Solvente orgânico x álcool – Micelas reversas. 3. Sistemas micelares reversos - proteína α – lactoalbumina – Extração. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. II. Bonomo, Renata Cristina Ferreira. III. Veloso, Cristiane Martins. IV. Silva, Luis Henrique Mendes da. V. Título..</p> <p style="text-align: right;">CDD(21): 661.807</p>
------------------	---



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



Área de Concentração: Engenharia de Processos de Alimentos

Campus de Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "ESTUDO DA FORMAÇÃO DE SISTEMAS MICELARES REVERSOS E APLICAÇÃO EM PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA".

Autor: GLÉCE MILENE SANTANA GOMES

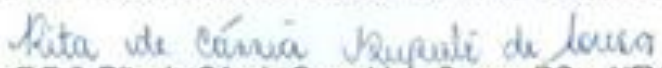
Orientadora: RENATA CRISTINA FERREIRA BONOMO, DSc., UESB

Co-orientadora: CRISTIANE MARTINS VELOSO DSc., UESB

Co-orientador: LUIS HENRIQUE MENDES DA SILVA, DSc., UFV

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE PROCESSOS DE ALIMENTOS, pela Banca Examinadora.


Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo, DSc., UESB


Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Superbi de Sousa, DSc., UFV


Prof.^a Dr.^a Alexilda Oliveira Souza, DSc., UESB

Data da Realização: 28 de fevereiro de 2012.

Aos meus pais, Dida e Orlando, às minhas irmãs, Cristina e Mili, e aos meus sobrinhos, Juninho e Artur.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, o responsável por todas as oportunidades que me faz tornar um ser humano melhor.

Aos meus pais, Dida e Orlando, pelo amor incondicional; às minhas irmãs, Cristina e Mili – e a meu cunhado Edmilson –, pelas palavras de incentivo e pela torcida, não deixando que eu desistisse; aos meus sobrinhos queridos, Juninho e Artur, pelos momentos de alegria os quais, também, me fizeram perceber que viver bem é estar com as pessoas que amamos e que morrer de rir é a melhor opção quando tudo parece dar errado. Às minhas tias, Gene, Silvinha e Marinei, pelas palavras de conforto e motivação. Aos primos, Cleinha e Bila, pelos momentos durante os quais me senti mais leve.

À orientação exemplar e admirável da professora Renata Bonomo através do incentivo, das palavras que me tranquilizaram, da confiança, da credibilidade e da amizade.

Aos professores Cristiane Martins Veloso e Luís Henrique Mendes da Silva pela orientação.

À colaboração preciosa dos professores Rafael Fontan e Paulo Bonomo.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPESB), pela bolsa concedida.

A Leandro Soares, Silmara Carvalho, Larissa Costa e Renata Ferreira, pelo auxílio profissional e pela amizade.

Aos amigos do LEP, principalmente, Mariana, Michelle, Laís e Gabriel que colaboraram para a realização do experimento.

Aos amigos de Viçosa que me acolheram e me auxiliaram nas análises: Vanessa e Evaldo; Lizzy e Aparecida Mageste, respectivamente.

Aos amigos de Itapetinga, em especial, às amigas Luciene e Neura pela generosidade de terem me acolhido no momento em que mais precisei.

Ao meu grande amigo Rúbner, pela cumplicidade, generosidade, pelas palavras que me fizeram sentir motivada nos momentos de desânimo e, também, pelas angústias compartilhadas.

Aos colegas do mestrado, em especial, Wilson pela amizade; e Betânia, pela hospitalidade no início do curso.

Às amigas Mécia, Anaclea, Calila e Lidiane, pelos conselhos que apaziguaram meu espírito; à Francy, pelos momentos de alegria, não deixando o desânimo chegar.

E a todos aqueles e aquelas, que de alguma forma, contribuíram por mais uma vitória em minha vida, minha eterna gratidão.

RESUMO¹

GOMES, Glêce Milene Santana, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Fevereiro de 2012. Estudo da Formação de Sistemas Micelares Reversos e Aplicação em Processos de Extração de α -Lactoalbumina. Orientadora: Prof^a. Dr. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-orientadores: Prof^a. Dr. Sc. Cristiane Martins Veloso e Prof^o. Dr. Sc. Luis Henrique Mendes da Silva.

No presente trabalho estudaram-se os sistemas micelares reversos formados pelo surfactante aniônico di-octil sulfossuccinato de sódio (AOT), os solventes orgânicos Iso-octano e Hexano e os alcoóis Isopropanol e Butanol. Inicialmente, foram determinados os valores de massa específica de cada componente puro e em misturas binárias e ternárias, assim como o volume molar de excesso das misturas binárias (solvente orgânico/álcool) na faixa de temperatura de 15 °C a 35 °C. Neste ponto, verificou-se que a massa específica das soluções binárias e ternárias diminuiu com o aumento da temperatura e o volume molar de excesso aumentou para o mesmo intervalo desta variável. E que a massa específica aumentou linearmente com a fração molar de AOT nos sistemas ternários. Em seguida, foram determinadas as curvas de solubilidade de água nos sistemas formados por surfactante-solvente orgânico-álcool, a partir das quais foi possível determinar as concentrações necessárias para a formação das micelas reversas. O terceiro estudo realizado foi a aplicação dos sistemas micelares reversos anteriores na extração da proteína α -lactoalbumina. Verificou-se que a extração nos sistemas com Iso-octano foi influenciado pelo tipo de álcool, enquanto aqueles que continham butanol obtiveram maiores valores. Já para o Hexano, não houve efeito do tipo de álcool adicionado ao sistema na extração de α -lactoalbumina.

Palavras-chaves: Solvente orgânico, álcool, proteína, extração.

Orientadora Orientadora: Prof^a. Dr. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-orientadores: Prof^a. Dr. Sc. Cristiane Martins Veloso e Prof^o. Dr. Sc. Luis Henrique Mendes da Silva, UESB.

ABSTRACT¹

GOMES, Glêce Milene Santana, State University of Southwest Bahia, in February 2012. Study of the Formation of Reverse Micellar Systems and Application Process for the Extraction of α – lactalbumin. Advisor: Prof. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-advisors: Prof. D.Sc. Cristiane Martins Veloso and. D.Sc. Luis Henrique Mendes da Silva.

In this work was studied reverse micellar systems formed by anionic surfactant di-octyl sulfosuccinate sodium, the organic solvents hexane and iso-octane and isopropyl and butanol alcohols. Initially, the mass specific or density values were determined for these pure compounds and binary and ternary mixtures, as well as the excess molar volume of binary mixtures of (organic solvent / alcohol) in the temperature range of 15 ° C to 35 ° C. At this point it was found that the density of binary and ternary solutions decreased with increasing temperature and excess molar volume increased to the same range of this variable. Then the solubility of water curves in systems formed by surfactant-organic solvent-álccol were determined, from which it was possible to determine the concentrations required for the formation of reverse micelles. The third study was the application of reverse micellar systems in the previous extraction of the protein α -lactalbumin. It was found that the extraction systems with iso-octane was influenced by the type of alcohol and those that contained butanol had higher values. As for hexane, there was no effect of type of alcohol added to the system in the extraction of α -lactalbumin.

Keywords: Organic solvent, alcohol, protein, extraction.

Advisor: Prof. Dr. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-advisors: Prof. Dr. Sc. Cristiane Martins Veloso and. Dr. Sc. Luis Henrique Mendes da Silva.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação genérica de um surfactante.....	18
Figura 2. Estrutura plana da molécula de AOT.....	19
Figura 3. Representação da micela reversa.....	21
Figura 4. Estruturas químicas dos alcoóis: a) Isopropanol e b) Butanol	22
Figura 5. Estruturas químicas dos solventes orgânicos: a) Iso-octano e b) Hexano.....	23

CAPÍTULO 1 – DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DAS MISTURAS TERNÁRIAS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E DO VOLUME MOLAR DE EXCESSO DE MISTURAS BINÁRIAS (SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL).

Figura 1. Gráfico de resíduo $100 \cdot \Delta\rho = (\rho_{\text{exp}} - \rho_{\text{pred}})$ das massas específicas experimentais dos sistemas ternários em função das massas específicas preditas.....	43
Figura 2. Volume molar de excesso das misturas binárias de Isopropanol/Solvente orgânico.....	44
Figura 3. Volume molar de excesso das misturas binárias: Butanol/Solvente orgânico....	45

CAPÍTULO 2 – OBTENÇÃO DE DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS TERNÁRIOS AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL E EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA UTILIZANDO SISTEMAS MICELARES REVERSOS.

Figura 1. Diagramas de solubilidade da água em sistemas ternários: a) AOT/Solvente orgânico/Isopropanol e b) AOT/ Solvente orgânico/Butanol.....	55
Figura 2. Diagramas de solubilidade da água em sistemas ternários: a) AOT/Hexano/Álcool e b) AOT/Iso-octano/Álcool.....	56
Figura 3. Extração de da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos.....	59

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DAS MISTURAS TERNÁRIAS AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL E DO VOLUME MOLAR DE EXCESSO DE MISTURAS BINÁRIAS (SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL)

Tabela 1. Massas específicas dos líquidos puros e das misturas binárias.....	38
Tabela 2. Massas específicas das misturas ternárias Iso-octano/Butanol/AOT (135), Iso-octano/Isopropanol/AOT (145).....	39
Tabela 3. Massas específicas das misturas ternárias Hexano/Butanol/AOT (235), Hexano/Isopropanol/ AOT (245).	40
Tabela 4. Modelos ajustados para massas específicas dos líquidos puros e das misturas binárias e ternárias.	42
Tabela 5. Volume molar de excesso das misturas binárias Iso-octano/Butanol (13), Iso-octano/Isopropanol (14), Hexano/Butanol (23), Hexano/Isopropanol (24).	43
Tabela 6. Modelos ajustados para o volume molar de excesso das misturas binárias Iso-octano/Butanol (13), Iso-octano/Isopropanol (14), Hexano/Butanol (23), Hexano/Isopropanol (24).	46

CAPÍTULO 2 – OBTENÇÃO DE DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS TERNÁRIOS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA UTILIZANDO SISTEMAS MICELARES REVERSOS

Tabela 1. Dados experimentais dos sistemas ternários.....	54
Tabela 2. Resultados das extrações da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos: AOT/Iso-octano/Isopropanol; AOT/Iso-octano/Butanol.....	58
Tabela 3. Resultados das extrações da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos: AOT/Hexano/Isopropanol; AOT/Hexano/Butanol.	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AOT: Di-octil sulfossuccinato de sódio;

SDS: Dodecil sulfato de sódio;

CTAB: Brometo de cetil trimetil amônio;

ΔG : Energia livre de Gibbs;

CMC: Concentração micelar crítica;

pH: Potencial hidrogeniônico;

BSA: Albumina do soro bovino;

α -La: α -Lactoalbumina;

ρ : Massa específica ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$);

V_m^E : Volume molar de excesso ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$);

x: Fração molar;

M: Massa molar ($\text{kg}\cdot\text{kmol}^{-1}$);

T: Temperatura ($^{\circ}\text{C}$);

C_m : Concentração de proteína na fase micelar ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$);

CPP: Parâmetro crítico de empacotamento.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	166
2.2 Objetivos Específicos	166
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Surfactante	177
3.1.1 Classificação dos Surfactantes	177
3.1.2 Di-octil sulfossuccinato de sódio (AOT).....	199
3.2 Micelas	19
3.2.1 Micelas Reversas.....	2020
3.2.2 Parâmetros que influenciam no comportamento das micelas reversas	22
3.2.2.1 Influência do álcool	22
3.2.2.2 Influência do solvente orgânico.....	22
3.3 Extração líquido-líquido de biomoléculas por micelas reversas	23
3.3.1 Fatores que influenciam na extração líquido-líquido por micelas reversas	24
3.3.3 Propriedades termodinâmicas.....	24
3.4 Proteínas do soro de leite	26
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO 1 – DETERMINAÇÃO DAS MASSAS ESPECÍFICAS DAS MISTURAS TERNÁRIAS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E DO VOLUME MOLAR DE EXCESSO DE MISTURAS BINÁRIAS (SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL)	344
RESUMO	344
ABSTRACT	355
1 INTRODUÇÃO	366
2 MATERIAL E MÉTODOS	366
2.1 Materiais e reagentes	366
2.2 Obtenção dos sistemas	377
2.3 Massa específica	377
2.4 Volume molar de excesso (V_m^E)	377
2.5 Planejamento experimental	377
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	388
3.1 Massa específica	388
3.2 Volume molar de excesso (V_m^E)	433
4 CONCLUSÕES	466
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

CAPÍTULO 2 – OBTENÇÃO DE DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS TERNÁRIOS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E EXTRAÇÃO DE α-LACTOALBUMINA UTILIZANDO SISTEMAS MICELARES REVERSOS.....	49
RESUMO.....	499
ABSTRACT.....	5050
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	522
2.1 Materiais e reagentes.....	52
2.2 Medidas de Titulação Turbidimétrica.....	52
2.2 Extração da α-lactoalbumina (α-La).....	53
2.3 Quantificação de proteínas.....	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	544
3.1 Titulação Turbidimétrica.....	544
3.2 Extração da α-lactoalbumina (α-La).....	577
4 CONCLUSÕES.....	6060
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
CONCLUSÕES GERAIS.....	6465

1 INTRODUÇÃO GERAL

Devido ao interesse biológico para uso no consumo humano e industrial, em todo o mundo se desenvolvem muitos processos de separação e purificação de biocompostos como proteínas e peptídeos. O isolamento e purificação α -lactoalbumina é um requisito natural e lógico para permitir a sua utilização (KILIKIAN *et al.*, 2000). Existem diversas técnicas para recuperar proteínas, sendo que a escolha do método está atrelada ao custo total de produção (MATHEW e JUANG, 2007), e principalmente à manutenção da funcionalidade biológica do componente de interesse.

Segundo Mathew e Juang (2007), as técnicas de separação de proteínas são classificadas em três categorias:

- a) Alta produtividade, baixa resolução (extração líquido-líquido, ultrafiltração, etc).
- b) De alta resolução, baixa produtividade (ultracentrifugação, separação por eletroforese, etc).
- c) De alta resolução, de alta produtividade (cromatografia de leito fluidizado, cromatografia em coluna).

Uma técnica de alta produtividade e baixa resolução é utilizada primeiramente para remover impurezas e reduzir o volume do fluxo de alimentação. Em seguida utiliza-se uma técnica de alta resolução e alta produtividade, visando obter a molécula alvo (MATHEW e JUANG, 2007). Portanto, a primeira técnica compreende a fase de extração, e a segunda de purificação ou isolamento.

Vários autores demonstram que, dentre estas técnicas, a extração líquido-líquido por micelas reversas pode ser utilizada para extrair e purificar proteínas em geral; pois, possui a capacidade de solubilizar biomoléculas específicas de uma solução aquosa, como por exemplo, os meios de fermentação e cultura de células, sem comprometer a estrutura e a funcionalidade do composto (REIS, 2010; HASMANN, 2007b; BORRACINI, 2006). Sendo assim, a extração líquido-líquido pode ser caracterizada como de alta produtividade e de alta resolução.

Micelas reversas são formações espontâneas e reversíveis de agregados esféricos de moléculas anfífilas dispersas em solvente orgânico apolar. As cabeças hidrofílicas das moléculas de surfactantes são direcionadas para o interior, formando centros aquosos, e as caudas hidrofóbicas são orientadas para o meio apolar (MOHD-SETAPAR, 2009; RODRIGUES *et al.*, 1999). Os sistemas micelares reversos são opticamente transparentes, apresentam baixa tensão superficial e são termodinamicamente estáveis (GOTO, 2006; MATHEW, 2007).

O di-octil sulfossuccinato de sódio ou AOT é um surfactante aniônico que apresenta habilidade para formar micelas reversas em um grande número de solventes orgânicos

apolares sem adição de um co-surfactante ou co-solvente. O tipo de solvente, bem como a adição de um co-surfactante ou co-solvente, influencia na quantidade de água solubilizada no interior da micela (TAPAS e MAITRA,1995). Dessa forma, conhecer o tamanho do centro aquoso micelar, a partir da determinação da quantidade de água solubilizada na micela, permite definir a seletividade, devido ao efeito estérico, a capacidade de extração do sistema formado.

De acordo com Minim *et al.* (2010), o controle de processos de separação e o desenvolvimento de equipamentos podem ser dificultados devido à falta de informação sobre o comportamento da massa específica com a composição e a temperatura. Portanto, determinar estas propriedades, torna-se imprescindível no processo de extração por micelas reversas.

Além disso, a determinação de propriedades termofísicas – tais como a massa específica – permite obter, de forma indireta, medidas das propriedades volumétricas do sistema. Estas, por sua vez, fornecem informações sobre as interações existentes no meio, interações soluto-soluto, solvente-solvente e soluto-solvente, bem como a contribuição para efeito estrutural de cada componente do sistema (ASTARITAS *et al.*, 1983).

Existem diversos métodos de recuperação e purificação de proteínas, denominados de processos de biosseparação, tais como ultracentrifugação, cromatografia, eletroforese e extração líquido-líquido. A escolha do método é limitada, principalmente, pelo custo de aplicação, pelas características físico-químicas da proteína de interesse e pelo grau de purificação desejado (LECOEUR *et al.*, 2010, MATHEW e JUANG, 2007, MARQUES *et al.*, 2005, TOLKACH e KULOZIK, 2005).

Diante do exposto, no desenvolvimento deste trabalho, objetivou-se determinar a massa específica e o volume molar de excesso, a fim de caracterizar fisicamente os sistemas que serão empregados na extração por micelas reversas. Além disso, foram avaliados os seguintes parâmetros que influenciam no processo de separação de proteínas por micelas reversas: tipo de solvente, tamanho da cadeia carbônica do álcool e a concentração de surfactante.

O trabalho foi estruturado em dois capítulos, além da introdução geral, objetivos e revisão da literatura. No primeiro capítulo, foi realizado um estudo para determinar as massas específicas das misturas binárias e das misturas ternárias, empregando-se o dioctil sulfossuccinato de sódio (AOT), como surfactante; o Iso-octano e Hexano, como solvente orgânico; e o Butanol e o Isopropanol, como álcool. O volume molar de excesso foi obtido apenas para os sistemas binários compreendidos por solvente e álcool. No segundo capítulo, foram determinadas as curvas de solubilidade da água para os sistemas micelares reversos contendo solvente orgânico (Iso-octano ou Hexano), álcool (Butanol ou

Isopropanol), surfactante (AOT) e aplicação dos sistemas na partição da proteína α -lactoalbumina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Estudar o comportamento e as variáveis que influenciam no processo de partição de α -lactoalbumina por extração líquido-líquido, empregando-se micelas reversas.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter as massas específicas dos sistemas binários e ternários, em função da temperatura e fração molar, e o volume molar de excesso dos sistemas binários em função da temperatura.
- Obter os diagramas de solubilidade de água nos sistemas micelares reversos em função da concentração de surfactante, do tipo de solvente e do tipo de álcool.
- Verificar a influência dos seguintes fatores na extração da α -lactoalbumina: tipo de solvente (Iso-octano e Hexano), tamanho da cadeia carbônica do álcool (Butanol e Isopropanol) e concentração de surfactante (AOT).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Surfactante

A palavra surfactante é derivada da contração da expressão *sufarce active agent*, termo que em sentido literal significa agente de atividade superficial. Os surfactantes são moléculas que possuem características anfífilas, ou seja, possuem na mesma molécula uma porção hidrofílica ou polar, denominada cabeça, e uma cadeia hidrofóbica ou apolar, a qual é referida como cauda (SHIPOVSKOV *et al.*, 2005). Esta, por sua vez, pode ser carregada positiva ou negativamente (catiônica ou aniônica), pode ser bipolar (zwitteriônica) ou não carregada. Os surfactantes podem promover a solubilização e a emulsificação de materiais insolúveis e podem reduzir a tensão superficial da solução, sendo esta sua principal função: modificar a característica da interface (GRIFFITHS e CHEUNG, 2002). Isto evidencia uma importante propriedade dos surfactantes, a qual é a formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, que reduz a tensão interfacial e superficial. Este é um importante aspecto do seu uso, que inclui aplicações industriais em decorrência de propriedades como: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, molhabilidade, solubilização e disperso de fases (NITSCHKE e PASTORE, 2002).

Os surfactantes quando em meio aquoso, acima de uma determinada concentração, formam micelas e outros agregados, nos quais a porção lipofílica das moléculas fica orientada para o interior da micela enquanto os grupos hidrofílicos ficam na parte externa da micela em contato com a água. Forças eletrostáticas concentram compostos hidrofílicos junto à superfície de micelas enquanto compostos lipofílicos podem ser solubilizados em seu interior (MINATTI, 2005).

Quanto à aplicação, os surfactantes se destacam como inibidores de corrosão e na indústria de petróleo, bem como nas áreas biológica, farmacológica (nanoformulações do tipo microemulsão), cosmética e têxtil (ROSSI, 2006).

3.1.1 Classificação dos Surfactantes

Um surfactante típico possui estrutura R-X (Figura 1), onde R é uma cadeia carbônica variando de oito a 18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo hidrofílico (iônico). Dependendo da característica do grupo X, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos (neutros), catiônicos, aniônicos ou anfóteros (zwitteriônicos). Os surfactantes catiônicos possui em geral a fórmula R_nX+Y , onde R representa uma ou mais cadeias hidrofóbicas, X é um elemento capaz de formar uma estrutura catiônica e Y é um contra íon. Em princípio, X pode ser N, P, S, As, Te, Sb, Bi ou um halogênio. Dentre os surfactantes aniônicos mais frequentemente utilizados, estão aqueles que possuem sais de

ácidos carboxílicos (graxos) monopróticos ou polipróticos com metais alcalinos ou alcalinos terrosos, ácidos como o sulfúrico, o sulfônico ou o fosfórico, contendo um substituinte de hidrocarboneto saturado ou insaturado (MANIASSO, 2001).

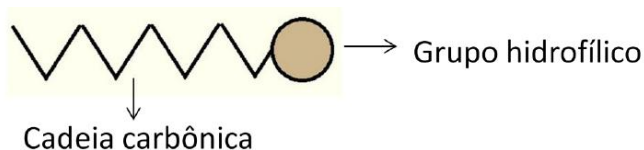


Figura 1. Representação genérica de um surfactante.

Os surfactantes iônicos contêm uma cabeça hidrofílica carregada, tanto positivamente (catiônicos) como negativamente (aniônicos). Os exemplos mais clássicos são o SDS (dodecil sulfato de sódio) que apresenta carga negativa no seu grupo sulfato e o CTAB (brometo de cetil trimetil amônio) possui carga positiva no seu grupo trimetilamônio, além de uma cadeia de hidrocarboneto. Dentro da categoria dos surfactantes aniônicos, um dos mais utilizados para a formação das micelas é o AOT (di-óctil sulfossuccinato de sódio) ou Aerosol-OT. O AOT possui uma cabeça aniônica pequena e duas caudas hidrofóbicas, e estas teoricamente lhe conferem maior estabilidade na formação de micelas (BHAIRI, 2001; YANG e ROBB, 2005; BHAIRI e MOHAN, 2007). Os surfactantes aniônicos contêm geralmente um dos quatro grupos hidrofílicos solúveis (carboxilato, sulfonato, sulfato ou fosfato) combinado com uma cadeia hidrocarbonada hidrofóbica. Os surfactantes catiônicos são muito utilizados como detergentes, agentes de limpeza, líquidos de lavar pratos e cosméticos em geral, e são compostos por uma molécula lipofílica e outra hidrofílica, contendo um ou vários grupos amônios terciários ou quaternários (KIRK, 1997).

Os surfactantes não-iônicos não contêm carga, mas apresentam grupos altamente hidrofílicos na parte polar. Em geral, a porção polar da molécula é formada por polioxido-etilenos ou grupos glicosídeos (Ex.: Brij, Triton X-100, Tween CxEy, dodecyl-SDS- D-maltosídeo, digitonina) esse tipo de surfactante não se dissocia em íons hidratados em meio aquoso. As propriedades hidrofílicas são observadas pela hidratação dos grupos amida, amina, ésteres e hidroxilas (KIRK, 1997; MATTSSON *et al.*, 1994)

Os surfactantes anfóteros (zwiteriônicos) são os únicos que apresentam propriedades combinadas de surfactantes iônicos e não-iônicos, de acordo com o pH do meio. Como os não-iônicos, não apresentam uma carga líquida; têm baixa condutividade e mobilidade eletroforética; e não se ligam em resinas de troca-iônica (Ex.: CHAPS, SB 3-10, ASB) (CHEVALLET *et al.*, 1998).

3.1.2 Di-octil sulfossuccinato de sódio (AOT)

O di-octil sulfossuccinato de sódio ou AOT é um surfactante aniônico que apresenta habilidade para formar micelas reversas em um grande número de solventes orgânicos apolares, as quais solubilizam quantidades consideráveis de água e vários outros solventes polares. A água possui estrutura agrupada, que pode ter raio de 15 Å até 100 Å; permitindo, assim, a solubilização de biomoléculas hidrofílicas de vários tamanhos. De importância considerável é o fato que as micelas reversas são caracterizadas pelo diâmetro definido e pelo número de agregação que exibe uma estrutura relativamente ordenada. Os diâmetros das micelas reversas dependem fortemente da relação molar de água/surfactante (STAMATIS, 1999).

A estrutura plana da molécula de AOT se encontra apresentada na Figura 2 (BASITO *et al.*, 1997).

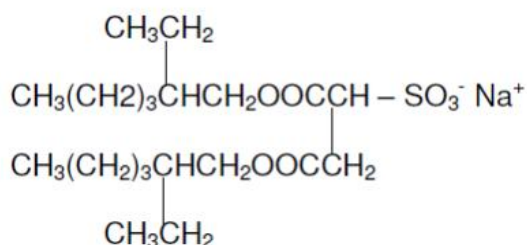


Figura 2. Estrutura plana da molécula de AOT (BENAZZI, 2005).

Em um sistema ternário, AOT/solvente orgânico/água, o grupo cabeça sulfonato é recolhido para o interior dos agregados e, portanto, evita o contato com o meio apolar. A estabilidade micelar em meio apolar é alcançada por meio de ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo, dipolo-induzido e interações hidrofóbicas. Além disso, a agregação do AOT tem uma grande dependência do tipo de solvente orgânico (MAITRA e TAPAS, 1995).

3.2 Micelas

Uma característica das moléculas de surfactantes quando se encontram em solução de dois líquidos imiscíveis ou parcialmente miscíveis, é adsorver preferencialmente nas interfaces, devido ao caráter hidrofóbico de suas caudas, bem como da característica hidrofílica das cabeças. Esta distribuição resulta na diminuição da tensão superficial do líquido. Porém, se todas as interfaces disponíveis estiverem saturadas energeticamente, a diminuição da energia livre de Gibbs pode ser conseguida por outros mecanismos, tais como a cristalização ou precipitação do surfactante na solução, causando uma separação de fases. Outra alternativa é a formação de agregados moleculares ou micelas. Esta última alternativa pode ser preferencial, uma vez que a diminuição da tensão superficial ocasiona um aumento da entropia, ou seja, um aumento

das possíveis configurações apresentadas pelos componentes da solução. Considerando-se que para um processo entropicamente dirigido a energia livre de Gibbs é menor do que zero ($\Delta G < 0$). Por isso, os sistemas micelares são considerados como termodinamicamente estáveis.

A faixa de concentração onde ocorre a formação das primeiras micelas é denominada concentração micelar crítica (CMC) (MYERS, 1999). A determinação da CMC pode ser realizada por uma variedade de métodos, alguns estudos têm relatado este parâmetro com base nas medidas de tensão superficial (JIAN *et al.*, 2011), condutividade elétrica (KETAN *et al.*, 2011), intensidade de espalhamento de luz (ALAMA *et al.*, 2011), intensidade de fluorescência, (PRAZERES *et al.*, 2011) e titulação turbidimétrica (REIS, 2010). Todos estes métodos requerem a utilização de equipamentos, exceto o método de titulação que consiste na adição de água com auxílio de apenas uma pipeta automática, demonstrando ser um método simples e de fácil aplicação.

A natureza do solvente em que os surfactantes estão presentes caracteriza a existência de dois tipos de micelas: as micelas diretas e as micelas reversas. As micelas diretas se formam na presença de solventes polares, onde a parte hidrofílica do surfactante fica orientada para o meio polar, enquanto que a cauda hidrofóbica agrupa-se no interior da micela, evitando o contato com o diluente. O núcleo das micelas tem seu raio limitado pelo comprimento da cadeia carbônica estendida. Em relação às micelas reversas, estas apresentam comportamento inverso, ou seja, são formadas em solventes apolares com as cabeças hidrofílicas voltadas para o centro, formando centros aquosos capazes de solubilizar biomoléculas, e cercadas pelas caudas hidrofóbicas (TESTARD e ZEMB, 2002; VOLPE e SILVA FILHO, 1995; FLORÊNCIO, 1995).

Uma característica importante da micela é a existência de um equilíbrio dinâmico entre o agregado e moléculas livres de surfactante em solução. Portanto, a micela não é uma estrutura estática. A saída de um monômero que compõe uma micela ocorre na escala de tempo de milionésimo de segundos e sua recaptura ocorre a velocidades similares àquelas provindas de processos controlados por difusão (por volta de $k = 10^8 - 10^9 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (MYERS, 1999).

Uma vez que a estrutura da micela não é estática, sua forma e seu tamanho variam com o tipo de surfactante utilizado, além da temperatura, concentração e composição do surfactante, força iônica e pH, podendo adquirir configuração esférica, cilíndrica ou planar (discos ou bicamadas) (RANGUEL-YAGUI *et al.*, 2004).

3.2.1 Micelas Reversas

A micela reversa (Figura 3) é composta por três regiões, sendo que a primeira é formada pela cauda hidrofóbica do surfactante, que fica em contato direto com o solvente

apolar; a segunda é a periferia micelar onde as moléculas de água estão fortemente ligadas aos núcleos hidrofílicos das moléculas do surfactante; e a terceira é o centro micelar, formado pela água contida no interior da micela que está ligada ao surfactante ou água livre (AIRES-BARROS e CABRAL, 1991). A água de periferia é mais densa, mais viscosa e está menos disponível para formar ligações de hidrogênio. O contrário ocorre com a água do centro micelar, que apresenta características semelhantes as da água livre, porém, ambas podem ter propriedades físico-químicas distintas da água pura, assemelhando-se à água presente nas membranas e interfaces biológicas. Esta água é responsável pela solubilização e manutenção da atividade de biomoléculas (GHERSHMAN, 2006; KILIKIAN *et al.*, 2000).

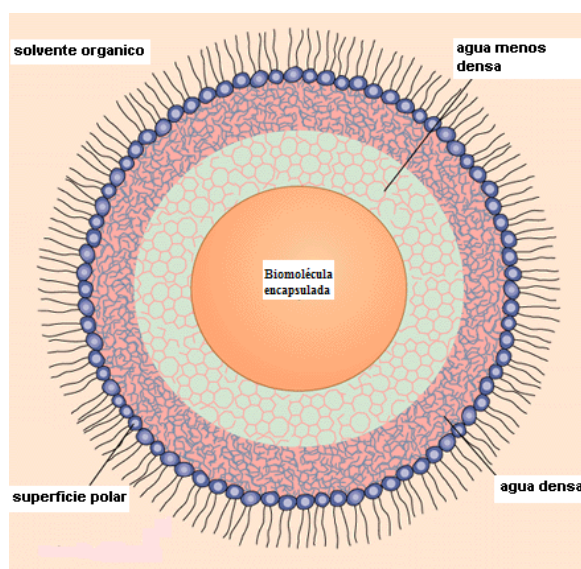


Figura 3. Representação da micela reversa (Adaptado GHERSHMAN, 2006).

A água de periferia micelar tem características diferentes, pois existe uma força eletrostática devido à força de atração dos núcleos polares das moléculas do surfactante com as moléculas de água. Portanto, quanto menor a quantidade de água no interior da micela, menor será a extração da biomolécula para seu interior, já que as condições não são favoráveis (KREI e HUSTEDT, 1992).

Entre os solventes orgânicos utilizados como meio dispersivo na formação de micelas reversas, destacam-se os hidrocarbonetos alifáticos, como o n-octano, iso-octano e n-heptano; porém, os aromáticos como o benzeno e o xileno e os halogenados como o clorofórmio também podem ser utilizados (YANG e ROBB, 2005).

A formação de micelas reversas ocorre devido às características hidrofóbicas do solvente orgânico e repulsão das cabeças hidrofílicas no meio apolar. Ou seja, a porção hidrofóbica é a que fica exposta e a porção hidrofílica se retrai para o interior da micela. Nesta situação, os aglomerados moleculares de surfactante, cujo núcleo por suas características hidrofílicas pode em determinadas condições reter água, o qual fica

parcialmente protegido do contato com o solvente orgânico (YANG e ROBB, 2005). Do ponto de vista estrutural, as micelas invertidas são caracterizadas por um raio médio, um número de agregação de monômeros de surfactante ordenados e massa específica de empacotamento bem definidos (BORDI e CAMETTI, 1998).

Uma vez que a micela reversa se forma como nano-agregados espontaneamente, a solução é opticamente transparente e termodinamicamente estável de dois líquidos imiscíveis consistindo de microdomínios de um ou ambos os líquidos estabilizados por um filme interfacial de moléculas de surfactante (GOTO, 2006; KILIKIAN *et al.*, 2000).

3.2.2 Parâmetros que influenciam no comportamento das micelas reversas

3.2.2.1 Influência do álcool

O álcool é adicionado aos sistemas micelares como co-surfactante. Ele deve ser pouco solúvel no solvente orgânico, muito pouco solúvel na água e dissolver apenas pequenas quantidades do surfactante.

O efeito do comprimento da cadeia carbônica de alcoóis alifáticos nas regiões da micela reversa é bastante forte. Quanto maior a cadeia do álcool, menor a região micelar formada (LEITE, 1995; BARROS NETO, 1996).

O Isopropanol (C_3H_7OH) é um álcool de cadeia ramificada que apresenta três átomos carbonos (Figura 4a). E o Butanol (C_4H_7OH) apresenta quatro carbonos, entretanto não possui ramificação, ou seja, trata-se de um álcool de cadeia linear (Figura 4b). Diante das características apresentadas, estes alcoóis, possivelmente, apresentam comportamento diferente nos sistemas micelares. Além do efeito do tamanho da cadeia carbônica, deve-se considerar a estrutura apresentada de cada álcool.

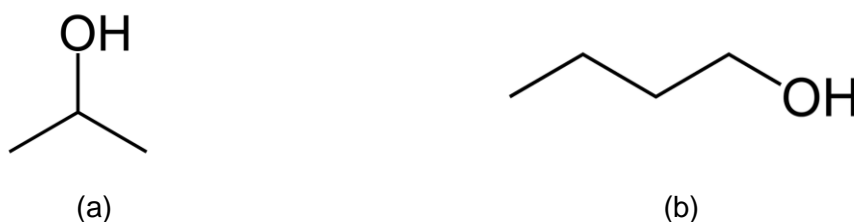


Figura 4. Estruturas químicas dos alcoóis: a) Isopropanol e b) Butanol.

3.2.2.2 Influência do solvente orgânico

A estrutura da fase orgânica pode influenciar as propriedades da interface, seja através do decréscimo seja através do aumento do número de átomos de carbono do hidrocarboneto.

As moléculas de hidrocarboneto com pequeno volume molecular (hidrocarboneto de cadeia curta) ou alta polaridade (aumento da aromaticidade) promovem fortes efeitos de solvatação surfactante-solvente orgânico sobre a interface (LEUNG e SHAH, 1987).

Não obstante, o aumento no comprimento da cadeia do hidrocarboneto conduz a uma redução das interações entre as microgotículas, diminuindo a solubilização das micelas reversas.

O Iso-octano (C_8H_{18}) é um hidrocarboneto com oito carbonos na cadeia e apresenta duas ramificações na sua estrutura (Figura 5a). Já o Hexano (C_6H_{14}) tem menor volume molecular, ele possui seis carbonos e sua estrutura tem caráter linear (Figura 5b). De acordo com a hidrofobicidade destes solventes, eles podem ser utilizados na formação de sistemas micelares reversos. Espera-se que cada sistema apresente um comportamento diferente em virtude da particularidade de cada solvente, como tamanho da cadeia, volume molecular, presença de ramificação. Já que tais características influenciam nas interações realizadas pelo sistema e estabilidade das micelas formadas.



Figura 5. Estruturas químicas dos solventes orgânicos: a) Iso-octano e b) Hexano.

3.3 Extração líquido-líquido de biomoléculas por micelas reversas

A extração líquido-líquido é uma operação unitária empregada para separar componentes em solução por meio da transferência de massa de tais componentes de uma fase líquida em contato direto com outra fase líquida imiscível na primeira (PERRY, 1997).

A utilização de sistema micelar reverso em processo de extração líquido-líquido pode servir como alternativa bastante interessante, uma vez que possui a capacidade de solubilizar biomoléculas específicas de uma solução aquosa, como exemplo os meios de fermentação e cultura de células, sendo apontada como uma ferramenta útil e versátil para a recuperação de biomoléculas, especialmente de proteínas (MONTEIRO *et al.*, 2005, FERREIRA *et al.*, 2005, KILIKIAN *et al.*, 2000).

Muitos autores têm utilizado micelas reversas para extrair com êxito biomoléculas, tais como lipase (GAIKAIWARI *et al.*, 2012), β -glucosidase (HEMAVATHI *et al.*, 2010), penicilina (MOHD-SETAPAR, 2009), proteína do gérmen de trigo (SUN *et al.*, 2008), caseína e BSA (HASMAN *et al.*, 2007a), entre outras. Estes autores, ainda demonstram

que a variação de parâmetros tanto na fase orgânica quanto na fase aquosa, à eficiência dos processos de extração de enzimas, proteínas e antibiótico podem ser otimizados.

3.3.1 Fatores que influenciam na extração líquido-líquido por micelas reversas

Os parâmetros estudados nos processos de extração usualmente são descritos a seguir: pH, força iônica, tipo de surfactante, relação molar H₂O/surfactante, tipo e concentração do solvente orgânico, tipo e concentração do co-solvente ou co-surfactante, tempo de agitação, temperatura e introdução de ligantes à estrutura das micelas reversas. O estudo dos parâmetros supracitados visa obter melhores desempenhos no uso de sistemas micelares reversos (HASMAN *et al.*, 2007a).

O aumento da concentração de surfactante aumenta o número de micelas na fase orgânica. Assim, a eficiência da extração também é melhorada. Este comportamento foi observado por Helbar (2007) na extração de BSA.

O tipo de solvente utilizado nas extrações por micelas reversas pode favorecer ao aumento da quantidade de água nos centros aquosos. Com isso, a eficiência de recuperação de biomoléculas é melhorada. O tipo de solvente foi avaliado por Hemavathi (2010) para extração de β-glicosidase.

Utilizam-se co-solventes como auxiliares na formação do núcleo interno de micelas reversas que agem como soluções salinas provocando uma repulsão entre as partes hidrofóbicas do surfactante e aumentando o raio das micelas, o que contribui para o englobamento da proteína (HASMAN *et al.*, 2007a).

Em processo de extração o rendimento pode ser influenciado pela relação co-solvente/surfactante como observado em extração de caseína por Hasman *et al.* (2007a). Aqui a maior relação alcançou, também, um maior rendimento em menor tempo de agitação. Sendo possível afirmar que adição do co-solvente em sistemas micelares reversos resulta em melhores valores de rendimento com menores concentrações de surfactante.

3.3.3 Propriedades termodinâmicas

A massa específica é uma propriedade termodinâmica intensiva, pois não depende da quantidade de massa presente no sistema e pode ser representada pela seguinte relação (LEVINE, 2011):

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (1)$$

Portanto, um sistema com mais de um componente pode ter sua massa específica estimada pela equação 2:

$$\rho_{ij} = \sum_{i=1}^{i=j} \rho_i \quad (2)$$

A massa específica é influenciada pela temperatura, logo se trata de uma propriedade termofísica. Vários autores demonstraram que o aumento da temperatura contribui para a redução da massa específica de sistemas com mais de um componente (MORÁVKOVÁ *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2010; KU e TU, 2005).

Além da temperatura, a massa específica muda com a fração molar do soluto. De modo que este efeito pode ser avaliado mediante o estudo das propriedades volumétricas. Estas descrevem o efeito das alterações físicas, química e estruturais resultantes das interações solvente-solvente, soluto-soluto e solvente-soluto (VOLPE e SILVA, 1995).

Diversos são os estudos que determinam o volume molar de excesso (V_m^E) como uma medida indireta da massa específica (Equação 3) (MORÁVKOVÁ *et al.*, 2011; ZHOU, 2010; VOLPE e SILVA, 1995).

$$V_m^E = x_1 M_1 \left(\frac{1}{\rho} - \frac{1}{\rho_1} \right) + x_2 M_2 \left(\frac{1}{\rho} - \frac{1}{\rho_2} \right) \quad (3)$$

De acordo com estudos realizados em misturas binárias, foram encontrados valores de V_m^E positivos para 1-octanol+n-decano e 1-octanol+n-octano e valores negativos para o sistema 1-octanol+n-hexano (DUBEY *et al.*, 2008). Segundo estes autores, V_m^E positivo é atribuído às interações fracas entre as moléculas. Além disso, componentes com volume molecular semelhantes tendem apresentar aumento de volume quando misturados, já que as moléculas não se encaixam entre as estruturas. Por outro lado, V_m^E negativos surgem de diversas contribuições, que podem envolver interações específicas, como por exemplo ligação de hidrogênio e interações dipolo-dipolo. Valores negativos para V_m^E , também são observados em sistemas, cujas moléculas se alojam entre os interstícios, devido à diferença entre seus volumes.

Em consonância com as ideias de Magalhães e Volpe (2010), em estudo de propriedades volumétricas da mistura binária de acetato de etila e etanol, os valores positivo para V_m^E são atribuídos a quebra de ligações de hidrogênio e a realização de interações fracas entre os componentes.

Portanto, através da medida V_m^E é possível prever a contribuição volumétrica de cada componente presente em uma mistura; uma vez que, o volume é resultado da intensidade das interações, bem como a natureza destas, seja entre solvente-solvente, soluto-soluto ou soluto-solvente. Vale destacar ainda, que a forma como as moléculas se rearranjam formando uma nova estrutura na mistura também contribui para o aumento ou redução do volume.

3.4 Proteínas do soro de leite

As proteínas remanescentes no soro de leite apresentam excelente composição em aminoácidos, alta digestibilidade e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, portanto elevado valor nutritivo (SGARBIERI, 1996; ZINSLY et al., 2001). Em contrapartida, aquelas também apresentam excepcionais propriedades funcionais de solubilidade, formação e estabilidade de espuma, emulsibilidade, geleificação, formação de filmes e cápsulas protetoras (MODLER, 2000; WONG et al., 1996).

Em termos quantitativos, a α -lactalbumina (α -La) é a segunda proteína do soro (PM = 14,176 Da) (SGARBIERI, 2005). A α -La purificada é usada comercialmente em fórmulas infantis devido à similaridade estrutural e composicional em relação à principal proteína do leite materno. É também utilizada em alimentos protéicos para esportistas, pois constitui uma boa fonte de aminoácidos de cadeia ramificada, os quais estão envolvidos no fornecimento de energia e síntese protéica muscular (WALZEN et al., 2002; HA e ZEMEL, 2003).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES-BARROS, M.R., TAIPA, M.A.; CABRAL, J.M.S. Slective separation and purification of two lípases from *Chromobacterium viscosum* using AOT reversed micelles. **Biotechnology and Bioengineering**, v 38, p. 1302-1307, 1991.

ALAMA, M. S., GHOSHB,G., MANDALC, A. B., KABIR-UD-DIN. Aggregation behavior and interaction of an amphiphilic drug imipramine hydrochloride with cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide: Light scattering studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88,) p. 779– 784, 2011.

ASTARITAS, G.; SAVAGE, D. W. E BISIO, A. **Gas Treating with Chemical Solvents**, Wiley, New York, 1983.

BARROS NETO, E.L.. **Extração de Cobre Utilizando Microemulsões: Otimização e Modelagem**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1996.

BAZITO R.C.; EL SEOUD, O. A., **Reações de Transferência de Acila em Microemulsões Água/Óleo: Hidrólise de Benzoatos de Fenila Catalizada pelo Ânion o-iodosobenzoato**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química – USP, 1997.

BENAZZI, T. L. **Estudo do comportamento de fases de sistemas contendo glicerol e óleo de oliva em propano na presença de surfactante**. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional Integrada, Erechim, 2005.

BHAIRI, S. M. **Detergents – A Guide to the Properties and Uses of Detergents in Biological Systems**. Calbiochem-Novabiochem Corporation. La Jolla, 2001.

BHAIRI, S. M., MOHAN, C. **Detergents – A Guide to the Properties and Uses of Detergents in Biological Systems**. Calbiochem-Novabiochem Corporation. La Jolla, 2007.

BORDI, F., CAMETTI, C. Water doplet charging process in water-in-oil microemul-sions: an electrical conductivity study. **Colloid and Polimer Science**, n.276, p. 1044-1049, 1998.

BORRACINI, H. M. P.. **Estudo do processo de extração da bromelina por micelas reversas em sistema descontínuo**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2006.

CHEVALLET, M., SABTONI, V., POINAS, A., ROUQUIÉ, D., FUCHS, A., KIEF-FER, S., ROSSIGNOL, M., LUNARDI, J., GARIN J., RABILLOUD, T. New zwitterionic detergents improve the analysis of membrane proteins by two-dimensional electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 19,; p. 1901-1909, 1998.

DUBEY , G. P., SHARMA, MONIKA. Study of molecular interactions in binary liquid mixtures of 1-octanol with n-hexane, n-octane, and n-decane using volumetric, viscometric, and acoustic properties. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, p. 991–1000, 2008.

FERREIRA F.LP., TAQUEDA M.E., VITOLO M., CONVERTI A., PESSOA A.; “Liquid-liquid extraction of commercial glucose oxidase by reversed micelles.” **Journal of Biotechnology**, v. 116(4), p. 411-416, 2005.

FLORÊNCIO, T. C. R. M. **Desenvolvimento de processos para obtenção de novos tensoativos a partir de óleos vegetais**. Dissertação de Mestrado , Universidade Federal de Rio Grande do Norte. Natal, 1995.

GAIKAIWARI, R. P., WAGHA, S. A., KULKARNI, B. D. Efficient lipase purification using reverse micellar extraction. **Bioresource Technology**, xxx, xxx–xxx, 2012.

GHERSHMAN, E. **Células procariotas**. Disponível em: http://www.galileog.com/ciencia/biologia/celulas/celulas_procariotas.htm. Acesso em 18 de dezembro de 2011.

GOTO, M.. Recent Advances in Protein Extraction and Chiral Separation of Biomolecules. **Tsinghua Science and Technology**. v. 11, p. 194–201, 2006.

GRIFFITHS, P. C.; CHEUNG, A. Y. F. Interaction between surfactants and gelatin in aqueous solutions, **Materials Science and Technology**, v. 18, p. 591-599, 2002.

HA, E., ZEMEL, M.B. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (Review) **Journal of Nutritional Biochemistry**., v.14, p. 251-258, 2003.

HARIKRISHNA S, SRINIVAS N.D, RAGHAVARAO KSMS, KARANTH NG. Reverse micellar extraction for downstream processing of proteins/enzymes. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v; 75: p.119–83, 2002.

HASMAN, F. A., CORTEZ, D. V., GURPILHARES, D. B., ROBERTO, I. C.; PESSOA-JUNIOR, A. Micelas reversas de lecitina de soja - uma alternativa para purificação de proteínas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 3, 2007a.

HASMAN, F. A., GURPILHARES, D. B., ROBERTO, I. C.; PESSOA-JUNIOR, A. Response surface methodology for the evaluation of glucose-6-phosphates dehydrogenase enrichment process by soybean lecithin reversed micelles. **Journal of Chromatography B**, v. 847, p. 262-266, 2007b.

HEBBAR, H. U., RAGHAVARAO, K.S.M.S.. Extraction of bovine serum albumin using nanoparticulate reverse micelles. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1602–1608, 2007.

HEMAVATHI, A.B.. UMESH HEBBAR, H.. RAGHAVARAO, K.S.M.S. Mixed reverse micellar systems for extraction and purification of β -glucosidase. **Separation and Purification Technology**, v. 71, p. 263–268, 2010.

JIAN, H., LIAO, X., ZHU, L., ZHANG, W., JIANG, J. Synergism and foaming properties in binary mixtures of a biosurfactant derived from *Camellia oleifera* Abel and synthetic surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 359, p. 487–492, 2011.

KADAM K.L. Reverse micelles as a bioseparation tool. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 82, p.66–73, 1986.

KETAN, C. KUPERKAR, J. P. MATA, P. B. Effect of 1-alkanols/salt on the cationic surfactant micellar aqueous solutions: A dynamic light scattering study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 380, p. 60–65, 2011.

KILIKIAN B. V., BASTAZIN M.R., MINAMI, N.M., GONÇALVES E.M.R., PESSOA JUNIOR, A.. liquid-liquid extraction by reversed micelles in biotechnological processes. **Brazilian Society of Chemical Engineering**; v. 17(1), p. 29-38, 2000.

KIRK, OTHMER. **Enciclopédia de tecnologia química**, 1997.

KREI, G., HUSTEDT, H. Extraction of enzymes by reverse micelles. **Chemical Engineering Science, New York**, v.47, p.99-111, 1992.

KU, H., TU, C. Densities and Viscosities of Binary and Ternary Mixtures of Ethanol, 2-Butanone, and 2,2,4-Trimethylpentane at T) (298.15, 308.15, and 318.15) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 50, p. 608-615, 2005.

LECOEUR, M. GAREIL, P., VARENNE, A. Separation and quantitation of milk whey proteins of close isoelectric points by on-line capillary isoelectric focusing—Electrospray ionization mass spectrometry in glycerol–water media. **Journal of Chromatography A**. v.1217, p. 7293-7301, 2010.

LEITE, R. H. L.. **Extração de cromo de efluentes de curtumes utilizando microemulsões**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1995.

LEUNG, R.; SHAH, D.O.. Solubilization and Phase Equilibrium of Water-in-oil microemulsion. **Journal of Colloid and Interface Science**. v.120, p. 321-329, 1987.

LEVINE, I. N., **Physical Chemistry**, 6 ed., McGraw-Hill Book Company, New York, 2011.

LIU, D, MA, J., CHENG, H., ZHAO, Z.. Conducting properties of mixed reverse micelles. *Colloids and Surfaces: Physicochemical and Engineering Aspects* v. 148, p. 291–297, 1999.

LUCENA NETO, M. H.. **Estudo da influência de tensoativos em sistemas microemulsionados na extração de gálio e alumínio**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2005.

MAGALHÃES, J G., VOLPE, P. L. O. Propriedades volumétricas da mistura binária de acetato de etila e etanol em temperaturas entre $T = 298.15 \text{ K}$ e $T = 313.15 \text{ K}$ à $p = 0.1 \text{ MPa}$. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2010.

MANIASSO, N., Ambientes Micelares em Química Analítica. **Química Nova**, v 24, p. 87-93, 2001.

MATHEW, D. S., JUANG, R. Role of alcohols in the formation of inverse microemulsions and back extraction of proteins/enzymes in a reverse micellar system. **Separation and Purification Technology**. v. 53, p. 199–215, 2007.

MARQUES, D.P.; CUSTÓDIO, M.F.; GOULART, A.J.; GIORDANO, R.C.; GIORDANO, R.L.C.; MONTI, R. Whey proteins separation by DEAE-Trisacryl. **Alimentos e Nutrição**. v. 16, n.1, p. 17-20, 2005.

MATTSSON, J. P., SCHLESINGER, P. H., KEELING, D. J., TEITELBAUM, S. L., STONE, D. K., XIE, X. S. Isolation and reconstitution of a vacuolar-type proton pump of osteoclast membrane. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, p. 24979-24982, 1994.

MINATTI, E. **Um novo modelo para a interação entre polímeros neutros hidrossolúveis e surfactantes**. Tese de Doutorado. UFS, Florianópolis, 2005.

MINIM, L. A.; BONOMO, R. C.; AMARAL, F. I. V.; REIS, M. F. T.; OLIVEIRA, A. A. A.; MINIM, V. P. R. Density and viscosity of Binary and Ternary Mixtures of Poly(ethylene glycol) and Poly(acrylic acid, sodium salt) at Temperatures of (288.15 to 318.15) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 55, p. 2328–2332, 2010.

MODLER, H.W. Milk processing. In: NAKAI, S.; MODLER, W. (Eds.). Food proteins: processing applications. Wiley-VCH, Inc. p.1-21, 2000.

MOHD-SETAPAR, S.H., WAKEMAN, R.J, TARLETON, E.S. Penicillin G solubilisation into AOT reverse micelles. **Chemical Engineering Research and Design**, v..8 7, p. 833–842, 2009.

MONTEIRO T.I.R.C., PORTO T.S., CARNEIRO-LEÃO A.M.A., SILVA M.P.C., CARNEIRO-DA-CUNHA M.G.; “Reversed micellar extraction of na extracellular protease from Nocardiosis sp fermentation broth.” **Biochemical Engineering Journal**, v. 24: 87- 90, 2005.

MORÁVKOVÁ, L., WAGNER, Z., SEDLÁKOVÁ Z., LINEK J. Volumetric behaviour of binary and ternary liquid systems composed of ethanol, isooctane, and toluene at temperatures from (298.15 to 328.15) K. Experimental data and correlation. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 43, p. 1906–1916, 2011.

MYERS, D. **Surfaces, Interfaces and Colloids – Principles and Applications**: Wiley & Sons. 1999.

NITSCHKE, M., PASTORE, G.M., Biosurfactantes: Propriedades e Aplicações, **Química Nova**, v. 25, p. 7772-776, 2002.

PERRY, R. H., GREEN, D. W. **Perry’s chemical engineer’s handbook**. 7th ed. New York: McGraw-Hill co , p. 2640, 1997.

PRAZERES, T. J.V., BEIJA, M., FERNANDES, F. V., MARCELINO, P. G.A., FARINHA, J. P. S., MARTINHO, J.M.G. Determination of the critical micelle concentration of surfactants and amphiphilic block copolymers using coumarin 153. **Inorganica Chimica Acta**, v. xxx, xxx–xxx, 2011.

RANGUEL-YAGUI, C. O., PESSOA-Jr, A., BLANKSCHTEIN, D. "Two-Phase Aqueous Micellar Systems - an Alternative Method for Protein Purification." **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 21, p. 531-544, 2004.

REIS, M. F. T.. **Aplicação de micelas reversas em sistema descontínuo para extração de proteínas do farelo de semente de jaca**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2010.

RODRIGUES, E. M., MILAGRES, A. M. F., PESSOA JUNIOR, A. Selective recovery of xylanase from *Penicillium janthinellum* using BDBAC reversed micelles. **Acta Bio-technol.**, v.19, p.157-161, 1999.

ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N. de C.; NETO, A. A. D.; MACIEL, M. A.M. Tensoativos: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universidade Rural**, v. 25, p. 73-85, 2006.

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, vol. 8, p. 43-56, 2005.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Editora-Livraria Varela, v. 517 p., p.139-157, 1996.

SHIPOVSKOV S., TROFIMOVA D., Saprykin E., CHRISTENSON A., RUZAS T., LEVASHOV A.V., FERAPONTOVA E.E.; "Spraying enzymes in microemulsions of AOT in nonpolar organic solvents for fabrication of enzyme electrodes." **Analytical Chemistry**, v. 77, p. 7074-7079, 2005.

STAMATIS, H., Bioorganic reactions in microemulsions: the case of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 293–318, 1999.

SUN, X. ZHU, K., ZHOU, H. Protein extraction from defatted wheat germ by reverse micelles: Optimization of the forward extraction. **Journal of Cereal Science**, v. 48 p. 829–835, 2008.

TAPAS K. de, MAITRA, A. Solution behaviour of Aerosol OT in non-polar solvents. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 59 , p. 95-193, 1995.

TESTARD, F., ZEMB T. "Interpretation of phase diagrams: topological and thermodynamical constraints." **Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 205: p. 3-13, 2002.

TOLKACH, A., KULOZIK, U.. Fractionation of whey proteins and caseinomacropeptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 13-20, 2005.

VOLPE, P.L.O, SILVA FILHO, E.A.. Calorimetric study of SDS micelle formation in water na in NaCl solution at 298K. **Termochimica Acta**. N. 257, p. 59-66, 1995.

WALZEM, R. L.; DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Whey components: millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: what we know and what we may be overlooking, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.**, v. 42, p. 353 - 375, 2002.

WONG, D.W.S.; CARMIRAND, W.M.; PAVLAT, A.E. Structures and functionalities of milk proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** v.36, p. 807-844, 1996.

YANG, Z., ROBB, D.A.. Tyrosinase activity in reversed micelles. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 23, p. 423-430, 2005.

ZHOU, Q., SONG, Y., YU, Y., HE , H., ZHANG, S. Density and Excess Molar Volume for Binary Mixtures of Naphthenic Acid Ionic Liquids and Ethanol. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v, 55, p. 1105–1108, 2010.

ZINSLY, P.F.; SGARBIERI, V.C.; DIAS, N.F.G.P.; JACOBUCCI, H.B.; PACHECO, M.T.B.; BALDINI, V.L.S. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology.** v. 4. P. 1-8, 2001. OK

CAPÍTULO 1 – DETERMINAÇÃO DAS MASSAS ESPECÍFICAS DAS MISTURAS TERNÁRIAS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E DO VOLUME MOLAR DE EXCESSO DE MISTURAS BINÁRIAS (SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL)

RESUMO

Neste trabalho, objetivaram-se determinar as massas específicas de misturas ternárias, empregando-se o di-octil sulfossuccinato de sódio (AOT), como surfactante, o Iso-octano e Hexano, como solvente orgânico e o Butanol e o Isopropanol, como álcool. O volume molar de excesso foi obtido apenas para os sistemas binários compreendidos por solvente e álcool. Observou-se que as massas específicas dos líquidos puros variaram com a temperatura de 696,281(15°C) a 679,761 g.cm⁻³ (35°C), para o Iso-octano; 671,849 (15°) a 653,533 g.cm⁻³ (35°C), para o Hexano; 814,228 (15°C) a 798,842 g.cm⁻³ (35°C), para o Butanol; 790,463 (15°C) a 773,426 g.cm⁻³ (35°C), Isopropanol. O mesmo foi observado para as misturas binárias, as quais apresentaram a seguinte variação 710,404 (15°) a 693,654 g.cm⁻³ (35°C), para o Iso-octano/Butanol; 706, 286 (15°C) a 688,972 g.cm⁻³ (35°), para o Iso-octano/Isopropanol; 700,970 (15°C) a 682,817 (35°C), para o Hexano/Butanol; 694,169 (15°C) a 675,125 g.cm⁻³ (35°C) para o Hexano/Isopropanol. Para o volumes molares de excesso das misturas binárias, verificou-se que estes variaram entre 15 a 35°C de - 1,47504x10⁻⁶ a - 1,50475x10⁻⁶ para o Iso-octano/Butanol; de 2,09222x10⁻⁶ a 2,31939x10⁻⁶ para Iso-octano/Isopropanol; de - 3,82449x10⁻⁶ a - 4,04924x10⁻⁶ para o Hexano/Butanol; 4,34134x10⁻⁶ a 4,61050x10⁻⁶ Hexano/Isopropanol.

Palavras-chave: Interações, cadeia linear, cadeia ramificada, micela.

ABSTRACT

The objective in this work was to determine density and excess molar volume of binary mixtures, using isooctane or hexane as organic solvent and Butanol or Isopropanol as the alcohol in the systems. Also was investigated density for ternary mixtures with same solvents and alcohols, added of dioctyl sodium sulfosuccinate (AOT). Temperature was ranged from 15°C to 35°C at 5°C intervals in all cases. It was observed that density of pure liquids decreases linearly with an increase of temperature from 696,281 to 679,761 g.cm⁻³ for isooctane; from 671,849 to 653,533 g.cm⁻³ for Hexane; from 814,228 to 798,842 g.cm⁻³ for Butanol and from 790,463 to 773,426 g.cm⁻³ for Isopropanol. The same behavior was observed for the binary mixtures, which showed density values inside these intervals. To ternary mixtures, it was verified that an increase in AOT concentration increases density values linearly in opposite behavior of temperature. excess molar volumes of the binary mixtures were ranged from $-1,48 \times 10^{-6}$ to $-1,50 \times 10^{-6}$ for the isooctane/butanol system; from $2,09 \times 10^{-6}$ to $2,32 \times 10^{-6}$ for Isooctane/Isopropanol system; from $-3,82 \times 10^{-6}$ to $-4,05 \times 10^{-6}$ for the Hexane/Butanol system and from $4,34 \times 10^{-6}$ to $-4,61 \times 10^{-6}$ for the Hexane/Isopropanol system, when temperature varied from 15°C to 35°C.

Keywords: Interaction, straight chain, branched chain, micelle.

1 INTRODUÇÃO

Misturas ternárias constituídas de surfactante/solvente orgânico/álcool são utilizadas em processos de extração por micelas reversas as quais se formam após adição de água. Este método tem sido aplicado em processos de separação de proteínas, antibióticos e enzimas (GAIKAIWARI *et al.*, 2012; MOHD-SETAPAR *et al.*, 2009; SUN *et al.*, 2008). Dentre as vantagens que a extração por micelas reversas apresenta, merece destaque a garantia da funcionalidade da biomolécula encapsulada, devido aos centros aquosos presentes no interior micelar.

A aplicação e o controle de processos de separação, bem como o desenvolvimento de equipamentos podem ser dificultados devido à falta de informação sobre o comportamento das propriedades termofísicas com a composição e a temperatura (MINIM *et al.*, 2010). A massa específica e o volume molar de excesso são propriedades importantes para a compreensão de processos que envolvem a transferência de massa, transferência de energia na forma de calor, escoamento do fluido e, sobretudo, as interações moleculares entre os componentes da mistura (BLANCO *et al.*, 2010; ALI *et al.*, 2007).

Através das medidas de massa específica, é possível obter medidas de propriedades volumétricas. Estas por sua vez, dependem não somente de interações soluto-soluto, solvente-solvente e soluto-solvente, mas também de efeitos estruturais resultantes das acomodações intersticiais devido a diferenças no volume molar e no volume livre entre os componentes presentes na solução (ASTARITAS *et al.*, 1983).

Neste trabalho, objetivaram-se determinar as massas específicas de misturas ternárias, empregando-se o di-octil sulfossuccinato de sódio de sódio (AOT), como surfactante, o Iso-octano e Hexano, como solvente orgânico e o Butanol e o Isopropanol, como álcool. O volume molar de excesso foi obtido apenas para os sistemas binários compreendidos por solvente e álcool.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia de Processos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, Itapetinga-BA.

2.1 Materiais e reagentes

O di-octil sulfossuccinato de sódio de sódio (AOT) foi obtido da Sigma Aldrich, o Iso-octano, o Hexano da F Maia e o Isopropanol e o 1-Butanol foram obtidos da F Maia e da Vetec Química Fina, respectivamente. Todos os reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico.

2.2 Obtenção dos sistemas

Foram preparados 20 sistemas ternários com concentração de 1 a 20% AOT e a relação entre as concentrações de solvente orgânico e álcool permaneceram fixas, 75% e 25% (m/m), respectivamente. Utilizaram-se dois tipos de solventes orgânicos, o Iso-octano de cadeia carbônica ramificada (C_8H_{18}) e o Hexano com cadeia carbônica linear (C_6H_{14}). Também foram utilizados dois álcoois, o Butanol ($C_4H_{10}O$) e o Isopropanol (C_3H_7OH), de cadeia linear e de cadeia ramificada, respectivamente. Cada reagente foi pesado separadamente em balança analítica (Shimadzu Ay220 + 0,001g), em seguida, o AOT foi misturado com o solvente orgânico e o álcool, e homogeneizado. Para o preparo dos sistemas binários, utilizaram-se apenas os solventes e os álcoois, nas mesmas proporções, 75% e 25% (m/m).

2.3 Massa específica

A massa específica foi determinada nas temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C.

Para determinação da massa específica, utilizou-se um Densímetro Digital de Bancada DMA 5000M (ANTON PAAR) com uma precisão de $+ 5 \times 10^{-6} \text{ g.cm}^{-3}$ e repetibilidade de $+ 1 \times 10^{-6} \text{ g.cm}^{-3}$ na faixa de operação 0 a 3 g.cm^{-3} . A faixa de temperatura do equipamento é de 273,15 K a 363,15 K com uma precisão de $+ 0,01 \text{ K}$ e repetibilidade de $+ 0,001 \text{ K}$.

2.4 Volume molar de excesso (V_m^E)

Os volumes molares de excesso (V_m^E) foram determinados indiretamente, através de medidas da massa específica dos componentes puros e das misturas binárias. O V_m^E foi calculado através da equação 1:

$$V_m^E = x_1 M_1 \left(\frac{1}{\rho} - \frac{1}{\rho_1} \right) + x_2 M_2 \left(\frac{1}{\rho} - \frac{1}{\rho_2} \right) \quad (1)$$

onde V_m^E ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$) representa o volume molar de excesso, ρ (g.cm^{-3}) representa a massa específica da mistura, x representa a fração molar e M (g.mol^{-1}) a massa molar, sendo que as variáveis com os índices 1 e 2 correspondem ao solvente e ao álcool, respectivamente.

2.5 Planejamento experimental

Os dados das massas específicas para os sistemas ternários foram obtidos em triplicata utilizando um fatorial completo com cinco níveis de temperatura (T) e vinte níveis de fração molar de álcool (x), para quatro sistemas, totalizando 400 experimentos. Para os sistemas binários, os dados foram obtidos em triplicata, e um planejamento fatorial completo também foi utilizado com cinco níveis de T, para quatro sistemas, totalizando 20

experimentos. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do processo GLM (modelo linear geral), enquanto as equações ajustadas foram obtidas por meio do procedimento REG (de regressão) do pacote estatístico SAS. A adequação das equações ajustadas foi avaliada por meio do nível de significância (p), o coeficiente de determinação (R^2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Massa específica

Observou-se na Tabela 1 que as massa específicas dos líquidos puros variaram com a temperatura de 696,281(15°C) a 679,761 g.cm⁻³ (35°C), para o Iso-octano; 671,849 a 653,533 g.cm⁻³ (35°C), para o Hexano; 814,228 (15°C) a 798,842 g.cm⁻³ (35°C), para o Butanol; 790,463 (15°C) a 773,426 g.cm⁻³ (35°C), para o Isopropilico. O mesmo foi observado para as misturas binárias, as quais apresentaram a seguinte variação 710,404 (15°) a 693,654 g.cm⁻³ (35°C), para o Iso-octano/Butanol; 706, 286 (15°C) a 688,972 g.cm⁻³ (35°), para o Iso-octano/Isopropanol; 700,970 (15°C) a 682,817 (35°C), para o Hexano/Butanol; 694,169 (15°C) a 675,125 g.cm⁻³ (35°C), para o Hexano/Isopropanol.

Tabela 1. Massa específica dos líquidos puros Iso-octano (1), Hexano (2), Butanol (3), Isopropanol (4) e das misturas binárias Iso-octano/Butanol (13), Iso-octano/Isopropanol (14), Hexano/Butanol (23), Hexano/Isopropanol (24) .

T (°C)	ρ (g.cm ⁻³)							
	ρ_1	ρ_2	ρ_3	ρ_4	ρ_{13}	ρ_{14}	ρ_{23}	ρ_{24}
15	696,281	671,849	814,228	790,463	710,404	706,286	700,970	694,169
20	692,185	667,329	810,431	786,308	706,269	702,028	696,505	689,499
25	688,067	662,771	806,601	782,082	702,098	697,720	691,989	684,774
30	683,928	658,176	802,745	777,789	697,896	693,371	687,428	679,983
35	679,761	653,533	798,842	773,426	693,654	688,972	682,817	675,125

Para as misturas binárias obtidas, verificou-se que os valores de massa específica resultantes ficaram mais próximos da massa específica do solvente orgânico puro, fato este devido à maior proporção deste na mistura. No entanto, os valores de massa específica obtidos experimentalmente para as misturas binárias são menores que os calculados a partir do cálculo de proporção direta, ou seja, considerando-se que a massa específica resultante fosse 75% do valor da massa específica do solvente orgânico e 25% do valor do álcool. Isto se deve ao fato de as novas interações termodinâmicas serem formadas a partir da mistura de substâncias, pois se estas forem mais fortes as moléculas estarão mais próximas. Então, o volume ocupado por uma mesma massa será menor e, conseqüentemente, a massa específica da mistura será maior. O caso inverso também

pode ocorrer. Os resultados encontrados das massas específicas das misturas ternárias são apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Massa específica (ρ , g.cm⁻³) das misturas ternárias Iso-octano/Butanol/AOT (135), Iso-octano/Isopropanol/AOT (145).

Iso-octano/Butanol/AOT					
x₁	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
0,002	724,595	720,477	716,318	712,129	707,894
0,005	728,276	724,154	719,987	715,786	711,553
0,007	730,164	726,043	721,879	717,679	713,449
0,009	732,983	728,850	724,681	720,478	716,239
0,012	736,295	732,163	727,991	723,787	719,555
0,014	739,689	735,565	731,399	727,199	722,963
0,017	742,305	738,162	733,975	729,771	725,530
0,019	744,562	740,425	736,257	732,054	727,810
0,022	747,963	743,822	739,640	735,441	731,204
0,025	750,676	746,531	742,353	739,227	734,977
0,027	753,191	749,049	744,875	740,669	736,430
0,030	755,709	751,561	747,384	743,177	738,940
0,033	759,693	755,551	751,375	747,169	742,928
0,036	762,701	758,559	754,379	750,172	745,928
0,038	764,898	760,754	756,553	752,361	748,117
0,041	767,177	763,037	758,856	754,646	750,400
0,044	770,302	766,147	761,959	757,753	753,513
0,047	777,001	772,874	768,694	764,475	760,213
0,050	780,218	776,064	771,879	767,702	763,619
0,054	782,803	778,656	774,468	770,266	766,021
Iso-octano/Isopropanol/AOT					
x₁	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
0,002	717,748	713,444	709,072	704,661	700,193
0,004	720,410	716,178	711,815	707,401	702,937
0,006	723,366	719,059	714,693	710,277	705,812
0,009	726,247	721,922	717,563	713,144	708,690
0,011	729,449	725,135	720,772	716,358	711,907
0,013	731,296	726,982	722,621	718,211	713,750
0,016	736,365	733,683	729,323	724,916	720,460
0,018	739,038	736,152	730,510	726,119	721,662
0,020	740,053	735,747	731,386	726,980	722,524
0,023	743,241	738,918	734,560	730,158	725,707
0,025	745,247	740,926	736,567	732,164	727,708
0,028	748,822	744,511	740,150	735,744	731,294
0,030	753,564	749,260	744,897	740,501	736,055
0,033	755,738	751,435	747,079	742,680	738,238
0,036	758,977	754,660	750,296	745,884	741,442
0,039	762,387	758,069	753,718	749,333	744,884
0,041	765,544	761,222	756,858	752,464	748,021
0,044	770,559	766,353	762,015	757,595	753,117
0,047	772,138	767,830	763,476	759,087	754,651
0,050	775,889	771,584	767,235	762,845	758,419

Tabela 3. Massa específica (ρ , g.cm⁻³) das misturas ternárias Hexano/Butanol/AOT (235), Hexano/Isopropanol/ AOT (245).

Hexano/Butanol/AOT					
x1	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
0,002	708,192	703,735	699,237	694,680	690,001
0,004	711,796	707,329	702,785	698,233	693,625
0,006	714,538	710,064	705,553	700,995	696,389
0,008	718,109	713,647	709,129	704,566	699,956
0,009	721,272	716,813	712,306	707,755	703,148
0,011	722,810	718,357	713,837	709,277	704,659
0,013	723,750	719,279	714,773	710,224	705,549
0,016	725,662	721,196	716,690	712,137	707,459
0,017	730,244	725,791	721,287	716,739	712,061
0,019	735,459	731,012	726,499	721,930	717,311
0,021	737,785	733,311	728,793	724,233	719,627
0,023	742,140	737,676	733,151	728,589	723,964
0,024	746,492	741,993	737,468	732,901	728,290
0,026	750,077	745,700	741,200	736,630	732,002
0,028	752,293	747,939	743,449	738,870	734,228
0,030	754,677	751,095	746,551	741,900	737,206
0,032	758,685	754,337	749,792	745,152	740,430
0,034	760,676	756,252	751,757	747,194	742,571
0,036	762,390	757,929	755,049	750,806	746,709
0,038	768,780	764,334	759,759	755,113	750,419
Hexano/Isopropanol/AOT					
x1	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
0,002	695,985	691,317	686,580	681,799	676,868
0,004	702,375	697,709	692,982	688,187	683,258
0,005	705,728	701,060	696,336	691,548	686,623
0,007	708,577	703,911	699,182	694,398	689,482
0,009	710,611	705,943	701,227	696,463	691,591
0,011	715,110	710,445	705,746	701,025	696,345
0,013	716,886	712,230	707,510	702,729	697,848
0,015	718,021	713,359	708,647	703,868	698,956
0,017	721,934	717,279	712,563	707,851	703,145
0,019	728,144	723,499	718,786	714,018	709,102
0,021	731,148	726,510	721,803	717,033	712,200
0,023	733,712	729,052	724,340	719,573	714,749
0,025	737,158	732,503	727,795	723,032	718,209
0,028	742,857	738,252	733,495	728,652	723,727
0,030	748,514	743,815	738,958	734,021	728,939
0,032	750,841	746,221	741,481	736,661	731,749
0,035	751,391	746,744	742,047	29,998	732,483
0,037	758,839	754,897	748,714	743,854	738,947
0,039	760,180	755,514	750,746	745,896	740,976
0,042	761,625	757,022	752,308	747,526	742,679

Observou-se que as massa específicas dos sistemas ternários, AOT/Iso-octano/Butanol, com frações molares entre 0,002 e 0,054 variaram de 724,595 a 782,803

g.cm⁻³ (15°C) e de 707,894 a 766,021 g.cm⁻³ (35°C); AOT/Iso-octano/Isopropanol, com frações molares entre 0,002 e 0,050 717,748 a 775,889 g.cm⁻³ (15°C) e de 700,193 a 758,419 g.cm⁻³ (35°C); AOT/Hexano/Butanol, com frações molares entre 0,002 e 0,038 variaram de 708,192 a 768,780 g.cm⁻³ (15°C) e de 690,061 a 750,419 g.cm⁻³ (35°C); AOT/Hexano/Isopropanol, com frações molares entre 0,002 e 0,042 variaram de 695,985 a 761,625 g.cm⁻³ (15°C) e de 676,868 a 742,679 g.cm⁻³ (35°C).

Haja vista a influência da temperatura sobre a massa específica dos líquidos puros e de todos os sistemas avaliados, as massa específicas das misturas ternárias também foram influenciadas pelo aumento da fração molar de AOT. Este comportamento está de acordo com MORÁVKOVÁ *et al.* (2011), ZHOU *et al.* (2010), KU e TU (2005).

O fornecimento de energia na forma de calor enfraquece as interações existentes no sistema e aumenta a energia cinética desta forma, permite maior mobilidade das moléculas. Estas por sua vez, tendem ocupar um maior volume no espaço para a mesma unidade de massa de uma condição anterior, portanto a massa específica diminui.

A elevação da massa específica dos sistemas ternários com aumento da concentração de AOT pode ser atribuída a novas interações mais fortes do tipo dipolo-dipolo e ligação de hidrogênio, entre soluto-solvente do que aquelas entre solvente-solvente, já que o efeito do aumento da massa final dos sistemas contribuiu mais efetivamente do que o aumento do volume.

Os modelos polinomiais foram utilizados para correlacionar à variação da massa específica (ρ) com a temperatura (T), para os líquidos puros e as misturas binárias, e com a temperatura e composição de surfactante, para as misturas ternárias. Os modelos foram ajustados aos dados experimentais, sendo que o modelo geral quadrático, equação 2, foi analisado para o primeiro caso, e a equação 3 para o segundo. O modelo foi selecionado com base na significância dos parâmetros t-teste (Student), $p < 0,05$, coeficiente de determinação (R^2), análise de resíduo, apenas para misturas ternárias

$$\rho_{ij} = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 T^2 \quad (2)$$

$$\rho_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 x_1 + \beta_3 x_1 T + \beta_4 x_1^2 + \beta_5 T^2 \quad (3)$$

Os ajustes apresentados na Tabela 4 demonstraram um comportamento linear para massa específica e efeito negativo da temperatura para todos os sistemas avaliados: binários e ternários. O que indica que o aumento da temperatura causa uma redução na propriedade termodinâmica em questão. Observou-se ainda, que a influência da temperatura sobre as misturas binárias e ternárias foi maior do que sobre os líquidos puros. Diante deste comportamento, pode-se inferir que nas misturas, as interações formadas entre solvente-álcool são mais fortes do que as interações entre solvente-solvente. Com relação à composição dos sistemas, o coeficiente da temperatura para os

sistemas com Hexano/Isopropanol foi maior do que aquele encontrado nos sistemas com Iso-octano/Isopropanol. Possivelmente, a interação do Hexano com o isopropanol é de maior intensidade, e o aumento da temperatura causa um desarranjo estrutural, de tal forma que a alteração do volume é mais pronunciada.

Tabela 4. Modelos ajustados para massa específica dos líquidos puros, Iso-octano (1), Hexano (2), Butanol (3) e Isopropanol (4), das misturas binárias e ternárias.

Modelo	R ²
$\rho_1 = 708,6929 - 0,8259 T$	0,9999 (3)
$\rho_2 = 685,6241 - 0,9157 T$	0,9999 (4)
$\rho_3 = 825,7984 - 0,7692 T$	0,9999 (5)
$\rho_4 = 803,3101 - 0,8519 T$	0,9999 (6)
$\rho_{13} = 723,0007 - 0,8375 T$	0,9999 (7)
$\rho_{14} = 719,3179 - 0,8657 T$	0,9999 (8)
$\rho_{23} = 714,6333 - 0,9076 T$	0,9999 (9)
$\rho_{24} = 708,5120 - 0,95210 T$	0,9999 (10)
$\rho_{135} = 735,4699 + 1112,6639 x_1 - 0,8343 T$	0,9976 (11)
$\rho_{145} = 729,0630 + 1210,7134 x_1 - 0,8738 T$	0,9971 (12)
$\rho_{235} = 717,4804 + 1689,5208 x_1 - 0,9003 T$	0,9929 (13)
$\rho_{245} = 710,0578 + 1655,4229 x_1 - 0,9526 T$	0,9938 (14)

Além disso, as misturas ternárias apresentaram coeficientes positivos para fração molar, confirmando que a presença de AOT nos sistemas contribuiu para o aumento da massa específica. Sendo que, para os sistemas com Iso-octano, o coeficiente foi ainda maior do que para os sistemas com Hexano. Provavelmente, as interações entre as moléculas de AOT e o primeiro sistema são mais fortes, e o efeito da massa final do sistema se sobrepõe ao aumento do volume.

A análise de resíduo representa a diferença entre os resultados preditos pelos modelos e os experimentais (Figura 1). A aleatoriedade dos pontos é um indicativo de que os ajustes representam muito bem os resultados experimentais e de que podem ser utilizados para prever a massa específica de sistemas ternários em função da temperatura e da fração molar dentro da faixa estudada. Esta análise não foi realizada para os sistemas binários, uma vez que não havia dados suficientes.

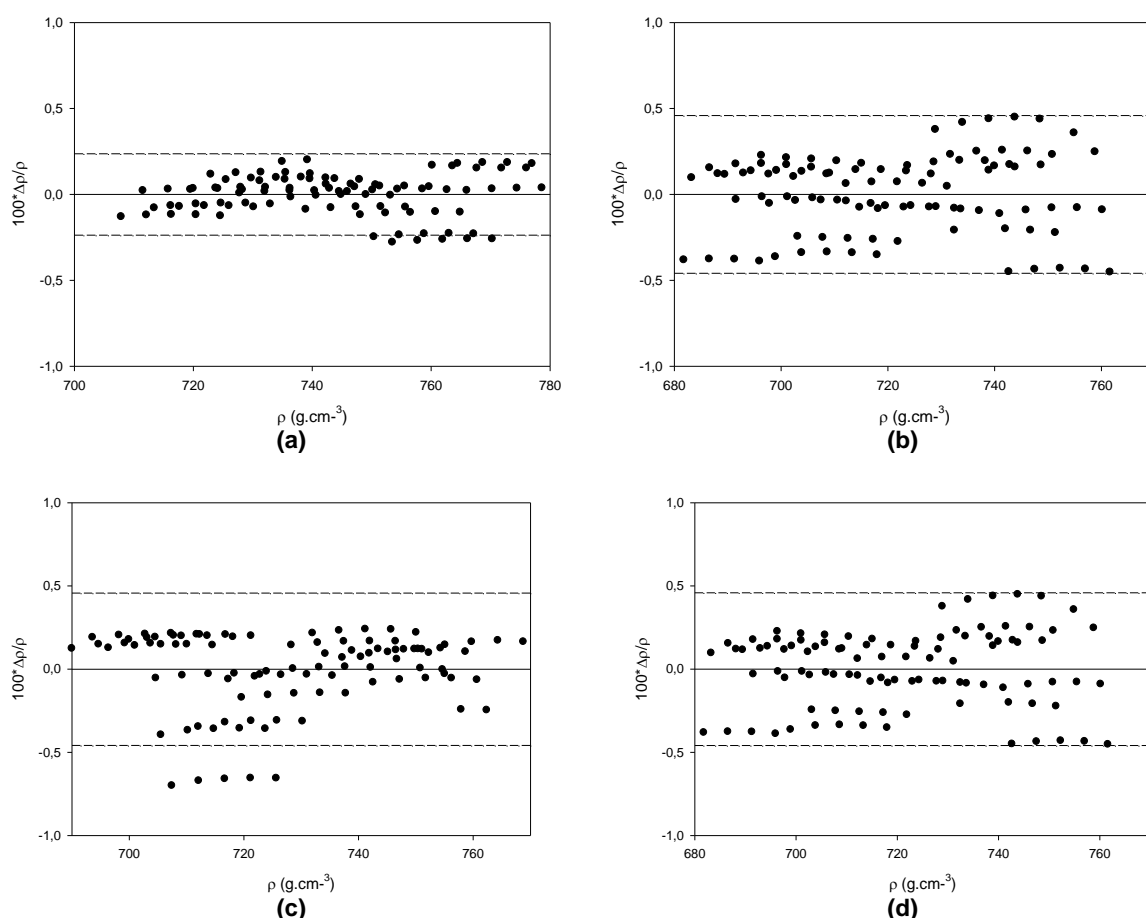


Figura 1. Gráfico de resíduo $100 \cdot \Delta \rho = (\rho_{\text{exp}} - \rho_{\text{pred}})$ das massa específicas experimentais dos sistemas ternários em função das massa específicas preditas: (a) Iso-octano/Butanol/AOT e (b) Iso-octano/Isopropanol/AOT; (c) Hexano/Butanol/AOT e (d) Hexano/Isopropanol/AOT. As linhas tracejadas são dois desvios-padrão do ajuste.

3.2 Volume molar de excesso (V_m^E)

Os resultados encontrados para os V_m^E estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Volume molar de excesso das misturas binárias Iso-octano/Butanol (13), Iso-octano/Isopropanol (14), Hexano/Butanol (23), Hexano/Isopropanol (24).

	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
V_{13m}^E ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$-1,475 \times 10^{-06}$	$-1,485 \times 10^{-06}$	$-1,493 \times 10^{-06}$	$-1,500 \times 10^{-06}$	$-1,505 \times 10^{-06}$
V_{14m}^E ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$2,092 \times 10^{-06}$	$2,143 \times 10^{-06}$	$2,198 \times 10^{-06}$	$2,257 \times 10^{-06}$	$2,319 \times 10^{-06}$
V_{23m}^E ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$-3,824 \times 10^{-06}$	$-3,881 \times 10^{-06}$	$-3,936 \times 10^{-06}$	$-3,992 \times 10^{-06}$	$-4,049 \times 10^{-06}$
V_{24m}^E ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$4,341 \times 10^{-06}$	$4,407 \times 10^{-06}$	$4,474 \times 10^{-06}$	$4,542 \times 10^{-06}$	$4,611 \times 10^{-06}$

Observou-se que os volumes molares de excesso para as misturas binárias variaram de $-1,475 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (15°C) a $-1,505 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (35°C) para o Iso-octano/Butanol; de $2,092 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (15°C) a $2,319 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (35°C) para Iso-

octano/Isopropanol; de $- 3,824 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (15°C) a $- 4,049 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (35°C) para o Hexano/Butanol; $4,341 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (15°C) a $4,610 \times 10^{-06} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (35°C) para o Hexano/Isopropanol.

Verificou-se que os valores para o V_m^E foram positivos para os sistemas que continham o álcool Isopropanol, tanto naqueles que apresentavam Iso-octano quanto nos que apresentavam o Hexano (Figura 2). A adição do Isopropanol contribuiu para o aumento do volume das misturas binárias, sendo que aquelas com Hexano o V_m^E foi maior, em todas as temperaturas estudadas, quando comparadas com as misturas com Iso-octano. A presença de álcool nos solventes puros causa mudanças nas interações solvente-solvente, forças de dispersão, e formam interações do tipo ligação de hidrogênio e dipolo-dipolo.

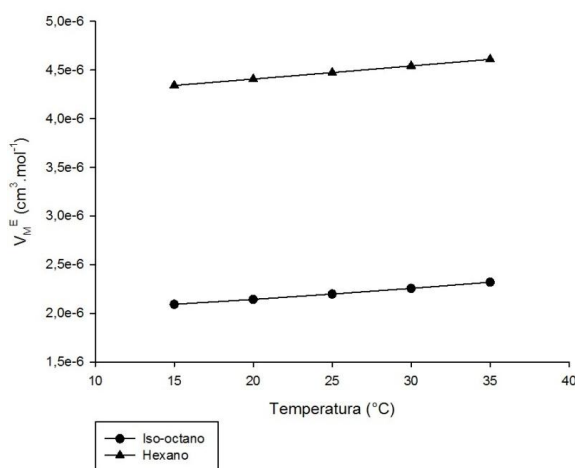


Figura 2. Volume molar de excesso das misturas binárias de Isopropanol/Solvente Orgânico.

Segundo Dubey *et al.* (2008), V_m^E positivo é atribuído às interações fracas entre as moléculas, caracterizando um aumento de volume do sistema final.

De acordo com Liu *et al.*, (1999), o volume molecular do Hexano é 217 \AA e do Iso-octano é 274 \AA . Esta diferença pode está relacionada com a estrutura apresentada por cada hidrocarboneto, o primeiro tem cadeia linear e o segundo apresenta ramificação. Sendo assim, as moléculas de Hexano estão mais próximas, mais ordenadas e realizam interações mais intensas, ao contrário do Iso-octano que apresenta ramificações na cadeia.

A adição do Isopropanol no sistema com o Hexano causa uma maior alteração na estrutura deste solvente, de tal forma que a ramificação do álcool impede o contato intenso entre as moléculas de Hexano, persistindo em interações fracas.

Já, o Iso-octano é um solvente que apresenta espaços livres na sua estrutura, devido à ramificação, o que pode facilitar a acomodação das moléculas do álcool. E, portanto, a contribuição com aumento do volume é menor.

Para os sistemas com butanol, os valores para o V_m^E foram negativos para os dois solventes, Iso-octano e Hexano, em todas as temperaturas avaliadas (Figura 3). Logo, a adição deste álcool provocou uma redução no volume das misturas binárias. Sendo que, o V_m^E para os sistemas com o Hexano a redução foi ainda maior.

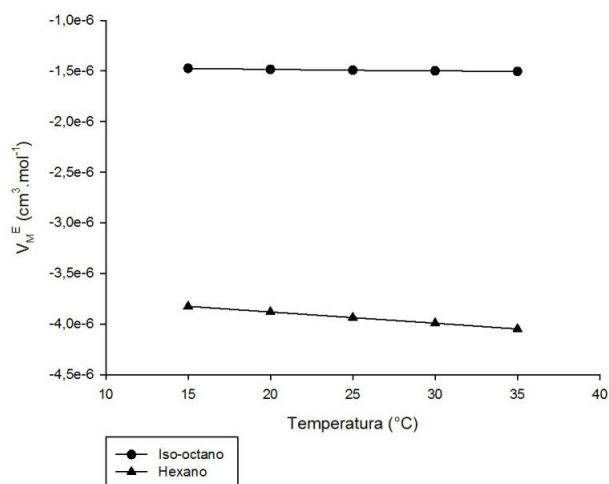


Figura 3. Volume molar de excesso das misturas binárias: Butanol/Solvente Orgânico.

O butanol é um álcool de cadeia linear, de forma que suas moléculas se aproximam das moléculas de Hexano, também de cadeia linear, e interage mais fortemente. Portanto, contribui para maior contração do volume final do sistema. Ao contrário do Iso-octano, cujas ramificações impedem interações fortes com as moléculas do álcool.

De forma geral, adição de álcool nos solventes puros causa mudança nas interações solvente-solvente, uma vez que novas interações do tipo soluto-solvente são realizadas. Além disso, o aumento do volume das misturas é atribuído a interações fracas, e o inverso para a redução do volume.

Os modelos polinomiais para o volume molar de excesso (V_m^E), em função da temperatura, foram ajustados aos dados experimentais para as misturas binárias. Os parâmetros não significativos foram eliminados com base no t-teste (Student), $p < 0,001$, coeficiente de determinação (R^2) e a concordância com o fenômeno.

Na Tabela 6, estão apresentados os modelos preditivos V_m^E para as misturas binárias.

Tabela 6. Modelos ajustados para o volume molar de excesso das misturas binárias Iso-octano/Butanol (13), Iso-octano/Isopropanol (14), Hexano/Butanol (23), Hexano/Isopropanol (24).

Modelo	R ²
$V_{13m}^E = -1,4545 \times 10^{-06} - 1,4828 \times 10^{-9} T$	0,9833 (15)
$V_{14m}^E = 1,9177 \times 10^{-06} + 1,1364 \times 10^{-8} T$	0,9983 (16)
$V_{23m}^E = 4,1387 \times 10^{-06} + 1,3453 \times 10^{-8} T$	0,9999 (17)
$V_{24m}^E = -3,6561 \times 10^{-6} - 1,1217 \times 10^{-8} T$	0,9997 (18)

3 CONCLUSÕES

Os valores de massa específica aumentaram com a fração molar de AOT e diminuiu com a temperatura para todos os sistemas avaliados.

O V_m^E foi determinado para as misturas binárias contendo Iso-octano ou Hexano/Butanol ou Isopropanol. Valores positivos para os sistemas com álcool Isopropanol caracterizaram a existência de interações fracas, enquanto os valores negativos, para os sistemas com Butanol, indicaram a presença de interações de maior intensidade. Portanto, o efeito da intensidade das interações sobre o arranjo molecular estrutural e do momento dipolar das misturas binárias foi o principal responsável pelo comportamento do V_m^E .

As equações obtidas estão em concordância com os dados experimentais; e, assim, a estimativa de ρ e V_m^E pode ser determinada para qualquer temperatura e fração mássica dentro da faixa estudada.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A.; KHAN, S.; HYDER, S.; TARIQ, M. Interactions of Some R-Amino Acids with Tetra-n-Alkylammonium Bromides in Aqueous Medium at Different Temperatures. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 39, p. 613–620, 2007.

ASTARITAS, G.; SAVAGE, D. W. E BISIO, A. Gas Treating with Chemical Solvents, Wiley, New York 1983.

BLANCO, A.; ABUIN, A. G.; DIAZ, D. G.; NAVAZA, J. M.; TATO, I. V. Influence of Temperature and Composition upon Density, Viscosity, Speed of Sound, and Refractive Index of Aqueous Solutions of 1-Ethyl-2- pyrrolidinone. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v 55, 962–965, 2010.

DUBEY , G. P., SHARMA, MONIKA. Study of molecular interactions in binary liquid mixtures of 1-octanol with n-hexane, n-octane, and n-decane using volumetric, viscometric, and acoustic properties. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, p. 991–1000, 2008.

GAIKAIWARI, R. P., WAGHA, S. A., KULKARNI, B. D. Efficient lipase purification using reverse micellar extraction. **Bioresource Technology** , xxx, p. xxx–xxx, 2012.

KU, H., TU, C. Densities and Viscosities of Binary and Ternary Mixtures of Ethanol, 2-Butanone, and 2,2,4-Trimethylpentane at T) (298.15, 308.15, and 318.15) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 50, p. 608-615, 2005.

LIU, D, MA, J., CHENG, H., ZHAO, Z.. Conducting properties of mixed reverse micelles. Colloids and Surfaces : **Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 148, p. 291–297, 1999.

MINIM, L. A.; BONOMO, R. C.; AMARAL, F. I. V.; REIS, M. F. T.; OLIVEIRA, A. A. A.; MINIM, V. P. R. Density and viscosity of Binary and Ternary Mixtures of Poly(ethylene glycol) and Poly(acrylic acid, sodium salt) at Temperatures of (288.15 to 318.15) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 55, p. 2328–2332, 2010.

MOHD-SETAPAR, S.H., WAKEMAN, R.J., TARLETON, E.S. Penicillin G solubilisation into AOT reverse micelles. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 87, p 833–842, 2009.

MORÁVKOVÁ, L., WAGNER, Z., SEDLÁKOVÁ Z., LINEK J. Volumetric behaviour of binary and ternary liquid systems composed of ethanol, isooctane, and toluene at temperatures from (298.15 to 328.15) K. Experimental data and correlation. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 43, p. 1906–1916, 2011.

SUN, X. ZHU, K., ZHOU, H. Protein extraction from defatted wheat germ by reverse micelles: Optimization of the forward extraction. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 829–835, 2008.

ZHOU, Q., SONG, Y., YU, Y., H.E, H., ZHANG, S. Density and Excess Molar Volume for Binary Mixtures of Naphthenic Acid Ionic Liquids and Ethanol. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 55, p. 1105–1108, 2010.

CAPÍTULO 2 – OBTENÇÃO DE DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS TERNÁRIOS (AOT/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁLCOOL) E EXTRAÇÃO DE α -LACTOALBUMINA UTILIZANDO SISTEMAS MICELARES REVERSOS

RESUMO

Neste trabalho, foram determinadas as curvas de solubilidade da água para sistemas micelares reversos compostos de solvente orgânico (Iso-octano ou hexano), álcool (Butanol ou Isoproílico) e agente surfactante (AOT) e avaliado o efeito do tipo de solvente e álcool e concentração de surfactante, na extração da proteína α -lactoalbumina. Verificou-se que para os sistemas estudados, quando a concentração de AOT variou de 0,01 a 0,20 g/g de sistema, a quantidade de água solubilizada aumentou, variando, respectivamente, de $(22,04 \text{ a } 103,07) \times 10^{-4} \text{ H}_2\text{O}$ (mol) para sistemas AOT/Hexano/Isopropílico; de $(21,34 \text{ a } 140,03) \times 10^{-4} \text{ H}_2\text{O}$ (mol) para sistemas AOT/Iso-octano/Isopropanol; de $(18,48 \text{ a } 184,80) \times 10^{-4} \text{ H}_2\text{O}$ (mol) para sistemas AOT/Hexano/Butanol e de $(19,56 \text{ a } 665,28) \times 10^{-4} \text{ H}_2\text{O}$ (mol) para sistemas AOT/Iso-octano/Butanol. Quanto à extração da α -lactoalbumina nos sistemas micelares reversos estudados, observou-se que para o sistema AOT/Iso-octano/Isopropanol a quantidade de proteína extraída aumentou $(0,215 \text{ a } 0,319 \text{ mg.mL}^{-1})$ com o aumento da concentração de AOT $(0,020 \text{ a } 0,180 \text{ g.g}^{-1})$, mesmo comportamento observado para os sistemas AOT/Iso-octano/Butanol $(0,216 \text{ a } 0,662 \text{ mg.mL}^{-1}$ de proteína extraída) com o aumento da concentração de AOT $(0,050 \text{ a } 0,160 \text{ g.g}^{-1})$. Para os sistemas com Hexano como solvente, verificou-se que, tanto para sistemas com Isopropanol quanto para os com Butanol, a quantidade de proteína extraída aumentou (de $0,239 \text{ a } 0,620 \text{ mg.mL}^{-1}$ e de $0,090 \text{ a } 0,596 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectivamente) com o aumento da concentração de AOT, de $0,020 \text{ a } 0,120 \text{ g.g}^{-1}$ diminuindo a partir deste valor para $0,276 \text{ mg.mL}^{-1}$ quando a concentração de AOT chegou a $0,219 \text{ g.g}^{-1}$ nos sistemas com Isopropanol e para $0,413 \text{ mg.mL}^{-1}$ para a concentração de AOT chegou a $0,190 \text{ g.g}^{-1}$ nos sistemas com Butanol. O uso do Iso-octano como solvente orgânico demonstrou ser mais interessante, pois os sistemas com ele apresentaram maior capacidade de solubilização de água no centro micelar do que o Hexano. Verificou-se também que o Butanol melhorou a solubilidade da água no interior micelar reverso. O poder de extração dos sistemas com Iso-octano foi influenciado pelo tipo de álcool, sendo que aqueles que continham Butanol apresentaram melhores resultados. Já para os sistemas com Hexano, não houve efeito da adição de álcool no poder de extração da proteína em sistemas micelares reversos.

Palavras-chave: Solubilidade, extração, iso-octano, hexano.

ABSTRACT

In this study, they were determined water solubility curves for reverse micellar systems composed by organic solvent (isooctane or hexane), alcohol (butanol or isopropanol) and surfactant agent (AOT), besides evaluate the effect of kind of solvent and alcohol and surfactant concentration in the extraction of the protein α -lactalbumin. It was found that for studied systems, when the AOT concentration ranged from 0.01 to 0.20 g/g of system, the amount of solubilized water increases, ranging, respectively from (22.04 to 103.07) $\times 10^{-4}$ H₂O (mol) for AOT/Hexane/Isopropanol systems, from (21.34 to 140.03) $\times 10^{-4}$ H₂O (mol) for AOT/Isooctane/Isopropanol systems; from (18.48 to 184.80) $\times 10^{-4}$ H₂O (mol) for AOT/Hexane/Butanol systems and from (19.56 to 665.28) $\times 10^{-4}$ H₂O (mol) for AOT/Isooctane/Butanol systems. In relation to the extraction of α -lactalbumin in reverse micellar systems studied, it was observed that for the AOT/Isooctane/Isopropanol system the amount of extracted protein increased (from 0.215 to 0.319 mg.mL⁻¹) with increasing AOT concentration (0.020 to 0.180 g.g⁻¹). The same behavior observed for AOT/Isooctane/Butanol systems (0.216 to 0.662 mg.mL⁻¹ protein extracted) when AOT concentration increases from 0.050 to 0.160 g.g⁻¹. To systems with hexane as solvent, it was found that for the use of Isopropanol or Butanol, the amount of extracted protein increased (from 0.239 to 0.620 mg.mL⁻¹ and 0.090-0.596 mg.mL⁻¹ respectively) with increasing AOT concentration, from 0.020 to 0.120 g.g⁻¹. At this point, extracted protein decreased to 0.276 mg.mL⁻¹ when the AOT concentration reached 0.219 g.g⁻¹ for systems with isopropanol and to 0.413 mg. mL⁻¹ when AOT concentration reached 0.190 g.g⁻¹ for systems with butanol. The use of Isooctane as the organic solvent was more interesting because it showed a greater for water solubilization capacity in micellar center. Butanol also improved the water solubility in reverse micelles. The power extraction system with Isooctane was affected by the kind of alcohol, and those containing Butanol showed better results. To Hexane systems, there was no effect of the addition of alcohol in the extraction power of the protein in reverse micellar systems.

Keywords: Solubility, extraction, isooctane, hexane.

1 INTRODUÇÃO

Na indústria de alimentos, têm-se utilizado concentrados e isolados protéicos para produzir sopas, shakes e cremes. Além do enriquecimento nutricional, os isolados e concentrados protéicos são utilizados como modificador de textura devido à sua capacidade de formar géis e para facilitar a retenção de umidade durante o processamento e preparo culinário (TARREGA *et al.* 2012; HAYES *et al.*, 2005; KINSELLA E WHITEHEAD, 1989). A recuperação das proteínas do soro, oriundo da produção de queijo, se apresenta como uma alternativa para aplicação das proteínas no enriquecimento protéico de produtos alimentícios (CHILDS *et al.*, 2007, PACHECO *et al.*, 2008; CAETANO *et al.*, 2010).

A α -lactoalbumina e a β -lactoglobulina correspondem a mais de 90% das proteínas do soro de leite. Estas proteínas apresentaram valores nutricionais elevados de importância biológica e industrial (MOKHTARANI, *et al.* 2011; BOAGLIO, 2006). Existem diversos métodos de recuperação e purificação de proteínas, denominados de processos de biosseparação, tais como ultracentrifugação, cromatografia, eletroforese e extração líquido-líquido. A escolha do método é limitada, principalmente, pelo custo de aplicação, características físico-químicas da proteína de interesse e grau de purificação desejado (LECOEUR *et al.*, 2010, MATHEW e JUANG, 2007, MARQUES *et al.*, 2005, TOLKACH e KULOZIK, 2005).

A extração líquido-líquido é uma operação unitária empregada para separar componentes em solução por meio da transferência de massa de tais componentes de uma fase líquida em contato direto com outra fase líquida imiscível na primeira (PERRY, 1997). A aplicação de micelas reversas em processo de separação é baseada nas técnicas de extração líquido-líquido. As micelas reversas podem ser aplicadas em processos de recuperação de biomoléculas, incluindo, proteínas, enzimas e ácidos nucleicos, os quais são solubilizados no interior das micelas sem perda da sua função biológica (LIU *et al.*, 2008, MATHEW e JUANG, 2007). Algumas das vantagens da extração micelar reversa se baseiam na manutenção da funcionalidade biológica do biocomposto, na facilidade de aumento de escala de produção, na operação de forma contínua e na baixa tensão interfacial. Esta última caracteriza o sistema como estável termodinamicamente (KADAM, 1986; HARIKRISHNA, *et al.*, 2002, LIU *et al.*, 2008).

Micelas reversas são agregados auto-organizados formados por surfactante, solvente orgânico e água. O surfactante é uma molécula anfifílica que apresenta uma cabeça hidrofílica que interage com a água e uma cadeia carbônica que interage com o solvente orgânico por meio de interações hidrofóbicas. Os sistemas micelares apresentam

centros aquosos, formados pela solubilização da água em núcleos hidrofílicos, que solubilizam o biocomposto de interesse. Muitos autores têm investigado, com sucesso, o particionamento de proteínas, entre dois líquidos imiscíveis, empregando-se micelas reversas: Hebbar e Raghavarao (2007), extração de BSA (albumina do soro bovino) em sistema AOT/tolueno e Triton-X/tolueno; Sun, *et al.* (2008), extração de proteína do gérmen de trigo em sistema SDS/Iso-octano e AOT/ Iso-octano; Zhang *et al.*, (2002), extração de BSA em sistema CTAB/ 1-clorobutano, 1-bromobutano, 1-iodobutano; Hasman *et al.*, (2007), extração de caseína e BSA em sistema de lectina de soja/Iso-octano e 1-hexanol.

No desenvolvimento de processos de extração em sistema micelar reverso, vários parâmetros incluindo a natureza e concentração de proteína-alvo, pH e força iônica da fase aquosa, temperatura de extração, tipo e concentração do surfactante, tipo de solvente e co-solvente e o tempo de processamento podem influenciar a eficiência da recuperação da proteína. Neste trabalho, foram determinadas as curvas de solubilidade da água para o sistema micelar reverso solvente orgânico (Iso-octano ou Hexano), álcool (Butanol ou Isopropanol), surfactante (AOT) e água e avaliado a influência dos parâmetros, tipo de solvente, tamanho da cadeia carbônica do álcool e concentração de surfactante, na extração da proteína de soro de leite, a α -lactoalbumina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais e reagentes

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia de Processos (LEP) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, Itapetinga-BA.

O di-octil sulfossuccinato de sódio (AOT) foi obtido da Sigma Aldrich, o Iso-octano, o Hexano e o Iso-propílico foram obtidos da F Maia e o 1-Butanol foi obtido da Vetec Química Fina. Utilizou-se ainda, como molécula modelo a proteína α -lactoalbumina (Sigma Aldrich). Todos os reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico.

2.2 Medidas de Titulação Turbidimétrica

Para as medidas de titulação turbidimétrica, adicionaram-se 300 μ L de uma solução contendo AOT, solvente orgânico e álcool em um tubo de 4mL que foi previamente termostatizado a uma temperatura de 25°C. As concentrações de AOT variaram de 1 a 20% (m/m), as concentrações dos solventes foram fixadas em 75% (m/m) de solvente orgânico e 25% (m/m) para o álcool, um com relação ao outro. A esta solução foram adicionadas continuamente alíquotas de 2 μ L de água destilada até o surgimento de turbidez na solução resultante. Este sistema foi deixado em repouso (15 a 30 minutos) até o aparecimento de duas fases límpidas. A quantidade de água adicionada a cada sistema

na qual houve o surgimento de duas fases foi registrada. Com os valores da quantidade de água incorporada em cada sistema é possível obter uma curva de solubilidade da água nas soluções contendo AOT (1 a 20% m/m), em solvente orgânico e álcool.

2.3 Extração da α -lactoalbumina (α -La)

A extração da α -La foi realizada em cinco sistemas micelares reversos. A escolha dos sistemas foi determinada após obtenção da curva da titulação turbidimétrica e a relação entre o solvente e o álcool permaneceram fixas, 75% (m/m) e 25% (m/m) respectivamente.

Para o preparo dos sistemas ternários utilizaram-se dois tipos de solventes orgânicos, Iso-octano e Hexano, e dois alcoóis, Butanol e Isopropanol, e cinco concentrações de AOT.

Estes sistemas eram constituídos de AOT/Iso-octano/Butanol, AOT/Iso-octano/Isopropanol, AOT/Hexano/Butanol e AOT/Hexano/Isopropanol. Cada reagente foi pesado separadamente em balança analítica (Shimadzu Ay 220 \pm 0,001g), em seguida, o AOT foi misturado com o solvente orgânico e o álcool e homogeneizado. As variáveis estudadas foram tipo de solvente orgânico, tipo de álcool e concentração AOT.

Os experimentos foram realizados num esquema fatorial completo 2X2X5, num delineamento inteiramente casualizado.

Para extração da α -La, utilizou-se a metodologia com adaptações de Zhang et al. (2002): misturou-se, em partes iguais (1/1 v) – para garantir a formação de micelas reversas – o sistema ternário com uma solução aquosa da proteína (1,0 mg/mL) em tubos Falcon de 15 mL. Os sistemas foram agitados em agitador orbital durante 15 minutos em temperatura ambiente e centrifugados (High Speed Brushless MPW-350) a 3000 rpm/15 minutos para acelerar a separação de fases. Este processo foi realizado em triplicata e duas repetições.

Com auxílio de uma seringa separou-se a fase micelar, superior, da fase aquosa, inferior.

2.4 Quantificação de proteínas

A concentração de proteína da fase aquosa foi determinada por leitura direta da absorbância com auxílio espectrofotômetro (Biochrom Lib S70) à 280nm em cubeta de Quartzo. Para estimar a quantidade de proteína na fase micelar, determinou-se por diferença entre a quantidade de proteína na solução inicial e a quantidade que permaneceu na fase aquosa.

$$C_m = (C_i - C_a) \quad (1)$$

onde C_m = concentração de proteína na fase micelar (mg.mL^{-1}); C_i = concentração de proteína na solução inicial (mg.mL^{-1}); C_a = concentração de proteína na fase aquosa (mg.mL^{-1}).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Titulação Turbidimétrica

Os dados das medidas de solubilidade da água nos sistemas ternários formados por Iso-octano ou Hexano 75% (m/m)/Butanol ou Isopropanol 25% (m/m) com diferentes concentrações de AOT (1 a 20%) são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados experimentais dos sistemas ternários AOT/Hexano/Isopropanol; AOT/Hexano/Butanol; AOT/Iso-octano/Isopropanol e AOT/Iso-octano/Butanol.

AOT (g/g)	Isopropanol		Butanol	
	Hexano	Iso-octano	Hexano	Iso-octano
	$\text{H}_2\text{O} \times 10^{-4}$ (mol)			
0,010	22,037	21,340	18,480	19,562
0,020	22,037	21,340	22,040	23,118
0,030	22,037	21,340	25,590	24,897
0,040	22,037	28,454	25,590	26,675
0,050	36,960	32,010	36,260	28,454
0,060	36,960	32,707	36,960	30,232
0,070	40,516	39,820	40,520	35,567
0,080	44,073	54,047	40,520	39,124
0,090	47,630	58,300	55,440	42,680
0,100	47,630	65,413	55,440	49,794
0,110	47,630	73,223	59,000	87,139
0,120	61,857	76,780	69,670	325,246
0,130	66,110	83,893	69,670	369,598
0,140	66,110	88,146	91,010	399,166
0,150	69,666	105,930	92,400	428,733
0,160	73,920	117,296	92,400	480,477
0,170	95,260	117,296	95,960	554,397
0,180	95,956	132,220	184,800	609,836
0,190	99,513	132,916	184,800	646,796
0,200	103,070	140,029	184,800	665,276

Observou-se que a quantidade de água solubilizada nos sistemas ternários entre 0,01 a 0,20 g/g de AOT, respectivamente, variou de 22,037 a 103,070 $\times 10^{-4}$ H_2O (mol) para o AOT/Hexano/Isopropanol; de 21,340 a 140,029 $\times 10^{-4}$ H_2O (mol) para o AOT/Iso-octano/Isopropanol; de 18,480 a 184,800 $\times 10^{-4}$ H_2O (mol) para o AOT/Hexano/Butanol; de 19,562 a 665,276 $\times 10^{-4}$ H_2O (mol) para o AOT/Iso-octano/Butanol. Portanto, a quantidade

de água solubilizada aumentou com a concentração de AOT. Isto ocorreu, uma vez que uma maior quantidade de monômeros de surfactante contribui para o aumento da concentração de micelas reversas no meio, o que implica em maior capacidade de solubilização de água.

A Figura 1 apresenta os diagramas de solubilidade da água em sistemas ternários AOT/ Solvente/Isopropanol e AOT/Solvente/Butanol. Na região abaixo da curva, formada pelos pontos experimentais obtidos a partir do surgimento da primeira turbidez, a água adicionada forma um sistema homogêneo com a mistura AOT/solvente/álcool. Assim, os diagramas obtidos contêm importantes informações, indicando a região limite para se trabalhar com sistemas macroscopicamente homogêneos. Dessa forma, para uma dada concentração de AOT/solvente/álcool, eles fornecem a quantidade máxima de água que o sistema consegue solubilizar. Acima da curva, o sistema micelar reverso está em equilíbrio com a solução aquosa, formando um sistema bifásico e abaixo dela o sistema apresenta apenas uma fase.

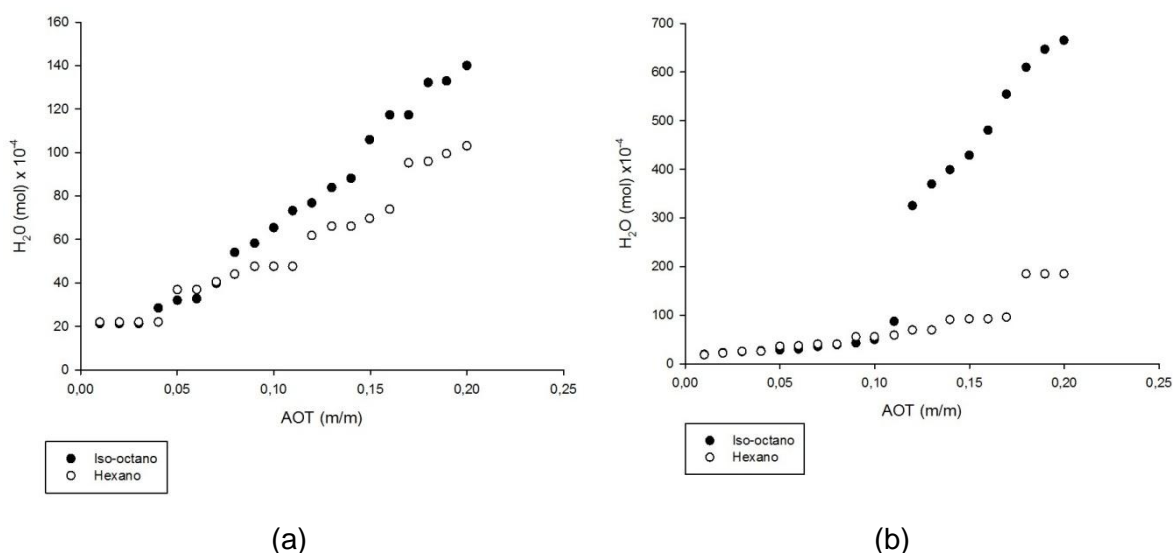


Figura 1: Diagramas de solubilidade da água em sistemas ternários: a) AOT/Solvente orgânico/Isopropanol e b) AOT/ Solvente orgânico/Butanol.

Em relação ao efeito da natureza do solvente, Iso-octano e Hexano, fixando-se o tipo de álcool, foi verificado que em baixas concentrações de AOT, menor que 0,07 g/g para os sistemas com Isopropanol (Figura 1a) e 0,10 g/g para o Butanol (Figura 1b), a quantidade de moléculas de água solubilizada foi semelhante para ambos os solventes. Logo, não se observou a influência do tipo de solvente na formação de micelas reversas para o Iso-octano e Hexano.

Contudo, acima das concentrações de surfactante supracitadas, os sistemas com Iso-octano solubilizaram mais água do que aqueles que tinham Hexano. O Hexano possui

menor volume molecular, 217 Å, do que o Iso-octano, 274 Å (LIU *et al.*, 1999). Por isso, o Hexano pode penetrar mais facilmente entre as cadeias hidrofóbicas do surfactante na interface micelar. O aumento das interações hidrofóbicas pode causar maior repulsão com as cabeças hidrofílicas, estas por sua vez interagem mais fortemente com a água do centro micelar. E a água fortemente ligada se torna menos disponível para formar ligações de hidrogênio.

Além disso, existe o efeito do número de agregação do surfactante que aumenta com aumento da cadeia carbônica do solvente orgânico (EIKE, 1980). Ou seja, a quantidade de monômeros de AOT que se agregam para formar micelas reversas em Iso-octano é maior do que em Hexano. Desse modo, as micelas em Iso-octano possivelmente apresentam maior diâmetro e podem solubilizar mais moléculas de água.

Uma avaliação foi realizada para verificar o efeito da cadeia carbônica do álcool. Observou-se que os sistemas, com Hexano e Iso-octano, que continham Butanol, 0,08 g/g de AOT (Figura 2a) e 0,11 g/g de AOT (Figura 2b), solubilizaram $3,55 \times 10^{-4}$ (mol) e $15,62 \times 10^{-4}$ (mol) de água a menos, respectivamente, do que aqueles sistemas que continham o Isopropanol. Portanto, o álcool Isopropanol favoreceu a solubilização de água pelas micelas reversas. Segundo Mathew e Juang (2007), em baixas concentrações de AOT, o Butanol retira moléculas do surfactante da micela e se complexa, ou seja, ele atua desfavorecendo a autoagregação dos monômeros de AOT para formação de micelas reversas.

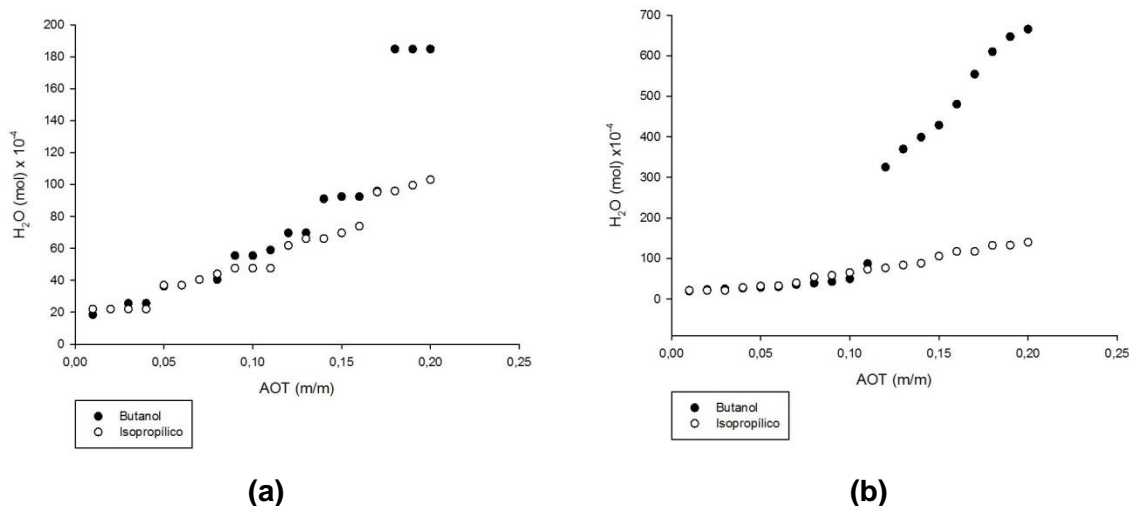


Figura 2: Diagramas de solubilidade da água em sistemas ternários: a) AOT/Hexano/Álcool e b) AOT/Iso-octano/Álcool.

Observou-se um comportamento inverso acima das concentrações de 0,08 g/g e 0,11 g/g de AOT para os sistemas com Hexano/Butanol e Iso-octano/Butanol,

respectivamente. Logo, em concentrações maiores de AOT a presença das moléculas de Butanol melhorou a capacidade de solubilização de água pelas micelas.

O fenômeno pode ser explicado a partir do entendimento de parâmetro de empacotamento crítico (CPP). De acordo com este parâmetro, a formação de micelas reversas deve atender à seguinte condição para o surfactante (ISRAELACHVILI, 1991):

$$\frac{v}{a_0 l_c} > 1$$

onde a_0 = área do grupo hidrofílico (cabeça); v = volume cadeia hidrofóbica; l_c = comprimento da cadeia.

Considerando que o Isopropanol e o Butanol são alcoóis de cadeia curta, eles apresentam três e quatro átomos de carbono, respectivamente; por isso interagem preferencialmente com as cabeças hidrofílicas do AOT, ou seja, atuam na interface água/solvente orgânico, auxiliando, assim, na redução da tensão interfacial. A adição do álcool na interface diminui as forças hidrofílicas do AOT, bem como as forças repulsivas entre a cabeça hidrofílica e o solvente apolar. Por isso, contribui para o aumento da área do grupo hidrofílico, a_0 , conseqüentemente, a CPP diminui, desfavorecendo a formação de micelas reversas.

Entretanto, a cadeia carbônica do butanol é maior que o Isopropanol (cadeia ramificada) e, por isso, a possibilidade de interagir, por meio de interações hidrofóbicas, com o AOT é maior. É possível, que a contribuição do butanol para o volume cadeia hidrofóbica do surfactante (v) seja superior ao seu efeito causado sobre a_0 , resultando no aumento do CPP. Logo, uma maior quantidade de micelas reversas pode ser formada no sistema, e, portanto, um maior número de moléculas de água é solubilizado.

A adição de álcool nos sistemas surfactante/solvente orgânico/H₂O influencia no CPP e o tamanho da cadeia e ramificação do álcool contribui de forma diferente para a formação de micelas reversas.

3.2 Extração da α -lactoalbumina (α -La)

Os resultados das extrações da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos, AOT/Iso-octano/Isopropanol e AOT/Iso-octano/Butanol, são apresentados na Tabela 2. Observou-se que para o sistema AOT/Iso-octano/Isopropanol a quantidade extraída de α -La aumentou (0,215 a 0,319 mg.mL⁻¹) com o aumento da concentração de AOT (0,020 a 0,180 g.g⁻¹). E o sistema AOT/Iso-octano/Butanol o teor de proteína extraída também aumentou (0,216 a 0,662) com o aumento da concentração de AOT (0,050 a 0,160 g.g⁻¹).

Em um estudo realizado por Sun *et al.*, (2008), foi observado que a eficiência da extração das proteínas do gérmen de trigo aumentou 29% quando a concentração de AOT aumentou de 0,02 g.mL⁻¹ para 0,06 g.mL⁻¹ no sistema contendo Iso-octano. No entanto, acima dessa concentração a eficiência diminui. Destarte, é evidente que a adição de álcool

em sistemas micelares reversos contribui para formação e estabilidade da micela, melhorando sua capacidade de extração.

Os sistemas com butanol demonstraram maior capacidade de extração do que aqueles com o Isopropanol. Este comportamento era esperado, uma vez que nos diagramas de solubilidade em água (Figura 2) foi verificado que a adição do butanol contribuiu para a maior formação de micelas reversas, devido ao aumento do parâmetro crítico de empacotamento (CPP). Além disso, a relação molar, H₂O/AOT, para este álcool aumentou com a concentração de surfactante, o que indica maior quantidade de água nos centros aquosos micelares.

Tabela 2. Resultados das extrações da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos: AOT/Iso-octano/Isopropanol; AOT/Iso-octano/Butanol.

Iso-octano			
Isopropanol		Butanol	
AOT(g/g)	α -La (mg.mL ⁻¹)	AOT(g/g)	α -La (mg.mL ⁻¹)
0,020	0,215	0,050	0,216
0,060	0,272	0,080	0,143
0,110	0,285	0,115	0,000
0,150	0,322	0,135	0,366
0,180	0,319	0,160	0,662

Os resultados das extrações da α -La para os sistemas que continham Hexano estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados das extrações da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos: AOT/Hexano/Isopropanol; AOT/Hexano/Butanol.

Hexano			
Isopropanol		Butanol	
AOT(g/g)	α -lac (mg.mL ⁻¹)	AOT(g/g)	α -lac (mg.mL ⁻¹)
0,020	0,239	0,020	0,090
0,070	0,241	0,060	0,000
0,120	0,620	0,120	0,596
0,160	0,262	0,150	0,397
0,190	0,276	0,190	0,413

Verificou-se que no sistema AOT/Hexano/Isopropanol a quantidade extraída de α -La aumentou de 0,239 a 0,620 mg.mL⁻¹ com aumento da concentração de AOT, de 0,020 a 0,120 g.g⁻¹, respectivamente. A partir de então, a quantidade de proteína extraída decresce até 0,276 mg.mL⁻¹ quando a concentração de AOT alcançou 0,219 g.g⁻¹. Este comportamento foi semelhante para os sistemas com butanol. A quantidade de α -La aumentou de 0,090 a 0,596 mg.mL⁻¹ com aumento da concentração de AOT, de 0,020 a

0,120 g.g⁻¹, respectivamente. A partir desta concentração, a quantidade de proteína extraída apresentou um pequeno decréscimo até 0,413 mg.mL⁻¹ para a concentração máxima de AOT alcançou 0,190 g.g⁻¹. Verificou-se ainda que na concentração de 0,120 g.g⁻¹ de AOT, para ambos os alcoóis, o teor de proteína extraído foi semelhante. Este comportamento pode ser resultado da instabilidade das micelas.

Na Figura 3, está apresentado o comportamento das extrações de α -La em sistemas micelares reversos. Observou-se que a quantidade máxima de proteína extraída foi de 31,893% (AOT/Iso-octano/Isopropanol), 66,182% (AOT/Iso-octano/Butanol), 62,033% (AOT/Hexano/Isopropanol) e 59,564% (AOT/Hexano/Butanol). Portanto, os três últimos sistemas apresentaram poder de extração semelhante, porém, verificou-se que o sistema AOT/Iso-octano/Butanol foi o melhor. Isto pode ser explicado devido à maior relação molar H₂O/AOT, apresentada, indicando maior quantidade de água no centro micelar e, portanto, maior capacidade de extração.

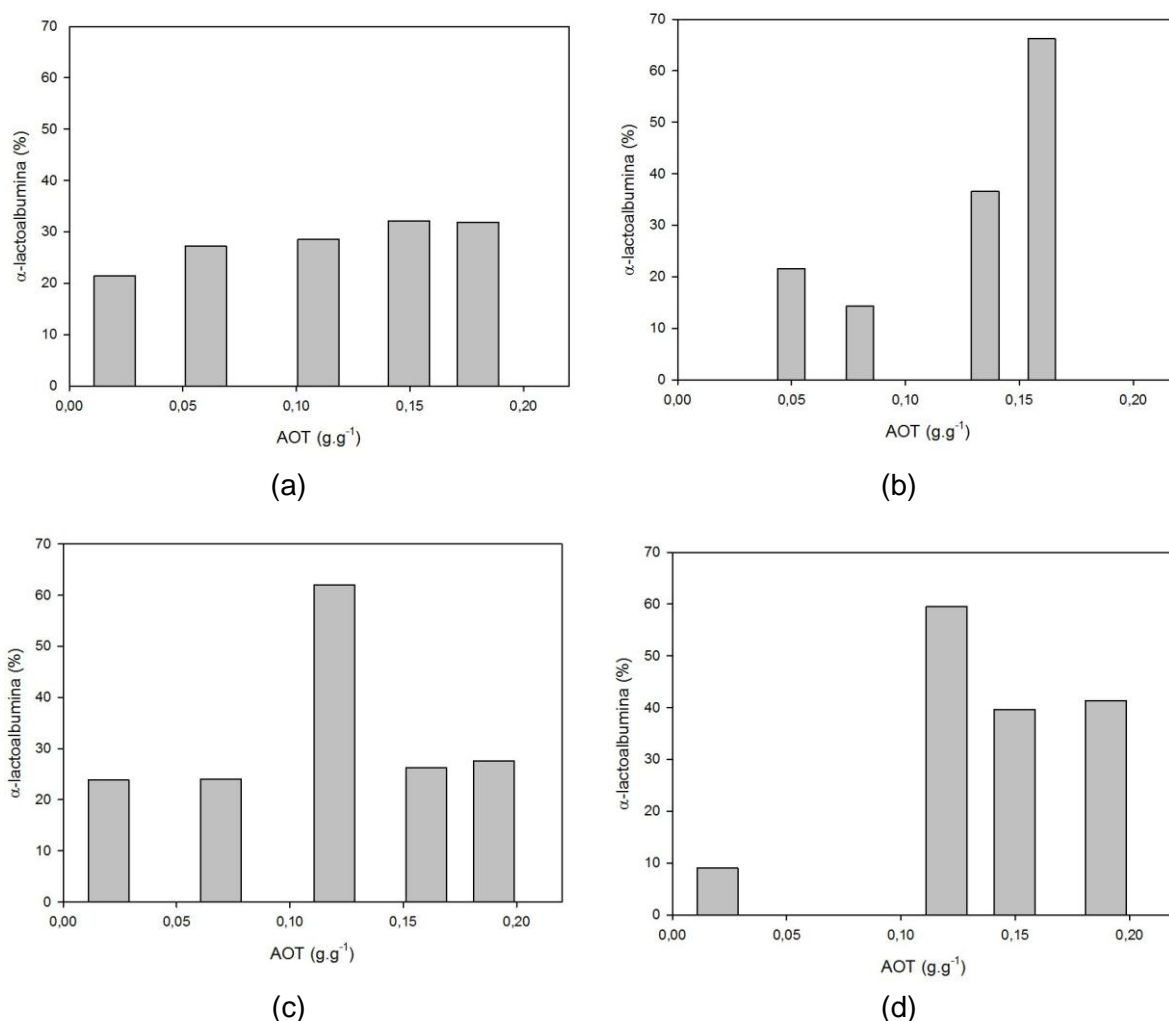


Figura 3: Extração de da α -lactoalbumina em sistemas micelares reversos: (a) AOT/Iso-octano/Isopropanol e (b) AOT/Iso-octano/Butanol; (c) AOT/Hexano/Isopropanol e (d) AOT/Hexano/Butanol.

4 CONCLUSÕES

A partir da obtenção dos diagramas de solubilidade para os sistemas ternários, chegou-se à conclusão que aqueles com o Iso-octano apresentaram melhor capacidade de solubilização de água no centro micelar do que os sistemas com o Hexano, já que o Iso-octano apresenta maior volume molecular e maior efeito do número de agregação de surfactante. Com relação aos alcoóis, observou-se que o Isopropanol e o Butanol agem no sistema como co-surfactante, uma vez que preferem adsorver na interface água/solvente. Verificou-se, também, que o Butanol melhorou a solubilidade da água no interior micelar reverso, devido à sua contribuição com aumento do parâmetro crítico de empacotamento (CPP).

A quantidade de extraída de α -La aumentou proporcionalmente à concentração de AOT para os sistemas com Iso-octano e Hexano. No entanto, para os sistemas com o último solvente, o teor de proteína extraída aumenta e depois decresce.

O poder de extração dos sistemas micelares reversos com Iso-octano foi influenciado pelo tipo de álcool e aqueles que continham Butanol foram melhores. Já para aqueles que continham o Hexano não houve efeito do tipo de álcool adicionado ao sistema no poder de extração da α -lactoalbumina.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOAGLIO, A., BASSANI, G., PICO, G., NERLI, B. Features of the milk whey protein partitioning in polyethyleneglycol-sodium citrate aqueous two-phase systems with the goal of isolating human alpha-1 antitrypsin expressed in bovine milk. **Journal of Chromatography B**. v.837, p. 18–23, 2006.

CAETANO, M. E., SILVA, M. T. PACHECO. B. A. ANTUNES, E. C. Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 13, p. 30-37, 2010.

CHILDS, J.L., YATES, M.D., DRAKE, M.A. Sensory properties of meal replacement bars and beverages made from whey and soy proteins. **Journal of Food Science** v. 72, p.425–434, 2007.

EICKE, H.-F, **Topics in Current Chemistry**,v 87, p. 85, 1980.

HARIKRISHNA S, SRINIVAS N.D, RAGHAVARAO KSMS, KARANTH NG. Reverse micellar extraction for downstream processing of proteins/enzymes. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**. v. 75, p.119–83, 2002.

HASMAN, F. A., CORTEZ, D. V., GURPILHARES, D. B., ROBERTO, I. C.; PESSOA-JUNIOR, A. Micelas reversas de lecitina de soja – uma alternativa para purificação de proteínas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 3, 2007.

HAYES, J.E., DESMOND, E.M., TROY, D.J., BUCKLEY, D.J., MEHRA, R.. The effect of whey protein-enriched fractions on the physical and sensory properties of frankfurters. **Meat Science**. v.71, p. 238–243, 2005.

HEBBAR, H. U., RAGHAVARAO, K.S.M.S.. Extraction of bovine serum albumin using nanoparticulate reverse micelles. **Process Biochemistry**. v.42. p. 1602–1608, 2007.

ISRAELACHVILI, J. N. Intermolecular e Surface Forces. Ed. 2., San Diego, California: Academic Press,. p. 370-382, 1991.

KADAM K.L. Reverse micelles as a bioseparation tool. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 82, p.66–73, 1986.

KINSELLA, J.E., WHITEHEAD, D.M.. Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties. **Advances in Food Nutrition Research**. v. 33, p. 343–437, 1989.

LECOEUR, M. GAREIL, P., VARENNE, A.. Separation and quantitation of milk whey proteins of close isoelectric points by on-line capillary isoelectric focusing—Electrospray ionization mass spectrometry in glycerol–water media. **Journal of Chromatography A**. v.1217, p. 7293-7301, 2010.

LIU. Y., DONG, X., SUN Y.. New Development of Reverse Micelles and Applications in Protein Separation and Refolding. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v.16, p. 949-955, 2008.

LIU, D, MA, J., CHENG, H., ZHAO, Z..Conducting properties of mixed reverse micelles. Colloids and Surfaces: **Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 148, p. 291–297, 1999.

MARQUES, D.P.; CUSTÓDIO, M.F.; GOULART, A.J.; GIORDANO, R.C.; GIORDANO, R.L.C.; MONTI, R. Whey proteins separation by DEAE-Trisacryl. **Alimentos e Nutrição**. v. 16, n.1 , p. 17-20, 2005.

MATHEW, D. S., JUANG, R. Role of alcohols in the formation of inverse microemulsions and back extraction of proteins/enzymes in a reverse micellar system. **Separation and Purification Technology**. v. 53, p. 199–215, 2007.

MOKHTARANI, B., MORTAHEB, H. R. MAFI , M., AMINI, M. H.. Partitioning of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in aqueous two-phase systems of polyvinylpyrrolidone and potassium phosphate. *Journal of Chromatography B*, v.879, p. 721–726, 2011.

PERRY, R. H., GREEN, D. W. **Perry's chemical engineer's handbook**. 7th ed. New York: McGraw-Hill co , p. 2640, 1997.

PACHECO, M. T. B.; ANTUNES, A. E. C.; SGARBIERI, V. C. New technologies and physiological functional properties of milk proteins. In: BOSCOE, A. B.; LISTOW, C. R. (Orgs.). *Protein Research Progress*. 1 ed. Hauppauge: **Nova Science Publishers**. p. 117-168, 2008.

SUN, X., ZHU, K., ZHOU, H. Protein extraction from defatted wheat germ by reverse micelles: Optimization of the forward extraction. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 829–835, 2008.

TARREGA , M.O. RAMÍREZ-SUCRE, J.F. VÉLEZ-RUIZ, E. COSTELL. Effect of whey and pea protein blends on the rheological and sensory properties of protein-based systems flavoured with cocoa. **Journal of Food Engineering**. v. 109, p. 467–474, 2012.

TOLKACH, A., KULOZIK, U.. Fractionation of whey proteins and caseinomacropeptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 13-20, 2005

ZHANG, W., LIU, H.,CHEN, J. Forward and backward extraction of BSA using mixed reverse micellar system of CTAB and alkyl halides. **Biochemical Engineering Journal**, v. 12, p.1–5, 2002.

CONCLUSÕES GERAIS

Diante do estudo realizado, verificou-se que a massa específica é uma propriedade termodinâmica dependente da temperatura e da fração molar do soluto. Sua alteração está atrelada às mudanças nas interações moleculares do sistema, as quais se rearranjam de tal forma que passam a ocupar um maior ou menor volume no espaço. O aumento do volume é atribuído a interações fracas, enquanto que interações de maior intensidade causam uma redução do volume do sistema.

Observou-se também que os alcoóis, Isopropanol e o Butanol, atuaram como co-surfactantes nos sistemas micelares reversos. E que os sistemas com Iso-octano apresentaram maior poder de extração da α -lactoalbumina, uma vez que sua capacidade de solubilizar água nos centros micelares também foi maior.