



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

MICELAS REVERSAS FORMADAS POR SURFACTANTE/SOLVENTE
ORGÂNICO/ÁGUA: ESTUDO TERMODINÂMICO E APLICAÇÃO PARA
EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DA SEMENTE DE JACA

MAYCON FAGUNDES TEIXEIRA REIS

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL

2010

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

MAYCON FAGUNDES TEIXEIRA REIS

**MICELAS REVERSAS FORMADAS POR SURFACTANTE/SOLVENTE
ORGÂNICO/ÁGUA: ESTUDO TERMODINÂMICO E APLICAÇÃO PARA
EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DA SEMENTE DE JACA**

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”.

Orientador:

Prof.^a D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo

Co-orientadores:

Prof.^o D.Sc. Paulo Bonomo

Prof.^a D.Sc. Alexilda Oliveira de Souza

ITAPETINGA

BAHIA – BRASIL

2010

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

R375m
2010

Reis, Maycon Fagundes Teixeira, 1985-

Micelas reversas formadas por surfactante/solvente orgânico/água : estudo termodinâmico e aplicação para extração de proteínas da semente de jaca / Maycon Fagundes Teixeira Reis. – Itapetinga, BA, 2010. x, 47f. : il. ; 29cm.

Orientador: Renata Cristina Ferreira Bonomo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.
Inclui bibliografia.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Proteínas. 3. Extração por solventes. 4. Jaca. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. II. Título.

CDD 22.ed. 664



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: “MICELAS REVERSAS FORMADAS POR SURFACTANTE/SOLVENTE ORGÂNICO/ÁGUA: ESTUDO TERMODINÂMICO E APLICAÇÃO PARA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DA SEMENTE DE JACA”

Autor: MAYCON FAGUNDES TEIXEIRA REIS

Orientadora: Prof^a. DSc. Renata Cristina Ferreira Bonomo

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. Renata Cristina Ferreira Bonomo, DSc., UESB

Prof^a. Cristiane Martins Veloso, DSc., UESB

Prof. Luis Henrique Mendes da Silva, DSc., UFV

Data da Realização: 24 de fevereiro de 2010.

Apresente Documento conferido o original
Em 24/02/2010
Luis Henrique Mendes da Silva

Praça Primavera, Nº 40, Bairro Primavera – Telefone: (77) 3261-8629 - Fax: (77) 3261-8701
Itapetinga – BA CEP: 45.700-000 – e-mail: ppgeal.uesb@yahoo.com.br

AGRADECIMENTOS

A Deus;

Aos meus pais José e Ismene, meus irmãos Marcelo e Sandra, meu cunhado Geovane, minha cunhada Eliana, minha sobrinha Letícia e todos os demais familiares pelo incentivo e apoio nessa jornada;

À minha namorada Ada, por estar sempre presente me dando força, amor e incentivo;

À professora Renata Bonomo pela orientação impecável, amizade e conselhos durante todo o mestrado;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pelo Programa de Pós-Graduação;

À FAPESB, pela bolsa concedida;

Ao professor Paulo Bonomo e professora Alexilda Oliveira pela co-orientação, com sugestões muito validas para execução do trabalho;

Ao Professor Luis Henrique M. da Silva pela ajuda, conselhos e amizade;

Ao professor Luis Antonio Minim, pela amizade, conselhos e toda ajuda na execução do experimento;

À professora Cristiane Veloso por sua prestativa contribuição a este trabalho;

Aos amigos Léo, Keko, Rogério, Vitor, Osvaldo, Moyses, Ivan, Virgilo e Sandro, pela convivência, amizade, momentos de alegria e apoio durante a graduação e o Mestrado;

Aos colegas do mestrado Christian, Angélica, Ariane, Helmo, Juca, Viviane e Ravi;

E a todos os amigos que de alguma forma contribuíram neste trabalho e não foram aqui citados, meus sinceros agradecimentos.

SÚMARIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Surfactante.....	4
3.1.1. Classificação dos Surfactantes.....	5
3.1.2. Micelas	6
3.1.3. Micelas Reversas	7
3.2. Lecitina de Soja.....	9
3.3. Dodecil Sulfato de Sódio (SDS).....	10
3.4. Jaca.....	11
3.5. Delineamentos Experimentais (FATORIAL FRACIONADO/DCCR/MSR)	12
3.6. Calorimetria de Titulação Isotérmica (ITC)	14
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 1 - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA DA FARINHA DA SEMENTE DE JACA UTILIZANDO SISTEMA MICELAR REVERSO COMPOSTO POR SDS/H ₂ O/BUTANOL.....	20
RESUMO	20
ABSTRACT	20
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22

2.1. Materiais e reagentes	22
2.2. Preparo da Farinha da Semente de Jaca.....	22
2.3. Análise Química	22
2.3.1. Umidade	22
2.3.2. Proteína.....	22
2.3.3. Cinzas	22
2.3.4. Gordura.....	23
2.4. Preparação dos sistemas micelar reverso e extração das proteínas	23
2.5. Quantificação de proteínas	23
2.6. Planejamento Experimental.....	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
3.1. Composição centesimal da farinha.....	25
3.2. Efeito da relação molar H ₂ O/SDS, %Butanol, temperatura, tempo e massa de farinha na extração das proteínas da farinha de semente de jaca	25
3.2.1. Avaliação do fatorial fracionado	26
3.2.2. Ajuste de modelos (Resultados dos DCCR).....	26
3.2.3. Efeito das variáveis independentes na variável resposta	30
4. CONCLUSÕES.....	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO 2 – ESTUDO CALORIMETRICO DA MICROEMULSÃO DE LECITINA DE SOJA EM ISOCTANO E BUTANOL.....	34
RESUMO	34
ABSTRACT	34
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
2.1. Materiais:.....	36
2.2. Medidas de Titulação Turbidimétrica:	37
2.3. Estudo microcalorimétrico do sistema.	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

3.1. Diagrama de solubilidade da água no sistema ternário composto por lecitina de soja/isooctano/butanol.....	38
3.2. Medidas de Entalpia de Mistura.....	40
4. CONCLUSÃO.....	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
CONCLUSÃO GERAL.....	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Variáveis e níveis do delineamento fatorial fracionado (2^{5-1}).....	24
TABELA 2. Composição química da farinha da semente de jaca (<i>Artocarpus Integriflória L.</i>).25	
TABELA 3. Estimativa dos parâmetros para o rendimento de extração empregando um fatorial 2^{5-1} (CV=25,56% E $R^2=61,58\%$).	26
TABELA 4. Dados do 1ª DCCR feito com os fatores que tiveram efeitos no fatorial fracionado.	27
TABELA 5. Dados do 2ª DCCR ajustando os parâmetros a valores que tiveram bons rendimentos de extração no 1ª DCCR.	28
TABELA 6. Anova para o modelo de superfície de resposta (CV= 36,48% E $R^2=62,67\%$).....	28
TABELA 7. Significância dos coeficientes de regressão para a resposta (y).....	29

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1: Representação esquemática de uma micela aniônica em meio aquoso. Fonte: (JONSSON ET. AL., 1998).....	7
FIGURA 2: Composição de uma micela reversa (ADAPTADO DE SEOUD ET. AL., 1999)....	9
FIGURA 3: Estrutura molecular da fosfatidilcolina . FONTE: (MERTINS, 2004).....	10
FIGURA 4: Estrutura molecular do dodecil sulfato de sódio Fonte: (FERREIRA, 2006).	11

CAPÍTULO 1 - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA DA FARINHA DA SEMENTE DE JACA UTILIZANDO SISTEMA MICELAR REVERSO COMPOSTO POR SDS/H₂O/BUTANOL.

FIGURA 1: Gráfico de pareto dos efeitos padronizados das variáveis %Butanol (X ₁), relação H ₂ O/SDS (X ₂), e massa de farinha (X ₃) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.....	29
FIGURA 2: Gráfico de superfície de resposta para os efeitos da relação H ₂ O/SDS (X ₂) e da MF (X ₃) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.	30
FIGURA 3: Gráfico de superfície de resposta para os efeitos da relação %Butanol (X ₁) e da MF (X ₃) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.....	31
FIGURA 4: Gráfico de superfície de resposta para os efeitos da relação %Butanol (X ₁) e da relação H ₂ O/SDS (X ₃) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.	32

CAPÍTULO 2 – ESTUDO CALORIMETRICO DA MICROEMULSÃO DE LECITINA DE SOJA EM ISOCTANO E BUTANOL.

FIGURA 1: Deflexões que correspondem à variação de potência ao se fazer injeções consecutivas de água em Isooctano/Lecitina de Soja/Butanol.	38
FIGURA 2: Diagrama de solubilidade da água no sistema ternário Lecitina/Isooctano/Butanol a 25 °C.....	39
FIGURA 3: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja.	41

FIGURA 4: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja, Isooctano+Lecitina de soja e Isooctano puro.....	42
FIGURA 5: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de Soja, Butanol+Lecitina de soja e Butanol puro.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

SDS-	Dodecil Sulfato de Sódio
CMC-	Concentração Micelar Crítica
FSJ-	Farinha da Semente de Jaca
DF-	Delineamento Fatorial
PFF-	Planejamento Fatorial Fracionado
DCCR-	Delineamento Central Composto Rotacional
MSR-	Metodologia de Superfície de Resposta
R.E-	Rendimento de Extração
MF-	Massa de Farinha
ITC-	Microcalorimetria de Titulação Isotérmica
ΔH-	Varição de Entalpia (kJ/mol)
$\Delta_{\text{mix}}H$-	Varição de Entalpia de Mistura (kJ/mol)

RESUMO

REIS, Maycon Fagundes Teixeira, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Fevereiro de 2010. **Micelas reversas formadas por surfactante/solvente orgânico/água: estudo termodinâmico e aplicação para extração de proteínas da semente de jaca.** Orientadora: Prof^a. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-orientadores: Prof^o. D.Sc. Paulo Bonomo e Prof^a. D.Sc. Alexilda Oliveira de Souza.

As microemulsões são compostas de água, óleo e surfactante e, algumas vezes, de um álcool como co-surfactante. Estes sistemas têm sido muito estudados durante as últimas décadas, principalmente devido ao seu elevado poder dissolvente. Nesse trabalho foram feitos dois estudos utilizando duas microemulsões com composições diferentes, uma feita com dodecil sulfato de sódio (SDS), butanol e água, e outra composta por lecitina de soja, isooctano, butanol e água. No primeiro estudo, foi utilizada a microemulsão formada por SDS, butanol e água, para extrair proteína da farinha da semente de jaca por meio de micelas reversas. Os efeitos do tempo de agitação, temperatura, relação molar H₂O/SDS, % Butanol e massa de farinha foram testados no sistema em batelada. Com base no modelo de regressão linear ajustado, somente para o fator % Butanol, foi obtido o ótimo de extração que foi de 41,16 %, e baseado na análise de metodologia de superfície de resposta (MSR), pôde-se observar a tendência de otimização do processo de extração. No segundo estudo, foi feita uma análise termodinâmica utilizando um microcalorímetro de titulação isotérmica, para avaliar a variação da entalpia de mistura ($\Delta_{\text{mix}}H$) da água no sistema formado por lecitina de soja, isooctano e butanol, e nas combinações entre os componentes. Observou-se que na titulação da água no sistema formado por lecitina de soja, isooctano e butanol, ocorreu um comportamento termodinâmico exotérmico associado ao processo de dissolução da água, devido ao fato de estarem formando micelas reversas no sistema avaliado, ocorrendo liberação de energia inferior a -2 kJ/mol, indicando assim uma contribuição entálpica para a agregação das moléculas de lecitina, butanol e água. Por fim, verificou-se também que a lecitina de soja não sofreu nenhum processo de degradação, visto que a energia envolvida no processo de titulação da água nos sistemas contendo a mesma foi considerada baixa, podendo ser utilizada sem problemas nesse tipo de sistema.

ABSTRACT

REIS, Maycon Fagundes Teixeira, Southwest of Bahia University, in February 2010. **Reverse Micelles formed by surfactant/organic solvent/water: Thermodynamic study and application of protein from seed jack fruit.** Advisor: Prof^ª. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-advisors: Prof.. D.Sc. Paulo Bonomo and Prof^ª. D.Sc. Alexilda Oliveira de Souza.

Microemulsions are composed of water, oil and surfactant, and sometimes, of an alcohol as co-surfactant. These systems have been the subject of numerous studies over the past decades, mainly due to its high solvent power. In this work, two studies were made using two microemulsions of different compositions, one made of sodium dodecyl sulfate (SDS), butanol and water, and another consisting of soy lecithin, isooctane, butanol and water. In the first study, it was used a microemulsion formed by SDS, butanol and water to extract protein from flour of jack fruit seed, through reverse micelles. The effects of stirring time, temperature, molar ratio H₂O/SDS,% butanol and mass of flour were tested in batch systems. Based on the adjusted model of linear regression, it was obtained an optimum extraction condition just for the factor % butanol, which was 41.16%. The analysis of the surface response has shown a tendency of optimization of the extraction process. In the second study, it was performed a thermodynamic analysis using an isothermal titration calorimeter to measure the change in enthalpy of mixing ($\Delta_{mix}H$) of water in the system consisting of soy lecithin, butanol and in the mixture of them. It was observed an exothermic thermodynamic behavior, related to the water dissolution, for the titration of pure water in the system composed by isooctane, butanol and soy lecithin, due to the formation of reverse micelles on the system. The energy release was lower than -2 kJ/mol, denoting enthalpy contribution on the aggregation of lecithin, butanol and water molecules. Finally, it was verified that soy lecithin did not suffer any degradation process, since the energy involved on the titration of water in systems containing this very component was considered low. Thus, it may be used without problems in this type of system.

1. INTRODUÇÃO

As microemulsões são compostas de água, óleo e surfactante e, algumas vezes, de um álcool como co-surfactante. Estes sistemas têm sido muito estudados durante as últimas décadas, principalmente devido ao seu elevado poder dissolvente (PATEL et al., 2006; GULÓN et al., 2003). Possuem uma ampla aplicação industrial, sendo utilizados na constituição de materiais poliméricos (XU et al., 1999), como transportadores de drogas via oral, administração parenteral e tópica, grande potencial nas áreas de cosméticos e diversos produtos de consumo (WATNASIRICHAIKUL et al., 2000). Além disso, a segurança no uso de fosfolípidos (por exemplo, Lecitinas), por serem atóxicos, vem aumentando o uso de microemulsões, principalmente pela indústria alimentícia e farmacêutica, na constituição de produtos e ultimamente têm sido amplamente utilizados na extração de biomoléculas. Apesar do interesse crescente em utilizar microemulsões, e da abundância de dados teóricos e experimentais, a formulação desses sistemas ainda é feita por tentativa e erro (TAHA et al., 2005).

A aplicação em potencial de microemulsões formadas por produtos altamente biocompatíveis aos alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos como meios de solubilização de soluções hidrofílicas, hidrofóbicas, anfifílicas e materiais funcionais, aumenta a cada ano (LESER et al., 2006). O potencial técnico e aplicações comerciais de microemulsões estão principalmente ligadas às suas propriedades únicas, como a estabilidade termodinâmica, clareza óptica e alta capacidade de solubilização. No entanto, o problema mais crítico quanto ao uso de microemulsões na alimentação, na composição de cosméticos e farmacêuticos é a toxicidade dos seus componentes. Formulação e caracterização de microemulsão com constituintes atóxicos na sua composição, com base biológica anfifílica e diferentes óleos, foram estudados há mais de uma década. Um exemplo de surfactante atóxico é a lecitina de soja, que é uma combinação natural de fosfolípidios, que são extraídos durante o processamento de óleo de soja. Nos últimos anos, a lecitina tem sido utilizada com sucesso na constituição de microemulsões atóxicas (PAPADIMITRIOU et al., 2008).

O estudo de microemulsões é de grande importância, frente a sua larga utilização pelos vários setores do mercado. Saber a formulação correta, o comportamento e quais as melhores condições de uso das microemulsões, são informações de grande valia para aplicação desses sistemas nas inúmeras áreas de uso. Considerando que cada componente utilizado na formulação das microemulsões leva a um comportamento diferente do produto final, os diversos tipos de surfactante e solventes utilizados devem ser estudados combinados e separadamente, visto que existe uma vasta opção desses componentes que podem ser utilizados na formulação desse tipo de sistema.

Considerando a importância do estudo e da utilização de microemulsões, o presente trabalho teve como objetivo estudar o rendimento de extração de proteínas de uma fonte alternativa, nesse caso a farinha da semente de jaca (*Artocarpus integrifolia L*), utilizando micelas-reversas formadas por dodecil sulfato de sódio (SDS) em butanol e água. Foi feito também o estudo da variação da entalpia de mistura de água em isooctano/butanol e lecitina de soja, utilizando a microcalorimetria de titulação isotérmica (ITC).

O trabalho foi estruturado em dois capítulos, além da introdução, objetivos e revisão da literatura. No primeiro capítulo, foi estudada a extração da proteína da farinha da semente de jaca por micelas reversas. O sistema micelar reverso utilizado foi formado por dodecil sulfato de sódio (SDS) como surfactante, butanol como solvente orgânico e água. No segundo capítulo, foi feita uma análise de titulação turbidimétrica associada à análise termodinâmica, na qual foi utilizado um microcalorímetro de titulação isotérmica para avaliar a variação da entalpia de mistura ($\Delta_{\text{mix}}H$) da água na microemulsão formada por lecitina de soja, isooctano e butanol, e em isooctano puro, butanol puro, lecitina de soja e isooctano, lecitina de soja e butanol, e em isooctano e butanol.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Estudar o comportamento termodinâmico na formação da microemulsão composta por lecitina de soja, isooctano, butanol e água. Estudar a aplicação de microemulsões extraindo a proteína da farinha de semente de jaca por meio de micelas reversas formadas por dodecil sulfato de sódio (SDS), butanol e água.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a variação entalpia de mistura ($\Delta_{\text{mix}}H$) da água em lecitina de soja, isooctano e butanol, utilizando microcalorimetria de titulação isotérmica (ITC).
- Obter os pontos de ótimo, utilizando a metodologia de superfície de resposta (MSR), na extração da proteína da farinha da semente de jaca utilizando micelas reversas, variando os fatores: tempo, temperatura, massa de farinha, relação H_2O/SDS e % Butanol;
- Ajustar um modelo para os dados experimentais para predição do rendimento de extração;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Surfactante

A palavra *surfactante* é derivada da contração da expressão “*surface active agent*”, termo que significa, literalmente, agente de atividade superficial. Os surfactantes são moléculas anfipáticas, compostas por uma parte polar ou hidrofílica e uma cadeia carbônica apolar ou hidrofóbica, sendo que a parte polar pode ser carregada positiva ou negativamente (catiônica ou aniônica), pode ser dipolar (zwitteriônica) ou não carregada. Os surfactantes podem promover a solubilização e a emulsificação de materiais insolúveis e podem reduzir a tensão superficial da solução para facilitar o processamento (GRIFFITHS et al., 2002). Isto evidencia uma importante propriedade dos surfactantes, que 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 dispersão de fases. O papel comum do surfactante em todas estas aplicações é a de modificar a característica da interface. (NITSCHKE et al., 2002).

Uma característica fundamental que está diretamente ligada à ação dos surfactantes é que em meio aquoso, acima de uma determinada concentração, os surfactantes formam micelas e outros agregados, nos quais a porção lipofílica das moléculas fica orientada para o interior da micela enquanto apenas os grupos polares 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).

Os surfactantes apresentam as seguintes propriedades (SCHWEITZER, 2003; SANTOS, 1993):

- (i) Quando em solução, diminuem a tensão interfacial, devido à adsorção e orientação na interface;
- (ii) Existência de moléculas dispersas em solução;
- (iii) Formação de micelas acima de uma determinada concentração micelar crítica (cmc) devido ao decréscimo de energia livre do sistema;
- (iv) Solubilização de substâncias insolúveis em água pelas micelas. As mais utilizadas nas indústrias de alimentos são principalmente os surfactantes não-iônicos (monoacilgliceróis, éster de sacarose de ácidos graxos), aniônicos (ácidos graxos), ou zwitteriônicos (lecitina) que apresentam as propriedades combinadas de surfactantes iônicos e não-iônicos.

Devido a sua grande utilização pelas indústrias, a produção mundial de surfactantes excede 3 milhões de toneladas/ano, com sua utilização se concentrando nas indústrias de petróleo, de cosméticos, de produtos de higiene e de limpeza (BANAT, 2000), onde este último é o setor que utiliza a maior parte dos surfactantes produzidos como matéria-prima para fabricação de detergentes de uso doméstico (NITSCHKE et al., 2002).

3.1.1. Classificação dos Surfactantes

Um surfactante típico possui a estrutura R-X, onde R é uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8 a 18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo polar (ou iônico). Dependendo da característica do grupo X, os surfactantes podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros. Os surfactantes catiônicos possuem 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 nitrogênio, fósforo, enxofre, arsênio, telúrio, antimônio, bismuto 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).

Os surfactantes iônicos contêm uma cabeça polar carregada, tanto positivamente (catiônicos) como negativamente (aniônicos). Os exemplos mais clássicos são o SDS, que contém carga negativa no seu grupo sulfato, enquanto o brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) contém uma carga positiva no seu grupo trimetilamônio. Além disso, os surfactantes iônicos contêm uma cadeia de hidrocarboneto como o SDS e o CTAB, ou uma estrutura esteroideal rígida como o colato de sódio (sal biliar) (BHAIRI, 2001, BHAIRI e MOHAN, 2007). Os Surfactantes Aniônicos contêm geralmente um dos quatro grupos polares solúveis (carboxilato, sulfonato, sulfato ou fosfato) combinado com uma cadeia hidrocarbonada hidrofóbica. Os surfactantes catiônicos são muito utilizados em 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 amônio 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 polioxietilenos ou grupos glicosídios (Ex: Brij, Triton X-100, Tween C_xE_y, dodecyl-β-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, éteres e hidroxilas (KIRK, 1997; MATTSSON et al., 1994).

Os surfactantes zwitteriônicos 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. Micelas

Uma característica das moléculas de surfactantes, quando se encontram em solução, é adsorver preferencialmente nas interfaces, devido ao caráter hidrofóbico de suas caudas, resultando na diminuição da tensão superficial do líquido. Porém, se todas as interfaces disponíveis estiverem saturadas energeticamente, a diminuição da energia livre pode ser conseguida por outros caminhos. A manifestação física de um dos possíveis mecanismos é a cristalização ou precipitação do surfactante na solução, ou seja, uma separação de fases. Um mecanismo alternativo é a formação de agregados moleculares ou micelas, que permanecem termodinamicamente estáveis como espécies dispersas em solução, possuindo propriedades distintas daquelas de um monômero. A faixa de concentração onde ocorre a formação das primeiras micelas é denominada concentração micelar crítica (CMC). Quando a concentração de surfactante solúvel em água é aumentada, a concentração micelar crítica pode ser estimada monitorando-se propriedades físicas da solução como a condutividade e a tensão superficial. Estas apresentam descontinuidade quando a CMC é alcançada, indicando a presença de micelas na solução (MYERS, 1999).

A natureza do solvente em que os surfactantes estão dissolvidos determina a existência de dois tipos de micelas: as micelas diretas e as micelas inversas. As micelas diretas se formam na presença de solventes polares, onde a parte polar do surfactante fica orientada para o meio polar, enquanto que a cauda apolar agrupa-se no interior da micela, evitando o contato com o diluente. Porém, as micelas reversas apresentam o comportamento inverso, ou seja, são formadas em solventes apolares com as cabeças hidrofílicas voltadas para o centro e cercadas pelas caudas hidrofóbicas (FLORÊNCIO, 1995).

Quando em meio aquoso, os surfactantes tendem, em determinadas condições e concentrações, a se auto-organizarem naturalmente, formando estruturas esféricas ou elipsoidais denominadas micelas; expondo suas porções hidrofílicas ao meio e retraindo sua porção hidrofóbica ao interior das micelas. O núcleo hidrofóbico das micelas tem seu raio limitado pelo comprimento da cadeia carbônica estendida (TESTARD e ZEMB, 2002, VOLPE e SILVA FILHO, 1995). As micelas são entidades lábeis formadas pela agregação não covalente de monômeros de surfactante. Sua forma e seu tamanho variam com o tipo de surfactante utilizado, além de 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).

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

O modelo clássico para estrutura de micelas proposto por Hartley em 1939, sugere que as micelas sejam essencialmente gotículas líquidas de dimensões coloidais com os grupos polares da molécula de surfactante situados na superfície (Figura 1). A micela é formada por três regiões distintas: um núcleo hidrocarbônico, cujo raio depende do tamanho da cadeia alquílica; uma região na qual se localizam os grupos hidrofílicos e os contraíons associados, conhecida como camada de Stern, cuja espessura depende do tamanho do grupo polar; uma região denominada dupla camada elétrica de Gouy-Chapman, que contém os contraíons não associados à micela. Na verdade, os modelos de micelas, mesmo os mais sofisticados, não podem representar todas as funções as quais eles tentam mimetizar. O modelo de Hartley pode ser considerado uma representação média de várias estruturas dinâmicas de uma micela esférica (FENDLER, 1982).

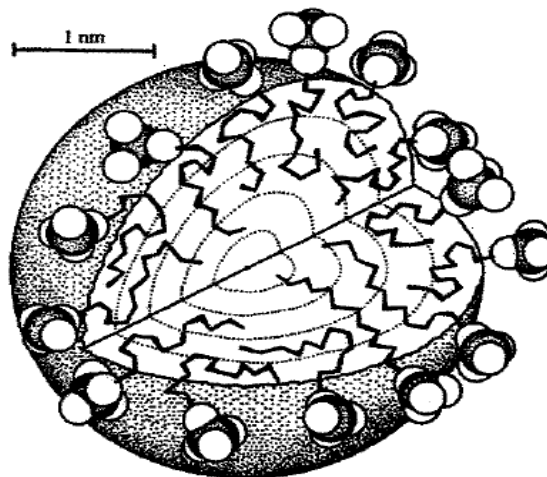


Figura 1: Representação esquemática de uma micela aniônica em meio aquoso. Fonte: (JONSSON et. al., 1998)

3.1.3. Micelas Reversas

A micela reversa é composta por 3 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 polares 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 solubilização de surfactantes em meio orgânico ocorre devido às características apolares do meio e à inversão de conformação micelar, ou seja, a estrutura micelar mantém-se. Porém, neste meio é a porção hidrofóbica é a que fica exposta e a porção hidrofílica se retrai para o interior da micela. Nesta situação, temos a chamada micela reversa; aglomerados moleculares analogamente elipsoidais ou esféricos, cujo núcleo por suas características hidrofílicas pode em determinadas condições reter água, a qual fica parcialmente protegida do contato com o solvente orgânico pelo agregado de moléculas de surfactante (YANG e ROBB, 2005). Do ponto de vista estrutural, define-se as micelas reversas como sendo aglomerados moleculares relativamente ordenados, caracterizados por um raio médio, um número de agregação e densidade de empacotamento bem definidos (BORDI e CAMETTI, 1998).

Micelas reversas são formações espontâneas e reversíveis de agregados esféricos de moléculas anfifílicas em solução apolar. Na presença de água, os centros aquosos presentes nestes agregados são capazes de solubilizar proteínas e outras substâncias de origem biológica, promovendo sua purificação (RODRIGUES et. al., 1999). Micelas reversas são conhecidas como microemulsões de água/óleo. Uma microemulsão é uma dispersão isotrópica termodinamicamente estável de dois líquidos imiscíveis consistindo de microdomínios de um ou ambos os líquidos estabilizados por um filme interfacial de moléculas de surfactante (KILIKIAN et. al., 2000).

A natureza da água presente no núcleo micelar é de grande importância na solubilização de biomoléculas, uma vez que é desse componente que depende a manutenção das propriedades estruturais responsáveis pela funcionalidade de uma enzima encapsulada na micela reversa. A água intracelular pode ter propriedades físico-químicas distintas da água pura, assemelhando-se à água presente nas membranas e interfaces biológicas e pode ser classificada em 2 tipos principais: a água ligada ao surfactante, de menor polaridade e maior viscosidade, e a água livre, com propriedades semelhantes a da água pura (KILIKIAN et. al., 2000). Entre os solventes orgânicos utilizados como meio dispersivo na formação de micelas, destacam-se os hidrocarbonetos alifáticos, como o n-octano, isooctano 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 água da 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 do bioproduto para o seu interior, já que as condições não são favoráveis para solubilização do bioproduto (KREI e HUSTEDT, 1992). Na Figura 2, encontra-se a representação esquemática de uma micela reversa.

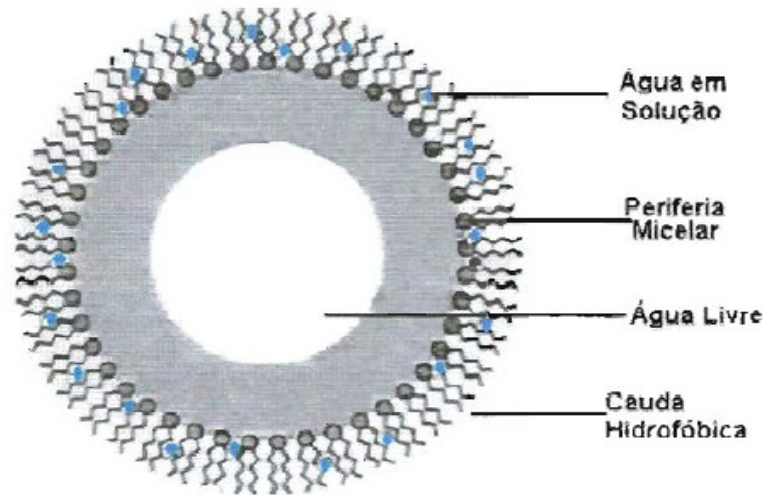


Figura 2: Composição de uma Micela Reversa (Adaptado de SEOUD et. al., 1999)

3.2. Lecitina de Soja

A lecitina é a designação dada a uma mistura de glicolípidos, triglicéridos e fosfolípidos (por exemplo: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol). Contudo, em bioquímica, o termo lecitina é, usualmente, utilizado como sinônimo de fosfatidilcolina pura, um fosfolípido que constitui o principal componente da fração fosfatada que se obtém da gema de ovo ou de grãos de soja, de onde é extraída por meios mecânicos ou químicos, utilizando hexano (MERTINS, 2004).

A lecitina é um subproduto do processamento de óleo de soja bruto e é removido durante a etapa de degomagem de refino do óleo. Óleo de lecitina livre é um material plástico pegajoso, é uma mistura com metade do seu peso de óleo de soja reduzindo acentuadamente a viscosidade para se chegar ao produto conhecido como lecitina fluida. O material bruto é escuro, quase negro (principalmente por causa das altas temperaturas utilizadas durante o processamento), por isso é preciso fazer o branqueamento para ficar com uma cor castanha clara mais aceitável (STAUFFER, 2005).

A Fosfatidilcolina (Lecitina de Soja) é um fosfolípido natural de massa molar igual a 780 g/mol e $\rho=0,05 \text{ g/cm}^3$ (WILLARD et. al., 1998). Faz parte da composição molecular das membranas biológicas e também se encontra presente no plasma sanguíneo como constituinte de lipoproteínas. É biocompatível, biodegradável e tem ação detergente. Sua estrutura (Figura 3) é formada por duas longas cadeias hidrocarbônicas, uma saturada e outra insaturada, que

constituem a porção hidrofóbica ou apolar da molécula. A porção hidrofílica ou polar é formada pelo glicerol, o grupo fosfato e a colina (MERTINS, 2004).

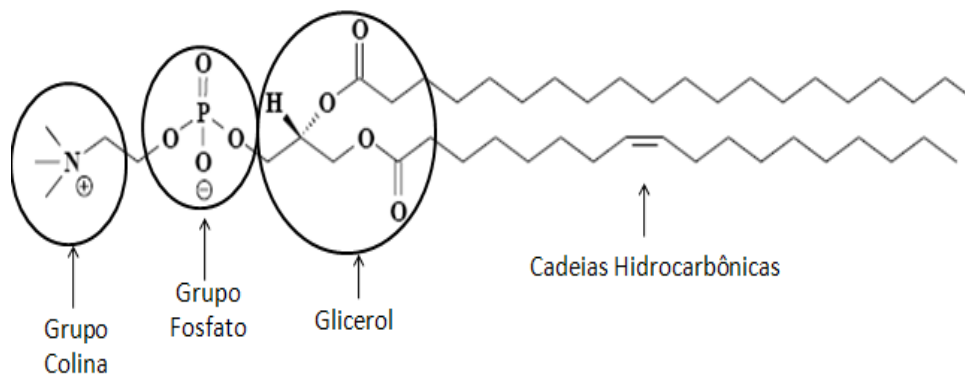


Figura 3: Estrutura molecular da fosfatidilcolina . Fonte: (MERTINS, 2004)

A fosfatidilcolina é um sólido amarelado, higroscópico e pouco estável. É facilmente decomposta em altas temperaturas e degradada pela ação do oxigênio quando exposta ao ar e à umidade por longos períodos. Seu principal produto de degradação é a lisofosfatidilcolina, resultante da hidrólise da função éster no carbono de posição 1 ou 2 do glicerol, fornecendo uma molécula com apenas uma cadeia apolar (KISHIMOTO et. al., 2002). Sua presença aumenta consideravelmente a permeabilidade das membranas de lipossomas, diminuindo a capacidade de retenção de material encapsulado nos lipossomas (LUTZ et. al., 1995).

A fosfatidilcolina de soja é obtida do subproduto no processo de fabricação do óleo de soja. Essa matéria prima é constituída de uma mistura de um grande número de ácidos graxos, lipídios, proteínas, pigmentos e fosfolipídios de diferentes estruturas moleculares, com a fosfatidilcolina representando entre 10 e 20%. A purificação industrial e laboratorial é feita por cromatografia em coluna. Os processos mais acessíveis utilizam colunas de sílica ou alumina e misturas de clorofórmio: metanol como eluente (MERTINS, 2004).

Atualmente, a fosfatidilcolina é largamente empregada nas indústrias farmacêutica e cosmética como emulsificante excipiente e na produção de lipossomas, bem como nas indústrias alimentícias e de tintas como estabilizante e emulsificante (MARON et. al., 2007).

3.3. Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)

O dodecil sulfato de sódio, mais conhecido como SDS, com fórmula molecular $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$ (Figura 4), se encontra na forma de pequenos cristais brancos ou amarelados com leve odor característico. Solúvel em dez partes de água, parcialmente solúvel em álcool e quase insolúvel em clorofórmio e em éter, com ponto de ebulição em torno de 204-207 °C. É um éster de sulfato de C12, álcool dodecanol. Comercialmente, o álcool é produzido

pela redução do óleo de côco, a mistura resultante é chamada álcool lauril. A porção de álcool do lauril sulfato de sódio é uma mistura de comprimentos de cadeia, a composição aproximada é de 8 % de C8, 7 % de C10, 48 % de C12, 20 % de C14, 10 % de C16, e pequenas quantidades de cadeias mais longas. (STAUFFER, 2005).

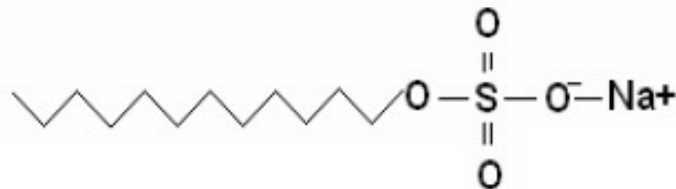


Figura 4: Estrutura molecular do Dodecil Sulfato de Sódio Fonte: (FERREIRA, 2006).

Estes compostos vêm sendo usados ao longo dos anos para diferentes finalidades e usos distintos, a saber, banhos de espuma, cremes emolientes, cremes depilatórios, loções para mãos, xampus, dentifrícios, além de produtos saneantes (detergentes domissanitários). Este uso tem sido motivado em razão das suas propriedades detergente, espumante, emulsificante e solubilizante (FERREIRA, 2006).

3.4. Jaca

A jaca (*Artocarpus integrifolia* L) pertence à família Moraceae e encontra-se largamente distribuída em países como o Brasil, Tailândia, Indonésia, Índia, Filipinas e Malásia (CHOWDHURY et. al., 1997). Pela facilidade com que se dissemina, prolifera espontaneamente nas regiões mais quentes do Brasil. Atualmente, é cultivada em toda a região Amazônica e toda a costa tropical brasileira, do Estado do Pará ao Rio de Janeiro (SOUZA et. al., 2009).

A jaca apresenta característica de sazonalidade bem específica, marcada pela concentração da oferta no período de dezembro/abril. Os bagos podem ser de consistência um pouco endurecida ou totalmente mole, daí a distinção de duas variedades muito conhecidas e denominadas popularmente de ‘jaca-mole’ e ‘jaca-dura’ (SOUZA et. al., 2009), pode ser encontrada em feiras, mercados, ou no CEASA com facilidade nas épocas chuvosas, de Dezembro a Março, pois é nesta época que os frutos estão prontos para serem consumidos. Dos subprodutos existentes, as sementes da jaqueira (15 a 25 % do fruto), são muito usadas na alimentação humana, podendo ser cozidas ou torradas em forno ou assadas à brasa, além de serem nutritivas, são saborosas (SILVA, 2007). A jaca é um fruto comercializado e consumido quase que exclusivamente na forma *in natura* o que leva a um índice elevado de perda na pós-

colheita. Esse fato evidencia a necessidade de processos simples e baratos que possam oferecer para os produtores aproveitarem melhor o fruto da jaqueira. (MELO et al., 2006).

De acordo com Franco (1995), 100 g de caroço de jaca, possui 136 calorias, 30 g de glicídios, 3,50 g de proteínas, 0,30 g de lipídios, 50 mg de cálcio, 80 mg de fósforo e 8,00 mg de ferro. A farinha de caroço de jaca pode ser aproveitada na alimentação humana como ingrediente de “multimisturas”, devido sua riqueza em proteínas e ferro (SILVEIRA, 2000).

3.5. Delineamentos Experimentais (FATORIAL FRACIONADO/DCCR/MSR)

Para os autores NETO (2003) e MONTGOMERY (2005), o desenvolvimento de algumas pesquisas experimentais (trabalho de pouca ou nenhuma informação sobre o sistema em estudo até a otimização das variáveis do processo) pode ser alcançado através de sucessivas aplicações de técnicas específicas de estatística. Essas técnicas são: planejamento fatorial fracionário (PFF), delineamento fatorial (DF), pelo arranjo quadrados, e da metodologia de superfície de resposta (MSR).

A escolha da melhor estratégia do planejamento experimental depende principalmente do número de variáveis independentes ou fatores que se deseja estudar e do conhecimento inicial que se tem sobre o processo. Quando o número de fatores é muito grande, é mais conveniente escolher um primeiro fatorial fracionado que reduz o número de ensaios. Desta forma, todo o tempo e recurso para o desenvolvimento da pesquisa não são gastos diretamente num primeiro planejamento. Isto porque muitas vezes se está longe das condições ótimas. Portanto, a análise dos efeitos como informação inicial pode dirigir sequencialmente o pesquisado, através de novos fatoriais fracionados até se chegar ao completo, atingindo-se as condições desejadas. A relação custo x benefício é muito importante nesta escolha. Ela é o diferencial para planejar criteriosamente e se chegar às condições de otimização mais rapidamente, a um menor custo e com o suporte estatístico na discussão dos resultados (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Segundo MONTGOMERY (2003), a finalidade do planejamento experimental visa determinar os efeitos dos fatores ou variáveis do processo e da interação entre eles sobre o resultado do experimento fatorial. As razões para a opinião de Montgomery são baseadas no fato de que, em geral, apenas dois níveis de fatores são usados neste tipo de delineamento: um menor fator representado pelo sinal (-) e um superior, representado pelo sinal (+), e todas as combinações possíveis destes dois níveis são investigados. O número de experimentos necessários em um delineamento fatorial com dois níveis é dada por 2^k , onde 2 e k representam os níveis e número de variáveis, respectivamente. No entanto, quando o número de fatores a

serem investigados é alto, o delineamento fatorial pode ser fracionado, a fim de reduzir o número de experimentos. Com a redução de experimentos algumas informações sobre os efeitos da interação entre as variáveis sobre o resultado do experimento são afetadas, mas os principais efeitos das variáveis isoladas não são (TEOFILO et al., 2006).

A próxima etapa após verificar quais parâmetros avaliados teve maior efeito sobre a resposta em estudo, seria a utilização de outra ferramenta estatística muito eficiente para maioria dos casos estudados, o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), que segundo RODRIGUES e IEMMA (2005), é um Delineamento Composto Central que tem pontos axiais assim definidos. De modo geral, num DCCR com 2 níveis originais, tem-se 2^k pontos fatoriais + $2 \times K$ pontos axiais + um número arbitrário de pontos centrais.

O Delineamento Composto Central é uma alternativa que possibilita a exploração de todo o espaço amostral com um menor número de ensaios. No entanto é necessário pressupor que o estudo da superfície de resposta ocorre em intervalos dos fatores de interesse com provável ajuste de um modelo de 1º grau. Este tipo de Delineamento possui um valor de α que particulariza esse delineamento, pois o mesmo pode ser escolhido para tornar os coeficientes de regressão ortogonais, ou para minimizar o desvio que resulta ser a forma verdadeira da superfície de resposta, se esta não for quadrática, ou para dar ao delineamento a propriedade de ser rotacional (DCCR), isto é, todos os pontos são equidistantes do ponto central (MATEUS et al., 2001).

Outra ferramenta muito utilizada para otimização de processos é a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). Essa metodologia foi desenvolvida por Box e Wilson em 1951 (BOX, 1978) e aplicada, primeiramente, no campo da Engenharia Química. Atualmente, sua aplicação envolve as ciências químicas, físicas, clínicas e engenharias. De forma geral, consiste em técnicas de análise e planejamento de experimentos empregados na modelagem matemática de respostas. Ou seja, procura-se identificar o relacionamento que existe entre os fatores controláveis (variáveis independentes) e as respostas (variáveis dependentes) do sistema analisado (MYERS, 1995). Segundo GUNAWAN (2005) esse é um método estatístico eficaz para a otimização de variáveis empregando a técnica para se obter o ponto ótimo, sendo amplamente utilizada para otimizar os parâmetros de processos, especialmente determinar as condições ótimas para as investigações químicas e maximizar os rendimentos das reações.

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) pode ser entendida como uma combinação de técnicas de planejamento de experimentos, análise de regressão e métodos de otimização. Essa metodologia compreende um grupo de técnicas matemáticas e estatísticas para a construção e exploração de modelos empíricos, usados para desenvolver, melhorar e otimizar

processos. Tem importantes aplicações na formulação e desenvolvimento de novos produtos. Através de um cuidadoso planejamento e análise de experimentos, a MSR busca relacionar uma resposta, ou variável de saída, aos níveis dos fatores de entrada. Em geral a variável resposta é representada por “Y”, e é função de variáveis independentes ou fatores X_1, X_2, \dots, X_k (MONTGOMERY, 2003).

Quando se tem vários fatores a serem avaliados, a Metodologia de Superfície de resposta torna-se uma ferramenta para otimizar a eficiência do processo, sendo essa uma técnica muito útil para esta finalidade, pois fornece modelos estatísticos que ajudam na compreensão das interações entre os parâmetros que foram otimizados (HAMEED et al., 2009). As vantagens da utilização MSR foram relatadas para incluir a redução do número de ensaios experimentais, necessários para avaliar vários parâmetros e da capacidade da ferramenta estatística para identificar interações. Além de analisar os efeitos das variáveis independentes, a metodologia experimental também gera um modelo matemático que descreve o processo global (BATISTA, 1999).

Os planejamentos experimentais discutidos vêm sendo muito utilizados em experimentos de uma forma geral. ZHANG e colaboradores (2009) utilizaram o fatorial fracionado com o objetivo de elaborar um modelo matemático para a síntese de ZSM-5 e obter a sua condição de síntese mais adequada. SUN e colaboradores (2008) utilizaram a Metodologia de Superfície de Resposta para otimizar as condições de extração da proteína da farinha de trigo (DWGP) utilizando micelas reversas, variando os efeitos da concentração de surfactantes, tempo de extração, concentração de proteína, temperatura, concentração de cloreto de potássio (KCL) e pH.

3.6. Microcalorimetria de Titulação Isotérmica (ITC)

A entalpia associada à mistura e reação de duas soluções de composições diferentes pode ser medida pela microcalorimetria de titulação isotérmica. Dessa forma, os processos físicos e químicos podem ser acompanhados pela liberação ou absorção de energia. O calorímetro é composto, basicamente, de uma cela de referência e uma cela de amostra que contém a mesma solução. Pequenas alíquotas de um determinado composto são injetadas através de uma seringa à cela de amostra e, a energia produzida ou consumida é medida em função do tempo. (HEERKLOTZ e SEELIG, 2000).

Os microcalorímetros de titulação isotérmica podem ser chamados de microcalorímetros de condução ou microcalorímetros de fluxo de energia. Neste tipo de equipamento, a energia é liberada (ou absorvida) na cela de reação para um trocador de calor que fica à sua volta,

geralmente um bloco de alumínio. O fluxo de energia é registrado pelas termopilhas posicionadas entre a amostra e o trocador de calor. A diferença de temperatura entre a amostra e o trocador de calor irá gerar um potencial elétrico sobre a termopilha. A mistura das soluções é realizada através de titulações de uma determinada solução presente na seringa, a um volume fixo, em μL , com injeções em tempos determinados, em outra solução presente na cela de amostra dentro do microcalorímetro, todo esse processo é realizado sob agitação constante (SILVA, 2002)

Cada medida de fluxo de energia gera um pico que representa a energia associada à injeção de um pequeno volume da solução da seringa na solução presente na célula de amostra. À medida que a solução presente na célula de amostra vai atingindo a saturação, o sinal de energia liberada vai diminuindo até atingir a saturação completa. Integrando a área de cada pico (energia liberada ao longo de um intervalo de tempo) obtêm-se a medida do ΔH (em unidades de joules por mol do componente A) resultante do processo de mistura a ser estudado. Com posse dessa informação chega-se aos outros parâmetros termodinâmicos desejados no estudo em questão (GOMES, 2009).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BANAT, I. M. **Biosurfactants, more in demand than ever.** *Biofutur*, vol.44, p. 198, 2000.

BATISTA, L. **Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction.** *Eur. Food res. Technol.*, vol. 210, pp. 85-89, 1999.

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 droplet charging process in water-in-oil microemulsions: an electrical conductivity study.** *Colloid and Polymer Science*, n.276, p. 1044-1049, 1998

BOX, G. E. P. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building.** New York: John Wiley, p. 653, 1978.

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

CHOWDHURY, F. A.; RAMAN, A.; MIAN, A. J. **Distribution of free sugars and fatty acids in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*).** *Food Chemistry*, v.60, n.1, p.25-28, 1997.

- FERREIRA, A. H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar.** Dissertação de Mestrado em Alimentos e Nutrição, UNICAMP, Campinas-SP, 2006.
- FENDLER, J. H. **“Membrane Mimetic Chemistry”**, Ed. John Wiley & Sons, 1982.
- FLORÊNCIO, T. C. R. M. **Desenvolvimento de processos para obtenção de novos tensoativos a partir de óleos vegetais.** Dissertação (Mestrado), UFRN. Natal: DEQ/PPGEQ, 1995
- GOMES, D. S. B. **Formação e caracterização de micelas reversas de (EO)₁₃(PO)₃₀(EO)₁₃ em P-Xileno.** Dissertação de Mestrado em Física Aplicada, UFV, Viçosa-Mg, 2009.
- 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.
- GUNAWAN, E. R., BASRI, M., ABD RAHMAN, M.B., SALLEH, A.B., ABD RAHMAN, R.N.Z. **Study on response surface methodology (RSM) of lipase-catalyzed synthesis of palm-based wax esters.** *Enzym. Microb. Technol.* 37, 739–744, 2005.
- HAMEED, B. H., I. A. W. TAN and A. L. AHMAD. **Preparation of oil palm empty fruit bunch-based activated carbon for removal of 2,4,6-trichlorophenol: Optimization using response surface methodology.** *J. Hazardous Mater.*, vol. 164: p. 1316-1324, 2009.
- HEERKLOTZ, H.; SEELIG, J. **Titration calorimetry of surfactant-membrane partitioning and membrane solubilization.** *Biochim. Biophys. Acta* 1508: 69-85, 2000.
- JONSSON, B.; LINDMAN, B.; HOLMBERG, K.; KROMBERG, B.; **Surfactants and Polymers in Aqueous Solution**, Ed. Johnson Wiley & Sons: England, 1998
- KIRK, OTHMER. **Enciclopedia de tecnologia química.** 1997
- 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.** *Braz. J. Chem. Eng.*; v.17, n.1, p.29-38, 2000.
- KREI, G.A, HUSTEDT, H. **Extraction of enzymes by reverse micelles.** *Chemical Engineering Science*, v.47, n.1, p.99-111, 1992.
- KISHIMOTO, T., SODA, Y., MATSUYAMA, Y., MIZUNA, K. **An enzymatic assay for lysophosphatidylcholine concentration in human serum and plasma.** *Clinical Biochemistry.* v. 35, p 411, 2002.
- LESER, M., SAGALOWICZ, L., MICHEL, M., WATZKE, H. **Self-assembly of polar food lipids.** *Adv. Colloid Interface Science*, 123-126, 125-136, 2006.
- LUTZ, J., AUGUSTIN, A.J., JAGER, L.J., BACHMANN, D., BRANDI, M. **Acute toxicity and depression of phagocytosis in vivo by liposomes: Influence of lysophosphatidylcholine.** *Life Sciences*, v. 56, p. 99, 1995.
- MATEUS, N. B., BARBIN, D., CANAGIN, A. **Viabilidade de uso do delineamento composto central.** *Acta Scientiarum, Maringá*, Vol. 23, n. 6, pag. 1537-1546, 2001.

- MANIASSO, N., **Ambientes Micelares em Química Analítica**. Química. Nova, vol. 24, n. 1, 87-93, 2001.
- MARON, L. B., COVAS, C. P., SILVEIRA, N. P., POHLMANN, A., MERTINS, O. **LUVs Recovered with Chitosan: A New Preparation for Vaccine Delivery**. J. Liposome Res. V. 17, p. 155, 2007.
- 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**. J. Biol. Chem. 269: 24979-24982, 1994.
- MELO, G. L. DE., VIEIRA, G. ARAÚJO, A. SOUZA. I. V DE. LACERDA, T. **Caracterização das propriedades físicas e físico-químicas da jaca *in natura* e desidratada**. XII Seminário de Iniciação Científica da UESC Ciências Agrárias, Anais, p. 114 - 115, 2006.
- MERTINS, O. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanovesículas Lipossômicas Compósitas de Fosfatidilcolina de Lecitina de Soja e Quitosana**. Dissertação de Mestrado em Química, UFRGS, Porto Alegre, 2004.
- MINATTI, E. **Um novo modelo para a interação entre polímeros neutros hidrossolúveis e surfactantes**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Departamento de Química, Florianópolis, 2005.
- MYERS R. H.; MONTGOMERY. D. C. **Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**. Canada: John Wiley & Sons. 1995.
- MYERS, D. **Surfaces, Interfaces and Colloids – Principles and Applications**: Wiley & Sons. 1999.
- MONTGOMERY, D. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. 2. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**, 6th ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2005.
- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**, 2a ed.; UNICAMP: Campinas, Brasil, 2003.
- NITSCHKE, M., PASTORE, G. M. **"Biosurfactantes: Propriedades e Aplicações."** Química Nova 25 (5): 1-13, 2002.
- PAPADIMITRIOU, V., PISPAS, S., SYRIOU, S., POURNARA, A., ZOUMPANIOTI, M., SOTIROUDIS, T. G., XENAKIS, A. **Biocompatible Microemulsions Based on Limonene: Formulation, Structure, and Applications**. Langmuir, vol. 24, pp. 3380-3386, 2008.
- 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 21(4): 531-544, 2004.
- RODRIGUES, E. M., MILAGRES, A. M. F., PESSOA JUNIOR, A. **Selective recovery of xylanase from *Penicillium janthinellum* using BDBAC reversed micelles**. Acta Biotechnol., v.19, p.157-161, 1999.

RODRIGUES, M. I., IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos**. 1ª ed. Campinas - SP, 2005.

SCHWEITZER, B. **Crescimento dos Agregados Micelares em Complexos de Albumina do Soro Bovino – Dodecilsulfato de Sódio Controlado pela Proteína**. Dissertação de Mestrado, UFSC (Departamento de Química), Florianópolis – SC, 2003.

SEOUD, O.A., SANCTIS, D.S., PALMA, E.J. **Tensoativos: química e aplicações em cosméticos e detergentes**. São Paulo: ABQ, 1999.

SOUZA, T. Sant'Anna; Chaves, M. A.; Bonomo, R. C. F., Soares, R. D., Pinto, E. G. e Cota, I. R. **Desidratação osmótica de frutículos de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.): aplicação de modelos matemáticos**. Acta Scientiarum. Technology, Maringá-PR, v.31, n.2, p.225-230, 2009.

SILVA, J. H. V; JORDÃO FILHO; RIBEIRO; M. L. G; SILVA, E. L; **Efeitos da inclusão do farelo de sementes de jaqueira *Artocarpus heterophyllus* Lam.) na ração sobre a produção, pigmentação da gema e umidade fecal em codornas**. Revista Ciênc. Agrotec., v.31, n.2, 2007.

SILVEIRA, PAULA LEITE. **Estudo da elaboração de passas da polpa, aproveitamento dos caroços e resíduos da jaca (*Artocarpus heterophyllus*)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, p. 77, 2000.

SILVA, R. C. **Aplicação de calorimetria ao estudo da interação entre polímeros não iônicos e surfactantes iônicos**. Tese de Doutorado em Química, UNICAMP, Campinas-SP, 2002.

STAUFFER, C. E. **Emulsifiers for the Industry, in: Bailey's Industrial oil and fat products**, ed. Wiley-Interscience; vol. 4, (USA), 2005.

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

TAHA, M. O., ABDEL-HALIM, H., AL-GHAZAWI, M., KHALIL, E. **QSPR modeling of pseudoternary microemulsions formulated employing lecithin surfactants: Application of data mining, molecular and statistical modeling**. International Journal of Pharmaceutics. vol. 295, pp. 135–155. 2005.

TESTARD, F., ZEMB T. **“Interpretation of phase diagrams: topological and thermodynamical constraints.”** Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects 205(1-2): 3-13, 2002.

TEOFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. **Planilhas Eletrônicas para Cálculos de Planejamentos Experimentais**. Química Nova. vol. 29, pp. 338–350, 2006.

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

WATNASIRICHAIKUL, S., DAVIES, M. N., RADES, T., TUCKER, G. I. **Preparation of Biodegradable Insulin Nanocapsules from Biocompatible Microemulsions**. Pharm. Res. vol. 17, pp.684–689, 2000.

WILLARD, D.M., RITER, R.E., LEVINGER, N.E. **Dynamics of Polar Solvation in Lecithin/Water/Cyclohexane Reverse Micelles.** Journal of the American Chemical Society. v. 120, p. 4151, 1998.

XU, W., SIONG, K., GAO, Z., LEE, S. Y., CHOW, P. Y., GAN, L. M. **Microporous polymeric composite electrolyte microemulsion polymerization.** Langmuir 15, pp.4812–4819, 1999.

YANG, Z. ROBB, D.A. **“Tyrosinase activity in reversed micelles.”** Biocatalysis and Biotransformation 23(6): 423-430, 2005.

ZHANG, D., WANG, R. YANG, X. **Application of fractional factorial design to ZSM-5 synthesis using ethanol as template,** Microporous and Mesoporous Materials, vol. 126, pp. 8–13, 2009.

CAPÍTULO 1 - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA DA FARINHA DA SEMENTE DE JACA UTILIZANDO SISTEMA MICELAR REVERSO COMPOSTO POR SDS/H₂O/BUTANOL.

RESUMO

Neste trabalho foi avaliada a extração da proteína da farinha da semente de jaca por micelas reversas. O sistema micelar reverso utilizado foi formado por dodecil sulfato de sódio (SDS) como surfactante, butanol como solvente orgânico, e água. Os efeitos do tempo de agitação, temperatura, relação molar H₂O/SDS, % Butanol e massa de farinha foram testados no sistema em batelada. Com base no modelo de regressão linear ajustado, somente para fator % Butanol, foi obtido o ótimo de extração de 41,16 %, e baseado na análise de metodologia de superfície de resposta (MSR), para temperatura de 25°C, tempo de agitação de 120 minutos, massa de farinha de 100 mg, relação H₂O/SDS de 50, é possível obter o melhor rendimento de extração. Os resultados experimentais demonstraram que é possível alcançar rendimentos de extração de 79,00 %, sendo esse um método de extração eficiente.

Palavras chave: Micelas reversas; proteína da farinha de semente de jaca; extração; dodecil sulfato de sódio (SDS).

ABSTRACT

In this work it was evaluated the extraction of protein from flour of jackfruit seeds by reverse micelles. The reverse micellar system used was composed of sodium dodecyl sulfate (SDS) as surfactant, butanol as solvent, and water. The effects of stirring time, temperature, molar ratio H₂O/SDS, % butanol and mass of flour were tested in batch systems. Based on the adjusted linear regression model, only the factor % butanol presented an optimum extraction condition, which was 41.16%. Based on the analysis of the surface response, at 25 ° C, shaking time of 120 minutes, mass of flour of 100 mg, ratio H₂O/SDS of 50, it is possible to obtain the best extraction yield. The experimental results showed that it is possible to achieve extraction yields of 79,00 %, which was an efficient method of extraction.

Keywords: reversed micelles; protein of flour seed of jack fruit ; extraction; dodecil sodium sulfate (SDS).

1. INTRODUÇÃO

Experimentos visando à utilização de resíduos das indústrias de alimentos como fonte alternativa de proteína vêm sendo conduzidos com frequência na tentativa de suprir as

necessidades nutricionais diárias com fontes de proteínas eficientes e economicamente viáveis à população em geral. A substituição de alimentos protéicos de origem animal por alimentos protéicos de origem vegetal vem sendo realizada na tentativa de utilização de novas fontes alimentares com boas propriedades tecnológicas e nutritivas (NUNES et al., 2003).

As sementes da jaca, subprodutos do fruto (em média 15,00 % a 25,00 % do fruto), são muito usadas na alimentação humana, podendo ser cozidas ou torradas em forno ou assadas à brasa e além de serem nutritivas, são bastante saborosas (SILVA, 2007). A farinha da semente é um resíduo da fruta da jaca que pode ser considerada uma fonte alternativa de proteínas, carboidratos e fibras.

Uma alternativa em potencial como método de extração da proteína da semente de jaca é o uso de micelas reversas. As micelas reversas são agregadas de moléculas de surfactantes, de tamanhos nanométricos dispersos em solventes orgânicos, sendo estes termodinamicamente estáveis, produzindo sistemas opticamente transparentes. A relevância biotecnológica dessas estruturas resulta da sua capacidade de solubilizar água e moléculas hidrofílicas, como proteínas, em seus núcleos polares (SUN et al., 2008).

Existem vários grupos de pesquisa que estão envolvidos em estudar a extração de proteínas por micelas reversas (ANDREWS e HAYWOOD, 1994; MATZKE et al., 1992). Sun e colaboradores (2008) estudaram a utilização de micelas reversas contendo AOT (bis-2-etil-hexil sulfosuccinato de sódio) como surfactante e o isooctano como solvente orgânico, para a extração de proteínas de germe de trigo desengordurado, utilizando a metodologia de superfície de resposta para otimizar o processo de extração. Em geral, os autores verificaram que o método de extração de proteínas por micelas reversas tem as seguintes vantagens: os surfactantes e os solventes orgânicos podem ser usados repetidamente através da recuperação dos mesmos, diminuindo os custos de extração; o núcleo polar das micelas reversas mantém as características de atividade das proteínas dissolvidas.

Considerando que a semente de jaca é um resíduo não utilizado pela indústria de alimentos, e que estudos de extração de proteínas da semente de jaca utilizando micelas reversas não foram relatados anteriormente, esse trabalho teve como objetivo desenvolver um método alternativo de extração de proteína da farinha da semente de jaca (FSJ) utilizando micelas reversas, tendo o dodecil sulfato de sódio (SDS) como surfactante e o butanol como solvente orgânico. Com o intuito de otimizar o processo de extração da proteína, foi utilizado inicialmente um fatorial fracionado para avaliar os efeitos da % Butanol, tempo de agitação, temperatura, relação H₂O/SDS, e massa de farinha nos sistemas em batelada. Em seguida, foi utilizado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para testar os fatores que foram significativos ao nível de 5 %, no fatorial fracionado. Posteriormente, foi aplicada a Metodologia

de Superfície de Resposta (MSR) para otimizar as condições de extração da proteína da FSJ a partir do sistema micelar reverso.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais e reagentes

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Engenharia de Processos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga – Ba, e no laboratório de Engenharia de Processos do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa-MG. As sementes para o preparo da farinha foram obtidas de jacas comercializadas na cidade de Itapetinga-Ba e região. O dodecil sulfato de sódio (SDS) e o 1-Butanol foram obtidos da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro – Brasil). Todos os reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico.

2.2. Preparo da Farinha da Semente de Jaca

As sementes foram lavadas com água, para a remoção de fibras, trituradas com água e filtradas varias vezes para retirada do amido, secas a 50 °C (em secador tipo bandeja) durante 24 h, em seguida trituradas em moinho de martelos, posteriormente peneiradas com peneiras de 20 Mesh, para obter a granulometria desejada. Após essa fase, o produto foi armazenado em frascos plásticos a temperatura ambiente.

2.3. Análise Química

2.3.1. Umidade

A determinação de umidade foi realizada por método gravimétrico em estufa regulada a 105 °C, até peso constante, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.3.2. Proteína

O teor de proteína total foi determinado pelo método de Semi-micro Kjeldahl, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.3.3. Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por método gravimétrico em forno tipo mufla, até peso constante, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.3.4. Gordura

O teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de extrato etéreo, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.4. Preparação dos sistemas micelar reverso e extração das proteínas

Os sistemas de micelas reversas foram formados por SDS, butanol e água. Para o preparo das soluções micelares, cada reagente utilizado foi pesado separadamente. Em seguida, o SDS foi misturado com o butanol e então adicionou-se a quantidade de água estabelecida para cada sistema. As variáveis estudadas no processo de extração foram relação molar H₂O/SDS, % Butanol, temperatura, tempo e massa de farinha, para o fatorial fracionado, e relação molar H₂O/SDS, % Butanol e massa de farinha, para o Delineamento Composto Central Rotacional. Ao fazer os sistemas contendo as micelas reversas (GALLEGO et al., 2004), os valores das variáveis independentes foram combinados de acordo com cada delineamento ao acaso.

Todos os experimentos de extração foram conduzidos em tubos Falcon de 40 ml, com extração direta da farinha. Os sistemas foram agitados em agitador de tubos tipo Vortex a 40 rpm durante os intervalos de tempo e temperaturas propostas. Para o controle da temperatura, o agitador foi colocado em Estufa B.O.D (Tecnal TE-184, Brasil). O resíduo foi separado por centrifugação, em Centrífuga (5804, EPPENDORF, Alemanha) a 10000 rpm por 15 minutos.

2.5. Quantificação de proteínas

No final da extração, a concentração de proteína foi determinada com uso do Espectrofotômetro (Biomate 3, Thermo Scientific, USA) à 280 nm em cubeta de Quartzo. Para estimar a quantidade de proteína em cada amostra determinada, determinou-se a quantidade de proteína presente por massa de farinha pelo método Semi-micro Kjeldahl. Utilizando a informação da porcentagem de proteína presente na farinha, e da quantidade de proteína presente na amostra analisada no espectrofotômetro com o auxílio de uma curva padrão, feita previamente utilizando o BSA (Albumina do Soro Bovino), foi obtido o rendimento de extração (R.E) utilizando a equação 1.

$$R.E.(%) = [(MPM) \div (MF \times \% Prot.F)] \times 100 \quad (1)$$

Onde: **MPM** é a massa de proteína na micela reversa, **MF** (mg) é a massa de farinha colocada em cada batelada e **% Prot.F** é a quantidade de proteína presente na farinha.

2.6. Planejamento Experimental

Primeiramente, um planejamento fatorial fracionado 2⁵⁻¹ adicionados a 4 repetições no ponto central foi implementado a fim de avaliar a influência da relação molar H₂O/SDS, %

Butanol, temperatura, tempo e massa de farinha na porcentagem de extração da proteína da farinha (variável dependente) por micelas reversas. Os valores dos níveis das variáveis estudadas estão apresentados na Tabela 1. Os resultados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os efeitos foram considerados significativos para $p < 0,02$.

A partir dos resultados da ANOVA para os experimentos do fatorial fracionado, um primeiro delineamento composto central rotacional (DCCR) foi usado para otimizar ou verificar uma tendência de otimização do processo de extração da proteína da farinha.

Tabela 1. Variáveis e níveis do delineamento fatorial fracionado (2^{5-1})

Variável	Nível		
	-1	0	1
H2O/SDS	32,20	36,50	42,70
%Butanol (%m/m)	45,00	62,50	80,00
Temperatura (°C)	15	25	35
Tempo de agitação (min)	30	180	330
Massa de farinha (mg)	200	300	400

Os efeitos significativos foram estudados em dois níveis, com quatro repetições no ponto central, que foram utilizados para avaliar o erro experimental e da adequação do modelo proposto. Para cada uma das variáveis independentes estudadas, maior valor (valor codificado: +1) e menor valor (valor codificado: -1), para os pontos axiais maior valor (valor codificado: +1,68) e menor valor (valor codificado: -1,68), os pontos definidos foram selecionados de acordo com os resultados obtidos a partir de planejamento fatorial fracionado.

Com um modelo polinomial de segunda ordem (Eq. 2) foram ajustados os dados experimentais e os coeficientes de regressão foram obtidos por regressão linear múltipla

$$K = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

A partir dos resultados deste DCCR, foi instalado um novo DCCR com novos valores para as variáveis a fim de otimizar o processo de extração. As variáveis utilizadas neste novo

delineamento foram as mesmas do primeiro DCCR, porém com valores que tendiam para a região de ótimo. Nos dois delineamentos Composto Central Rotacional, os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e de regressão, considerando-se a falta de ajuste, a significância dos parâmetros e o coeficiente de regressão. Por meio da análise da metodologia de superfície de resposta, determinaram-se as melhores condições de extração das proteínas nos intervalos de condições experimentais utilizados.

Todas as análises estatísticas necessárias foram realizadas no pacote estatístico *Statistical Analysis System*[®] versão 9.0, procedimento RSREG (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), licenciado pela Universidade Federal de Viçosa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Composição centesimal da farinha

Os valores encontrados para a composição centesimal da farinha do caroço de jaca são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química da farinha da semente de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.).

Análises	Valores (%)	Desvio
Umidade	9,40%	±1,34
Proteínas	12,00%	±0,02
Cinzas	1,53%	±0,13
Lipídeos	8,98%	±0,32

O teor de umidade encontrado na farinha da semente de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.) de 9,40 (± 1,34), é inferior aos 15,00% estabelecido pela legislação em vigor (Brasil, 1978) para farinhas vegetais. Cruz *et. al.* (2007) estudando a obtenção da farinha da semente de jaca por diferentes métodos encontraram um teor de umidade de 13,16% e Silveira (2000), que analisando farinhas de caroço de jaca das variedades dura e mole, obteve como resultados, 12,67% e 9,76% respectivamente. Essa diferença no teor de umidade se deve ao fato do processo de obtenção da farinha ser diferente entre os trabalhos comparados.

O teor de proteína da farinha da semente de jaca encontrado foi de 12,00 % (± 0,02), e o teor de lipídeos (8,89 %). O teor de proteína foi superior ao encontrado por Cruz *et. al.*, 2007, que obtiveram um percentual de 10,78 % e do encontrado por Silveira (2000), que avaliando os teores de proteína contidos nas farinhas de caroço de jaca das variedades duros e moles, observou que as mesmas continham 5,05 % e 5,14 % respectivamente. Variação essa, que em parte pode ser explicada pelas diferenças tecnológicas no preparo das amostras.

Para as cinzas, a farinha apresentou um teor de 1,53 % ($\pm 0,13$), bem abaixo do teor máximo de 4,00% permitido para a farinha de vegetais pela legislação brasileira. E também menor que o teor de 2,37 encontrado por Cruz et. al (2007) e Silveira (2000), que obtiveram teores de cinzas nas farinhas de caroço de jaca das variedades dura e mole de 4,80 % e 3,57 % respectivamente.

3.2. Efeito da relação molar H₂O/SDS, % Butanol, temperatura, tempo e massa de farinha na extração das proteínas da farinha de semente de jaca

3.2.1. Avaliação do fatorial fracionado

Com o intuito de avaliar quais fatores tiveram efeito significativo no processo de extração da proteína do farelo de jaca utilizando micelas reversas de SDS, água e Butanol, foi feita uma análise de variância ANOVA e uma análise de estimativa dos parâmetros (Tabela 3) para o fatorial fracionado 2⁵⁻¹.

Tabela 3. Estimativa dos parâmetros para o rendimento de extração usando fatorial 2⁵⁻¹

Variáveis	G.L	Estimativa	Valor t	Pr > t
%Butanol	1	-10.5504	-3.52	0.0037
Temperatura	1	1.9397	0.65	0.5283
Tempo	1	2.2666	0.76	0.4624
H ₂ O/SDS	1	5.4802	1.83	0.0901
M.F.	1	-6.0362	-2.02	0.0649

Observando os valores de probabilidade obtidos na Tabela 3, observa-se que somente a % Butanol, a relação molar H₂O/SDS e a massa de farinha (M.F.) tiveram efeito significativo sobre a extração de proteína a $p < 0,1$ pelo teste t.

3.2.2. Ajuste de modelos (Resultados dos DCCR)

Com as informações obtidas a partir do fatorial fracionado, utilizou-se duas vezes o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) com os fatores que tiveram efeitos significativos no processo de extração da proteína da FSJ para tentar otimizar os valores das variáveis significativas, relação molar H₂O/SDS, % Butanol e massa de farinha, no processo de extração. Os fatores que não tiveram efeito, a temperatura e tempo, foram fixos no DCCR em 25 °C e 120 minutos, respectivamente. Os resultados de extração nesse primeiro DCCR (Tabela 4) demonstram que ao fixar os outros fatores, o rendimento de extração diminui com o aumento da % Butanol utilizado no sistema micelar.

Percebe-se também que quando se fixa os outros fatores e aumenta a relação H₂O/SDS o rendimento de extração tende a aumentar. Ao manter a % Butanol e a relação H₂O/SDS, e aumentar a massa de farinha (MF), o rendimento de extração tende a diminuir.

Tabela 4. Dados do 1ª DCCR feito com os fatores que tiveram efeitos no fatorial fracionado.

Ensaio	%But	H ₂ O/SDS	MF	%But	H ₂ O/SDS	MF	% Extração
1	45,00	30,20	200	-1	-1	-1	63,92
2	80,00	30,20	200	1	-1	-1	37,61
3	45,00	46,70	200	-1	1	-1	81,65
4	80,00	46,70	200	1	1	-1	42,77
5	45,00	30,20	400	-1	-1	1	36,36
6	80,00	30,20	400	1	-1	1	38,64
7	45,00	46,70	400	-1	1	1	46,43
8	80,00	46,70	400	1	1	1	41,48
9	33,10	38,45	300	-1,68	0	0	46,78
10	91,90	38,45	300	1,68	0	0	14,07
11	62,50	24,59	300	0	-1,68	0	47,23
12	62,50	52,31	300	0	1,68	0	47,28
13	62,50	38,45	132	0	0	-1,68	20,30
14	62,50	38,45	468	0	0	1,68	25,17
15	62,50	38,45	300	0	0	0	23,17
16	62,50	38,45	300	0	0	0	24,08
17	62,50	38,45	300	0	0	0	24,06
18	62,50	38,45	300	0	0	0	25,39
19	62,50	38,45	300	0	0	0	24,78
20	62,50	38,45	300	0	0	0	23,80

Com base nessas informações, fez-se um novo DCCR (Tabela 5), diminuindo a % Butanol, aumentando a relação H₂O/SDS e diminuindo a MF, sempre buscando valores que ficassem próximos de rendimentos mais altos.

Os resultados obtidos experimentalmente do 2ª DCCR foram submetidos à Análise de Variância e Análise de Regressão Linear Múltipla, a fim de se verificar a influência dos fatores estudados sobre o rendimento de extração da proteína da farinha de semente de jaca por meio de micelas reversas.

A equação para a eficiência da extração da proteína da farinha (Y) encontrada foi:

$$Y = 54,9200 - 7,2124X_1 + 11,6281X_2 - 10,2147X_3 - 14,0861X_1^2 \quad (3)$$

Em que X₁ é a %Butanol, X₂ é a relação H₂O/SDS e X₃ a Massa de Farinha (MF).

Tabela 5. Dados do 2ª DCCR ajustando os parâmetros a valores que tiveram bons rendimentos de extração no 1ª DCCR.

Ensaio	%But	H ₂ O/SDS	MF	%But	H ₂ O/SDS	MF	% Extração
1	30,00	35,00	150	-1	-1	-1	32,05
2	60,00	35,00	150	1	-1	-1	35,75
3	30,00	45,00	150	-1	1	-1	47,91
4	60,00	45,00	150	1	1	-1	49,39
5	30,00	35,00	300	-1	-1	1	19,64
6	60,00	35,00	300	1	-1	1	29,18
7	30,00	45,00	300	-1	1	1	49,83
8	60,00	45,00	300	1	1	1	49,52
9	19,80	40,00	225	-1,68	0	0	29,19
10	70,20	40,00	225	1,68	0	0	3,76
11	45,00	31,60	225	0	-1,68	0	64,97
12	45,00	48,40	225	0	1,68	0	79,43
13	45,00	40,00	99	0	0	-1,68	54,72
14	45,00	40,00	351	0	0	1,68	21,41
15	45,00	40,00	225	0	0	0	71,63
16	45,00	40,00	225	0	0	0	32,04
17	45,00	40,00	225	0	0	0	33,07
18	45,00	40,00	225	0	0	0	32,46
19	45,00	40,00	225	0	0	0	32,01
20	45,00	40,00	225	0	0	0	50,26

A significância estatística da equação (3) foi verificada pelo teste F, e os resultados da análise de variância (ANOVA) encontram-se na Tabela 6. Pelo fato do valor F do modelo ser um valor de probabilidade baixa ($p=0,0035$), verifica-se que o modelo foi altamente significativo.

Tabela 6. ANOVA para o modelo de superfície de resposta ($CV= 36,48\%$ e $R^2=62,67\%$)

FV	GL	SQ	QM	F Cal.	$p<0,005$
Modelo	4	6879,838	1719,959	6,30	0,0035
Falta de Ajuste	10	2875,677	287,567	1,18	0,4552
Erro	15	4098,390	273,226		
Total	19	10078,000			

O teste para a falta de ajuste, associado com os erros dos pontos centrais, não foi significativo nesse caso ($p < 0,05$). A partir da análise de regressão realizada (Tabela 7), para os dados experimentais do 2ª DCCR, pode ser observado que de acordo com o teste t, para a significância dos parâmetros, os fatores relação molar e massa de farinha tiveram o efeito linear significativo no rendimento de extração da proteína FSJ, enquanto a % Butanol foi significativa no efeito quadrático. As estimativas das variáveis independentes e os correspondentes valores p sugeriram que mesmo X_1 (% Butanol) não tendo um efeito significativo sobre Y (R.E da proteína FSJ) seu termo quadrático teve efeito significativo sobre a resposta Y . Segundo

Gallego e colaboradores (2004), %Butanol é um fator fundamental na formação das micelas reversas, podendo influenciar a concentração de micelas no meio. O coeficiente positivo para X_2 revelou um efeito linear para aumentar a resposta Y , enquanto os coeficientes negativos para X_1 e X_3 mostraram um efeito linear de diminuição da resposta Y , o coeficiente X_{11} mostrou um o efeito quadrático de diminuição da resposta Y . Neste trabalho X_1 , X_2 , X_3 e X_{11} foram os fatores significativos do modelo.

Tabela 7. Significância dos coeficientes de regressão para a resposta (Y).

Termo do modelo	Estimativa	Erro padrão	Valor t	Valor p
X_0	54,9200	4,7284	11,61	<,0001
X_1	-7,2124	4,4748	-1,61	0,1278
X_2	11,6281	4,4748	2,60	0,0202
X_3	-10,2147	4,4748	-2,28	0,0375
X_{11}	-124,0861	4,3226	-3,26	0,0053

O resultado da ANOVA para o modelo completo pode ser visualizado em um gráfico de Pareto (Figura 1), em que os valores absolutos da amplitude e do efeito estimado padronizado (efeito da estimativa dividido pelo erro padrão) de cada fator foram plotados em ordem decrescente em comparação com um mínimo fator significativo com 95% de confiança ($p = 0,05$), representada pela linha vertical.

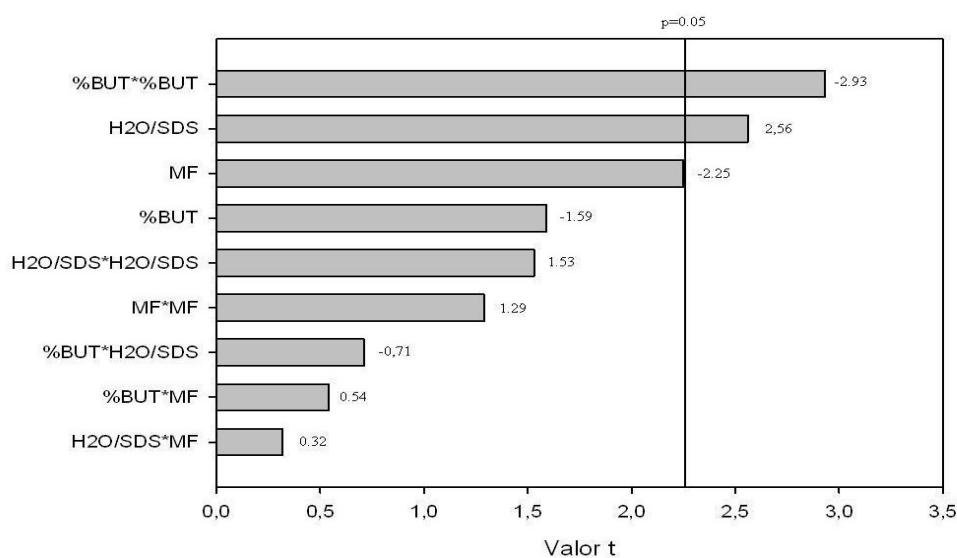


Figura 1: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis %Butanol (X_1), relação H_2O/SDS (X_2), e Massa de Farinha (X_3) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.

O gráfico de Pareto, sobre o rendimento de extração da proteína da FSJ (Figura 1), mostra que a relação quadrática da %Butanol teve maior efeito sobre o rendimento. Além disso, a relação molar H_2O/SDS e a Massa de Farinha (MF), sem suas interações, também têm um

importante efeito sobre o rendimento de extração, uma vez que esses fatores estão relacionados à quantidade de micelas reversas no meio e à quantidade de proteína dissolvida nas micelas reversas.

3.2.3. Efeito das variáveis independentes na variável resposta

Fazendo uso da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), as relações entre os fatores e a resposta podem mais bem compreendidas, ficando visível o comportamento de cada efeito no rendimento do processo de extração.

No gráfico de MSR da Figura 2, fixaram-se os valores de % Butanol, variando somente a relação H₂O/SDS e a Massa de Farinha, sendo observado que o aumento da quantidade de água no sistema micelar reverso avaliado leva a um aumento do rendimento de extração (R.E) da proteína da FSJ. O aumento da massa de farinha não melhora o rendimento da extração, não sendo necessário colocar uma quantidade muito grande de farinha para que o rendimento de extração seja elevado.

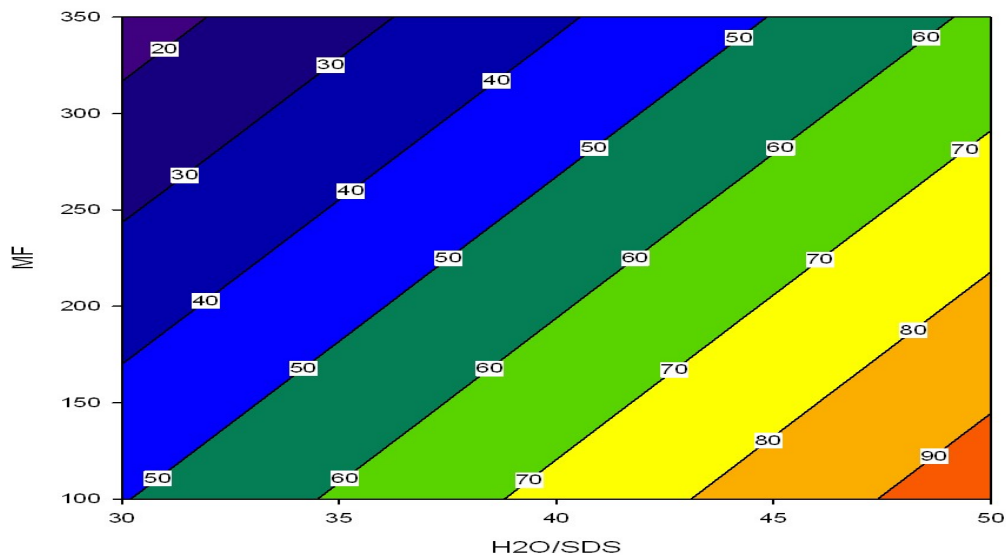


Figura 2: Gráfico de Superfície de Resposta para os efeitos da relação H₂O/SDS (X₂) e da MF (X₃) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.

A partir desse gráfico, percebe-se que o ótimo de extração, com a % Butanol fixa, tende a valores da relação H₂O/SDS por volta de 50, e que a MF, nas condições estudadas, pode estar por volta de 100 mg, para que se aproxime do ótimo de extração da proteína da FSJ. O aumento da extração de proteínas por micelas reversas com o aumento da relação H₂O/SDS a valores próximos de 50 ocorre devido à necessidade de se ter um equilíbrio entre a quantidade de água e de surfactante para a formação de micelas-reversas nesse tipo de sistema. Segundo Gallego e colaboradores (2004), a relação H₂O/SDS deve ser de cerca de 42.70, de acordo com esses

autores este valor foi encontrado por Jobe e colaboradores (1989) em estudos do diagrama de fases de sistemas micelares reversos composto por SDS, Butanol e água.

Para avaliar a influência dos fatores % Butanol (X_1) e MF (X_3) no rendimento de extração, foi feito um gráfico de Superfície de Resposta (Figura 3), fixando a relação H_2O/SDS . É possível assegurar através da análise do gráfico, que o rendimento de extração se aproxima do ótimo quando a % Butanol está em torno de 40,00 % para os sistemas estudados, e que em uma grande faixa de valores de % Butanol, de 20,00 a 60,00 %, o rendimento de extração varia de 70,00 a 95,00 % com o ponto ótimo de extração por volta de 40,00 % de Butanol. Com relação aos valores de MF, o ponto de ótimo RE está próximo de 100 mg de farinha. Vale salientar que de acordo com o gráfico anterior (Figura 2), o rendimento de extração diminui quando se aumenta muito a massa de farinha nas condições estudadas.

O Butanol atua no sistema micelar reverso estudado, como solvente orgânico, sendo assim, caso a % Butanol se encontre em valores acima do ótimo (40,00 %), as quantidades de surfactante e água presentes no sistema tendem a diminuir, conseqüentemente a quantidade de micelas reversas capazes de extrair as proteínas da FSJ também diminui, diminuindo o rendimento de extração.

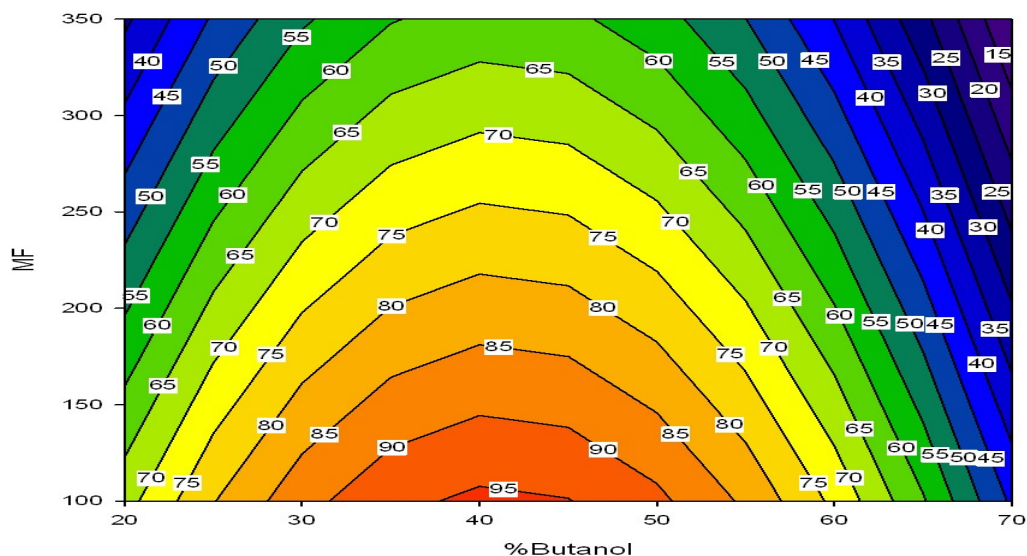


Figura 3: Gráfico de Superfície de Resposta para os efeitos da relação %Butanol (X_1) e da MF (X_3) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.

Para avaliar a influência da % Butanol e da relação H_2O/SDS foi fixado o valor de massa de farinha, no gráfico de superfície de resposta (Figura 3), observando-se que o rendimento ótimo de extração para a % Butanol continuou próximo de 40,00 %, como discutido anteriormente, e que para a relação de H_2O/SDS o ótimo ficou próximo de 50, confirmando os resultados obtidos no gráfico da Figura 1.

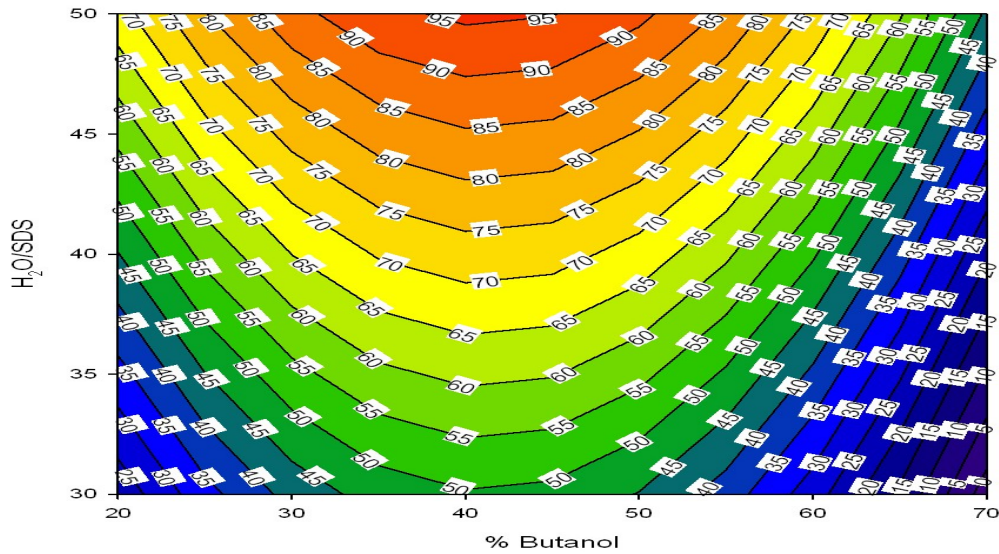


Figura 4: Gráfico de Superfície de Resposta para os efeitos da relação %Butanol (X_1) e da relação H_2O/SDS (X_3) sobre o rendimento de extração da proteína FSJ.

Com os dados dos gráficos de Superfície de Resposta, têm-se informações da tendência que evidencia a região do ótimo para os fatores MF e relação H_2O/SDS , como somente a % Butanol teve efeito quadrático, esse é o único fator para o qual se obtém o valor ótimo para o processo de extração da proteína FSJ, utilizando micelas reversas feitas a partir do sistema ternário contendo SDS, água e Butanol. O valor de ótimo para a % Butanol foi obtido pela derivada do modelo com os valores não codificados (Equação 4)

$$Y = -112,59738 + 5,15358X_1 + 2,32562X_2 - 0,13620X_3 - 0,06260X_1^2 \quad (4)$$

Derivando a Equação 4 em relação a X_1 , obtém-se a equação 5

$$\frac{dY}{dX_1} = 5,1536 - 0,1252X_1 \quad (5)$$

Fazendo $\frac{dY}{dX_1} = 0$ obtém-se o ótimo da equação, ou seja, a % Butanol em que o

rendimento de extração é máximo, sendo $X_1 = 41,16\%$.

Portanto, as melhores condições de extração da proteína da FSJ predita pela MSR são obtidas quando se utiliza 41,16 % de butanol, 100 mg de MF e a relação H_2O/SDS igual a 50.

4. CONCLUSÕES

Os resultados experimentais confirmaram a viabilidade da extração da proteína da farinha de semente de jaca utilizando sistemas micelares reversos constituídos por Butanol, SDS e água. Esse método de extração é considerado vantajoso do ponto de vista do rendimento de

extração que chegou a 79,00 %. Somente para % Butanol foi encontrado o valor que maximiza a extração, sendo que esse valor foi de 41,16%. Estudos adicionais devem ser realizados para saber se as proteínas extraídas podem ter suas propriedades alteradas pelos reagentes que fazem parte do sistema e se os custos envolvidos no processo de extração, utilizando este tipo de sistema micelar reverso, são viáveis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, B.A., HAYWOOD, K. **Effect of pH, ion type and ionic strength on partitioning of proteins in reverse micelles systems.** Journal of Chromatography A 668, 55–60, 1994.

GALLEGO, M. J. P., BRAVO-DIAZ, C., ROMERO, G. E. **Fluorimetric determination of structural parameters of BuOH/SDS/H₂O reverses micelles.** Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects. n. 249, p. 25-28, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos de análises de alimentos.** 3 ed. São Paulo-SP: Guanabara Dois, 1985.

JOBE, D.J., DUNFORD, H.B., PICKARD, M., HOLWARTH, J.F. **Reactions in compartmental liquids,** in: W. Knoche (Ed.), Springer Verlag, Helldelberg, Germany, 1989.

MATZKE, S.F., CREAGH, A.L., HAYNES, C.A., PRAUSNITZ, J.M., BLANCH, H.W. **Mechanisms of protein solubilization in reverse micelles.** Biotechnology and Bioengineering 40, 91–102, 1992.

NUNES, M.C.; BATISTA, P.; RAYMUNDO, A.; ALVES, M.M.; SOUSA, I. **Vegetable proteins and milk puddings.** Colloid Surface B., v.31, p.21-29, 2003.

SAS Institute Inc. Getting Started with the SAS[®] 9,1 **ADX Interface for Design of Experiments.** Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004.

SILVA, J. H. V; JORDÃO FILHO; RIBEIRO, M. L. G; SILVA, E. L; **Efeitos da inclusão do farelo de sementes de jaqueira Artocarpus heterophyllus Lam.) na ração sobre a produção, pigmentação da gema e umidade fecal em codornas.** Revista Ciênc. Agrotec., v.31, n.2, 2007.

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

CAPÍTULO 2 – ESTUDO CALORIMETRICO DA MICROEMULSÃO DE LECITINA DE SOJA EM ISOCTANO E BUTANOL.

RESUMO

No presente trabalho foi feita uma análise termodinâmica, na qual foi utilizado um microcalorímetro de titulação isotérmica para avaliar a variação da entalpia de mistura ($\Delta_{\text{mix}}H$) da água na microemulsão formada por lecitina de soja, isooctano e butanol. Estas energias foram utilizadas para a determinação das forças motrizes associadas à formação de micelas reversas. Foi observado que para a curva de titulação da água em isooctano puro e em isooctano com lecitina de soja, os valores encontrados para $\Delta_{\text{mix}}H$ foram de $-9,46 \times 10^{-3}$ kJ/mol e $-5,68 \times 10^{-3}$ kJ/mol respectivamente, evidenciando que a água não realiza interações intermoleculares com estes componentes. Com a titulação da água no sistema formado por lecitina de soja, isooctano e butanol, foi observado comportamento termodinâmico exotérmico com valores de $\Delta_{\text{mix}}H$ variando de $+2,17$ kJ/mol a $-1,63 \times 10^{-2}$ kJ/mol, associado ao processo de dissolução da água, devido ao fato de estarem formando micelas reversas no sistema avaliado. A diferença no comportamento entre as curvas, de variação de entalpia de mistura da água, formadas pelos sistemas contendo butanol e lecitina de soja, butanol puro e isooctano com butanol, com o comportamento da curva do sistema contendo lecitina de soja, isooctano e butanol, demonstra claramente que nesse último sistema ocorreu a formação de agregados (micelas reversas). Por fim verificou-se também que a lecitina de soja não sofreu nenhum processo de degradação, visto que a energia envolvida no processo de titulação da água nos sistemas contendo a mesma foi considerada baixa, podendo ser utilizada sem problemas nesse tipo de sistema.

Palavras chave: microemulsão; lecitina de soja; entalpia de mistura; micelas reversas.

ABSTRACT

In this work, a thermodynamic analysis was carried out using an isothermal titration calorimeter to measure the change in enthalpy of mixing ($\Delta_{\text{mix}}H$) water in the microemulsion composed by soybean lecithin, butanol and isooctane. Such energy measurements were used on the determination of the driving forces related to the generation of reverse micelles. The $\Delta_{\text{mix}}H$ values found for the titration curves of water in pure isooctane and water in isooctane with lecithin were $-9,46 \times 10^{-3}$ kJ/mol e $-5,68 \times 10^{-3}$ kJ/mol, respectively, denoting that water do not perform intermolecular interactions with the components. The titling of water in the system composed by soy lecithin, butanol and isooctane presented an exothermic thermodynamic behavior, which $\Delta_{\text{mix}}H$ values ranging from $+2,17$ kJ/mol to $-1,63 \times 10^{-2}$ kJ/mol, related to the dissolution of water, due to the generation of reverse micelles in the system. The difference in behavior between the curves of change of enthalpy of mixing of water formed by the systems

containing butanol and soy lecithin, pure butanol and isooctane with butanol, the yield curve of the system containing soy lecithin, butanol and isooctane, clearly shows that this latter system was the formation of aggregates (reversed micelles). Finally, it was verified that soy lecithin did not suffer any degradation process, since the energy involved in the process of titling water in the systems containing such component was considered low, thus it may be used in this type of system without any problems.

Keywords: microemulsion; soy lecithin, enthalpy; reverse micelles.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, as microemulsões têm sido objeto de muitos estudos, principalmente devido a suas potenciais aplicações em diversos campos, como na preparação de nanopartículas com propriedades catalíticas e eletrocatalíticas, a separação de substâncias solúveis em água e lipídios, vitaminas lipossolúveis e outros compostos lipídicos por cromatografia eletrocinética ou cromatografia líquida, recuperação aprimorada de petróleo, extração líquido-líquido, remoção de contaminantes de superfícies sólidas ou capilares do tecido para as indústrias farmacêuticas e cosméticas (HELLWEG, 2002). O interesse crescente em microemulsões para cosméticos e aplicações farmacêuticas está ligado às suas propriedades físicas, tais como estabilidade termodinâmica, a formação espontânea, aparência clara, baixa viscosidade e alta capacidade de solubilização (SCHMIDTS et al. 2009; MALMSTEN, 2002).

As microemulsões são compostas de água, óleo e surfactante e, algumas vezes, de um álcool como co-surfactante. Estes sistemas tem sido alvo de numerosos estudos durante as últimas décadas, principalmente devido ao seu elevado poder dissolvente (PATEL et al., 2006; GULÓN et al., 2003)

O uso do álcool como co-solvente na preparação de microemulsões tem uma longa história. O álcool é adicionado a surfactantes iônicos para compensar o efeito salting-out, o qual consiste na redução da interação de proteínas com a água, ocasionada pela solvatação dos íons presentes em soluções salinas. Esse efeito é evidenciado por uma leve turvação da solução. No caso de surfactantes não-iônico, o papel do álcool é tipicamente equilibrar a interação desse surfactante com a água e o solvente orgânico, diminuindo assim a tensão interfacial entre a fase óleo e a fase de água, a qual é muitas vezes elevada pelos surfactantes comerciais (GRADZIELSKI, 1998). O álcool pode modificar a curvatura espontânea da película surfactante quando a sua penetração na interface é suficientemente importante para aumentar a flexibilidade da interface (álcool como co-tensoativo), ou ele pode mudar a polaridade das fases polares e apolares (álcool como co-solvente) (SHEVACHMAN et al., 2004).

A Lecitina (fosfatidilcolina) é um fosfolípido natural que faz parte da composição da maioria dos organismos, mais de 50 % da matriz lipídica das membranas biológicas. O comportamento da lecitina em água e solventes orgânicos é de grande interesse por várias razões. Desde que a lecitina é vista como uma substância totalmente biocompatível, que ela é amplamente utilizada na vida diária como surfactante, misturas de lecitina, água e óleos são utilizadas na alimentação humana e animal, em medicamentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (ANGELICO et al., 2004).

São encontrados muitos estudos de microemulsões de Lecitina de Soja. Angelico e colaboradores têm feito inúmeros estudos utilizando microemulsões de lecitina de soja em diferentes solventes orgânicos, como isooctano, decano, ciclohexano entre outros, avaliando principalmente o comportamento de fase desses sistemas (ANGELICO et al., 1998, 1999, 2000, 2002, 2004). A investigação do comportamento de fases de microemulsões de lecitina de soja em triacilglicerol e água, em diferentes tipos de álcool, foi feita por Leser e colaboradores (1996), observando que o álcool atua como co-solvente na formação de micelas reversas nos sistemas avaliados. Caboi e colaboradores (2005) avaliaram o uso do Butanol em sistemas compostos por lecitina, água e óleo tripalmitico, observando que a presença do butanol promove a formação de uma vasta fase líquida isotrópica no diagrama de fases desse sistema, demonstrando que o butanol ajudou estabilizar esse sistema atuando como co-surfactante na formação de micelas reversas.

Apesar da lecitina de soja ser amplamente utilizada para estabilização de misturas de água e óleos comestíveis, na formulação de medicamentos e de cosméticos (CORSWANT et al., 1998), na extração de biomoléculas por meio de micelas reversas (HASMANN et al., 2007), o estudo termodinâmico calorimétrico de sistemas contendo lecitina de soja, água, solvente orgânico (isooctano) e álcool (butanol) não foi realizado, com o intuito de avaliar a energia de reação envolvida no processo de formação de micelas desse tipo de sistema. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi determinar a quantidade de energia envolvida no processo de formação de micelas da lecitina de soja em isooctano e butanol, utilizando a titulação microcalorimétrica isotérmica (ITC).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

A lecitina de soja foi adquirida da Cargill do Brasil (São Paulo – Brasil), com 85 % de pureza (fosfatidil colina). Os solventes isooctano e o butanol foram adquiridos da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro – Brasil). Todos os reagentes utilizados possuíam grau analítico.

2.2. Medidas de Titulação Turbidimétrica

Adicionou-se 1 mL de uma solução contendo Lecitina de Soja, isooctano e butanol em um tubo de 4 mL que foi termostatizado a uma temperatura de 25 °C. As concentrações de Lecitina de Soja foram variadas de 1,00 a 20,00 % (m/m), as concentrações dos solventes foram fixadas um em relação ao outro em 75,00% (m/m) de isooctano e 25,00% (m/m) para o butanol. A esta solução foram adicionadas continuamente alíquotas de 2 µL de água destilada até o surgimento de turvação 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 havia o surgimento das duas fases era anotada. Este procedimento foi repetido em cada tubo que possuía o sistema com a concentração de lecitina de soja em isooctano e butanol sendo aumentada, totalizando no final do experimento 20 tubos. Com os valores da quantidade de água solubilizada em cada sistema foi possível obter uma curva de solubilidade da água nas soluções contendo lecitina de soja (1,00 a 20,00 % m/m), em isooctano e butanol.

2.3. Estudo microcalorimétrico do sistema

As medidas de variação de entalpia de mistura, $\Delta_{\text{mix}}H$, foram realizadas utilizando um Microcalorímetro de Titulação Isotérmica da marca CRC (EUA, modelo ITC 4200). O microcalorímetro é composto por um par de células com capacidade aproximada de 1.8 mL de solução, na qual uma delas, a célula de reação, foi utilizada para colocar a amostra a ser titulada e a outra célula para colocar amostra utilizada como referência. Ao redor dessas células existe um sistema de termopilhas que são sensíveis a pequenos fluxos de energia na forma de calor. Uma seringa foi utilizada para adicionar 1µL de água com intervalo de tempo de 3600 segundos a célula de reação. Ao mesmo tempo em que a solução foi agitada a 300 rpm a uma temperatura de 25 °C. O experimento foi dividido em 6 ciclos termodinâmicos, com a relação de moléculas entre os componentes sempre igual ao primeiro ciclo: no 1ª ciclo foi utilizado um sistema de lecitina de soja (5,00 % m/m) em isooctano (70,00 % m/m) e butanol (25,00 % m/m), no 2ª ciclo foi utilizado lecitina de soja + Isooctano, já no 3ª ciclo a célula de reação foi preenchida com lecitina + butanol, no 4ª ciclo o sistema utilizado era composto por isooctano +butanol, no 5ª ciclo a célula de reação foi preenchida com isooctano puro, por fim no último ciclo foi utilizado butanol puro para ser titulado com água.

Cada medida de fluxo de energia gera um pico que representa a variação de energia associado à injeção de um pequeno volume de água no sistema analisado (Figura 1). À medida que o sistema analisado vai atingindo a saturação, o sinal de energia liberada vai diminuindo até atingir a saturação completa. Integrando a área de cada pico (energia liberada ao longo de um

intervalo de tempo) obtém-se a medida do ΔH (em unidade de joules por mol de água) proveniente reação da água com os componentes de cada sistema avaliado.

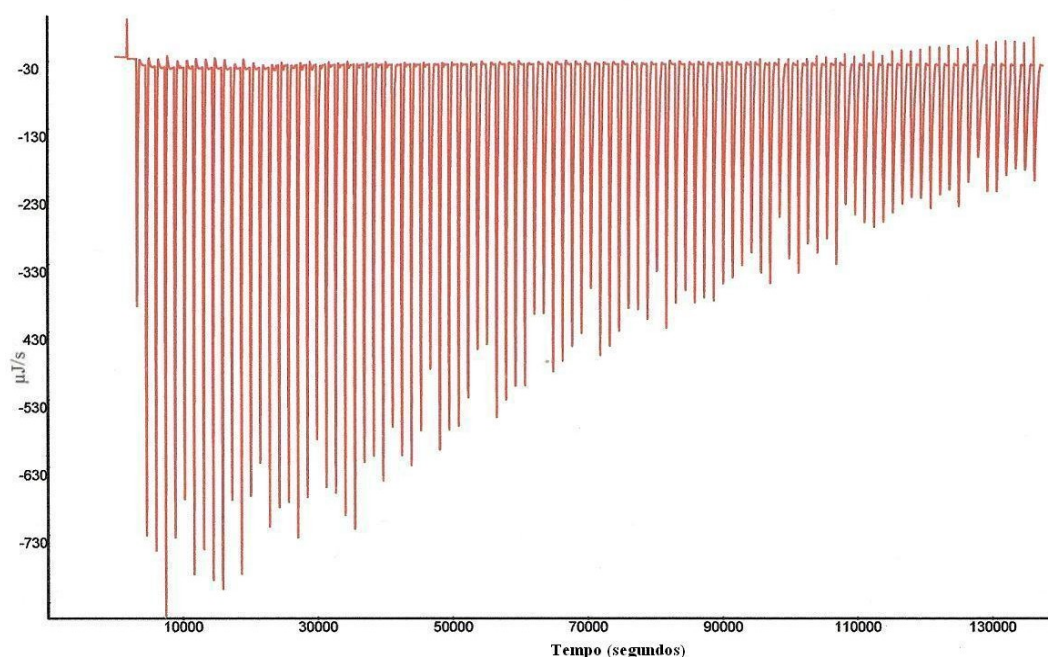


Figura 1: Deflexões que correspondem à variação de potência ao se fazer injeções consecutivas de água em Isooctano/Lecitina de Soja/Butanol.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Diagrama de solubilidade da água no sistema ternário composto por lecitina de soja/isooctano/butanol

A adição de água em isooctano puro ou isooctano com lecitina de soja produz um sistema bifásico no qual, mesmo pequenas quantidades de água ($1\mu\text{L}$) separam-se do solvente orgânico, independentemente da presença da lecitina de soja. Entretanto, com a presença do butanol ocorre o aumento da miscibilidade da água nesse sistema ternário. Os resultados das medidas de solubilidade de água no sistema formado por isooctano 70,00 % (m/m)/butanol 25,00 % (m/m) com diferentes concentrações de lecitina de soja são apresentados na Figura 2.

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 lecitina/isooctano/butanol. Assim, esse diagrama de solubilidade contém importantes informações, indicando a região limite para se trabalhar com sistemas macroscopicamente homogêneos. Dessa forma, para uma dada concentração de lecitina de soja, isooctano e butanol, ele fornece a máxima quantidade de água que tal concentração consegue solubilizar.

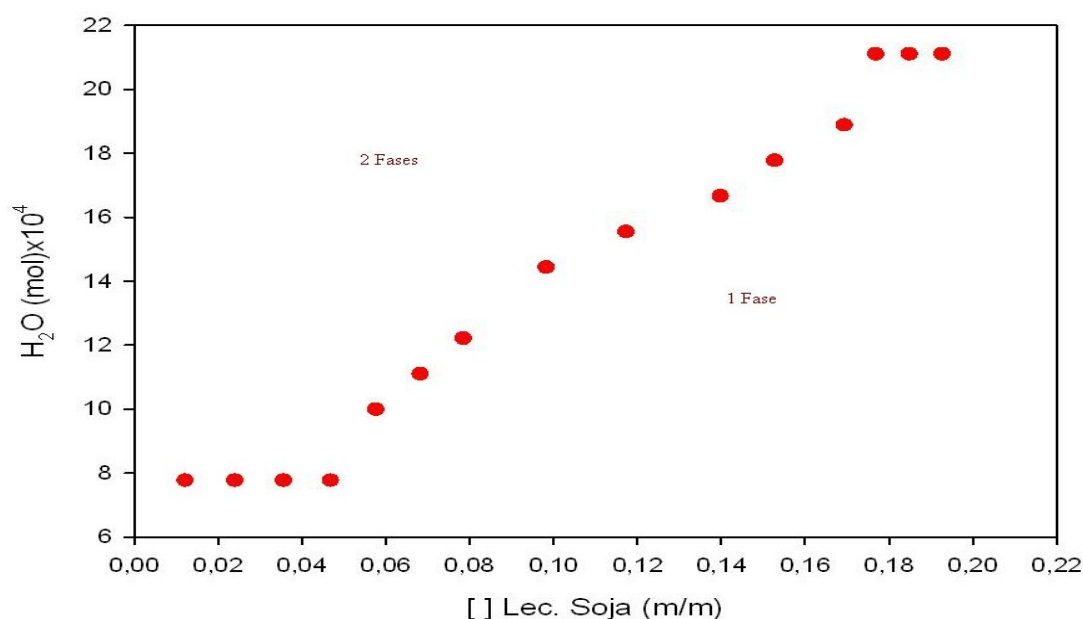


Figura 2: Diagrama de solubilidade da água no sistema ternário Lecitina/Isooctano/Butanol a 25 °C.

Inicialmente, na região compreendida entre 1,00 à 5,00 % de lecitina, a quantidade de água incorporada é constante e igual à $7,70 \times 10^{-4}$ mol de H₂O por ml de sistema ternário. Essa incorporação inicial de água se deve à presença do butanol que interage com as moléculas de água via ligações de hidrogênio. Para confirmar essa hipótese, moléculas de água foram adicionadas a um sistema binário formado por butanol e isooctano que foi capaz de incorporar $7,70 \times 10^{-4}$ mol de H₂O por ml de solução.

A partir da concentração de 0,05 m/m de lecitina de soja, ocorre um aumento na solubilidade da água no sistema lecitina/isooctano/butanol, que prossegue até a concentração de 0,17 m/m de lecitina de soja. Esse aumento na miscibilidade de água é um indicativo da ocorrência de um processo termodinâmico cooperativo que ocorre nessa faixa de concentração de lecitina. Baseando-se em resultados da literatura para sistemas ternários semelhantes: lecitina/água/isooctano e lecitina/água/decano (ANGELICO et al., 2004), lecitina/água/ciclohexano (ANGELICO et al., 2000), lecitina/água/butanol e lecitina/água/propanol (KAHLWEI et al., 1995), lecitina/água/butanol/óleo tripalmitico (CABOI et al., 2005), lecitina/água/butanol/triacilglicerol (LESER et al., 1996), este novo processo termodinâmico pode está associado a um processo de autoagregação das moléculas de lecitina e butanol formando micelas reversas nas quais o butanol desempenha um papel de co-surfactante, estabilizando assim as nanoestruturas formadas.

A concentração na qual ocorre o aumento abrupto da solubilidade da água no sistema ternário é denominada de concentração micelar crítica (CMC), que indicaria a faixa de concentração, na qual o processo de formação de um agregado formado por moléculas de água em seu interior inicia-se, cercadas por moléculas de butanol e lecitina orientadas com suas regiões hidrofílicas voltadas para o interior do agregado e suas regiões hidrofóbicas orientadas para o solvente isooctano.

O processo de autoagregação das moléculas presentes no sistema ternário ocorre para a minimização da energia livre de Gibbs do sistema. Este parâmetro termodinâmico é formado por uma componente configuracional que caracteriza a probabilidade da distribuição espacial das moléculas no sistema, denominada entropia. A outra componente, denominada entalpia, expressa as interações intermoleculares presentes nos diferentes microambientes. Objetivando medir as contribuições entálpicas para o processo de formação das micelas reversas, foram realizadas medidas de variação de entalpias de mistura associadas à adição de água ao sistema ternário lecitina/isooctano/butanol.

3.2. Medidas de Entalpia de Mistura

Com o intuito de analisar a contribuição entálpica para a termodinâmica de mistura da H₂O no sistema ternário isooctano-butanol-lecitina de soja, foram realizadas medidas de ITC que consistiram em adicionar, consecutivamente, pequenas quantidades de água (1 µL) nos seguintes sistemas: i) ternário formado por lecitina/isooctano/butanol; ii) butanol/lecitina de soja; iii) isooctano-butanol; iv) isooctano puro e v) butanol puro. O sistema contendo isooctano+butanol+lecitina de Soja foi composto por 5,00 % (m/m) de concentração de lecitina de soja, 25,00 % (m/m) de butanol e 70,00 % (m/m) de isooctano. Para cada solução estudada, a relação molar entre os componentes foi mantida constante.

A Figura 3 apresenta a variação da entalpia de mistura da água no sistema ternário formado por isooctano+butanol+lecitina de soja. A entalpia de mistura da água neste sistema ternário é um processo endotérmico que absorve +2,17 kJ/mol quando 1 µL de água é adicionado a 1,8 ml da mistura isooctano/butanol/lecitina. Com um aumento da quantidade de água adicionada, a energia absorvida torna-se cada vez menor, mostrando assim a ocorrência de um comportamento termodinâmico exotérmico associado ao processo de dissolução da água neste sistema ternário. Após a adição de 22µL de água a entalpia de mistura aproxima-se de 0,00 kJ/mol.

Experimentos de titulação turbidimétrica mostraram que após 22 µL o sistema água/isooctano/butanol/lecitina torna-se bifásico. A análise desses dois resultados mostrou que o

processo termodinâmico de separação de fases não é o responsável pela variação da entalpia de mistura do sistema observada para as quantidades de água adicionadas inferiores a 22 μL . Desta forma, podemos atribuir a variação da entalpia de mistura da água com a quantidade de água adicionada à formação de micela reversa descrita anteriormente.

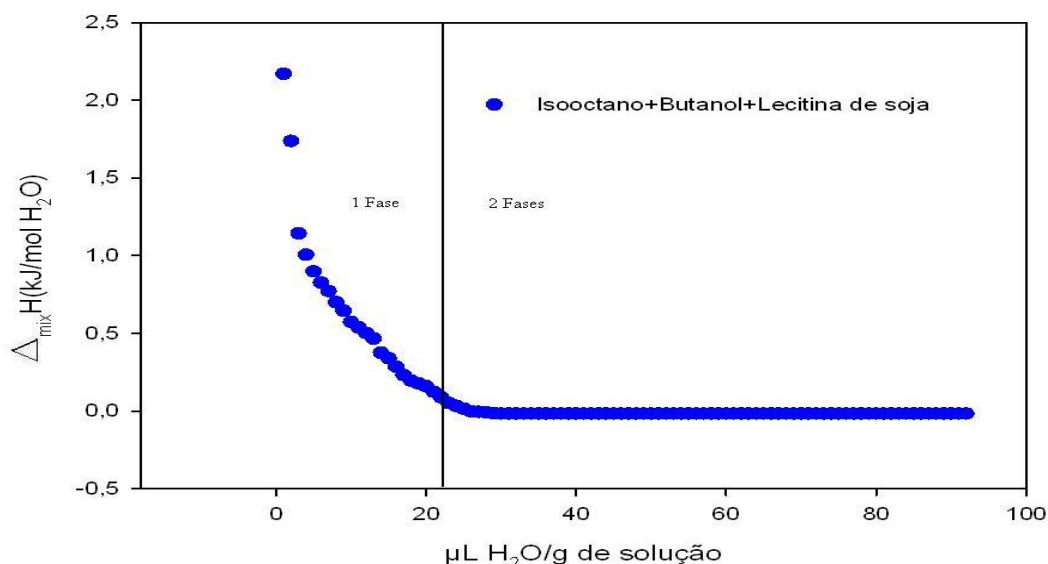


Figura 3: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja.

Essas micelas reversas ocorrem com liberação de energia inferior a $-2,00$ kJ/mol, indicando assim uma contribuição entálpica para a agregação das moléculas de lecitina, butanol e água. Esse pequeno valor de energia mostra a inexistência de processos de formação e quebra de ligações químicas, descartando assim qualquer chance da ocorrência de decomposição das moléculas de lecitina no sistema avaliado. Os valores de $\Delta_{\text{mix}}H$ medidos no sistema ternário envolvem a quebra e a formação das seguintes interações intermoleculares: Quebra- $\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$, butanol-butanol, isooctano-isooctano, lecitina-lecitina. Formação- $\text{H}_2\text{O}-\text{butanol}$, $\text{H}_2\text{O}-\text{lecitina}$, butanol-lecitina; lecitina-isooctano e butanol-isooctano. Objetivando discriminar a contribuição de cada uma dessas interações para os valores de $\Delta_{\text{mix}}H$ medidos, foram realizados experimentos de mistura de água em sistemas contendo diferentes combinações dos componentes presentes no sistema ternário.

A Figura 4 mostra a variação da entalpia de mistura da água nos seguintes sistemas: i) isooctano+butanol+lecitina de soja; ii) isooctano+lecitina, iii) isooctano.

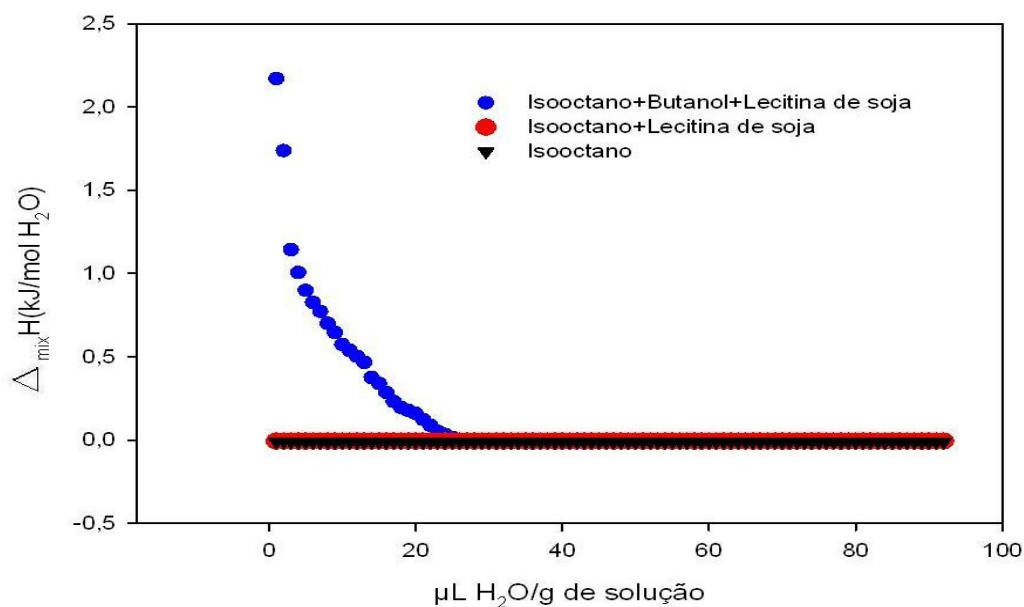


Figura 4: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja, Isooctano+Lecitina de soja e Isooctano puro.

Ao titular água em isooctano puro (curva preta), observou-se que praticamente não ocorreu variação do $\Delta_{\text{mix}}H$, ficando esses valores próximos a $-9,46 \times 10^{-3}$ kJ/mol H₂O. Experimentos de titulação turbidimétrica mostraram que mesmo a adição de 1 μL de água promove a formação de um sistema bifásico no qual uma das fases é rica em água e a outra rica em isooctano. Os resultados calorimétricos associados aos turbidimétricos comprovam que a interação das moléculas de água com as moléculas de isooctano são desfavoráveis termodinamicamente, levando a processos de separação de fases que liberam quantidades muito pequenas ($\cong 9,38 \times 10^{-3}$ kJ/mol) de energia. Dessa forma, pode-se concluir que as interações isooctano-isooctano e isooctano-H₂O não contribuem para o processo de formação das micelas reversas. Os mesmos resultados foram obtidos quando a água foi titulada no sistema isooctano+lecitina de soja (curva vermelha), ficando claro que é necessária a presença de um co-surfactante, o butanol, no sistema para promover o processo de agregação das moléculas de butanol e lecitina de soja formando micelas reversas.

Na Figura 5 é apresentada a variação da entalpia de mistura da água nos sistemas formados por: i) isooctano+butanol+lecitina de soja; ii) butanol+lecitina; iii) butanol. Após titular água em butanol puro (curva roxa), observou-se que ocorreu uma variação do $\Delta_{\text{mix}}H$, dentro do intervalo de +2,21 kJ/mol H₂O a +1,12 kJ/mol H₂O. Esta variação de entalpia está associada ao rompimento das interações intermoleculares H₂O-H₂O e butanol-butanol e à formação da interação H₂O-butanol.

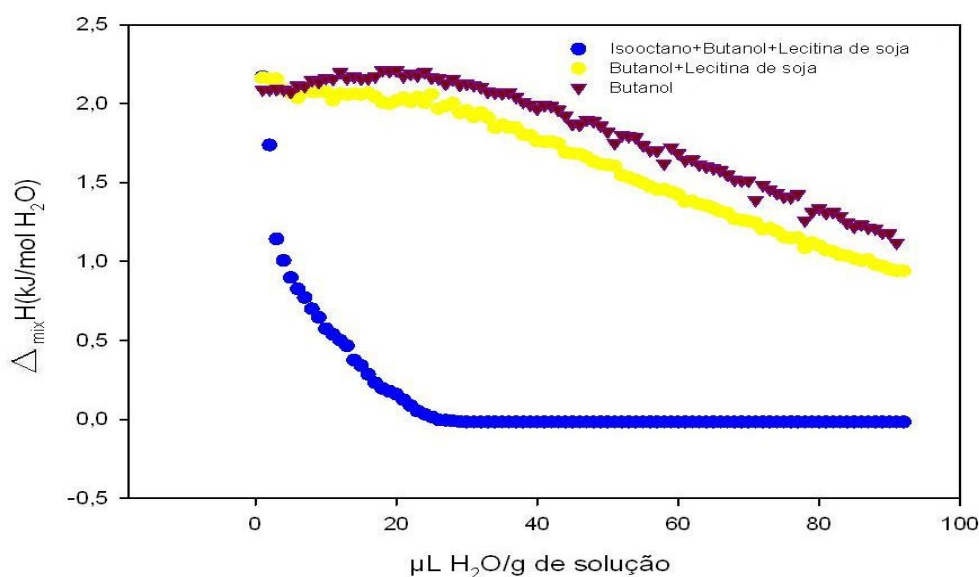


Figura 5: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja, Butanol+Lecitina de soja e Butanol puro.

O fato dessas entalpias serem positivas resulta da liberação da energia na formação das interações ser menor do que a energia absorvida no rompimento das mesmas. Isso nos leva a conclusão de que a interação H₂O-butanol é menos intensa do que H₂O-H₂O. Após a adição de 70 μL de H₂O em 1,8 ml de butanol, ocorreu o processo de separação de fase, não sendo observada nenhuma variação abrupta na curva de $\Delta_{\text{mix}} H \times \text{Vol. H}_2\text{O}$ para este ponto crítico. Os resultados calorimétricos associados aos turbidimétricos comprovam que a interação das moléculas de água com as moléculas de butanol são favoráveis termodinamicamente, ocorrendo interação das moléculas de água com as moléculas de butanol por meio de ligações de hidrogênio. Resultados parecidos foram obtidos quando a água foi titulada no sistema butanol+lecitina de soja ($\Delta_{\text{mix}} H$, variando de +2,16 kJ/mol H₂O a +0,94 kJ/mol H₂O), ficando claro que a presença de lecitina de soja no sistema, não provocou interações intermoleculares muito diferentes das ocorridas entre butanol-H₂O. Sendo assim, pode-se dizer que para esse tipo de sistema as interações água-butanol predominam para a espontaneidade termodinâmica, sendo pouca a contribuição da interação água-lecitina de soja para a mistura espontânea da água nesse sistema binário. Entretanto pode-se verificar na Figura 5, que a presença dos três componentes (lecitina de soja/isooctano/butanol) permitiu a ocorrência de um processo termodinâmico diferente daquele presente na mistura binária e no butanol puro. Este novo processo pode ser atribuído à formação das micelas reversas, contendo um interior rico em moléculas de água, cercado por moléculas de lecitina e butanol, solvatadas por moléculas de isooctano. Fica evidente com esses dados que o processo de formação das micelas é exotérmico, sendo assim pode ser determinado também entalpicamente.

A Figura 6 mostra a variação da entalpia de mistura da água nos sistemas formados por: i) isooctano+butanol+lecitina de soja; ii) isooctano+butanol.

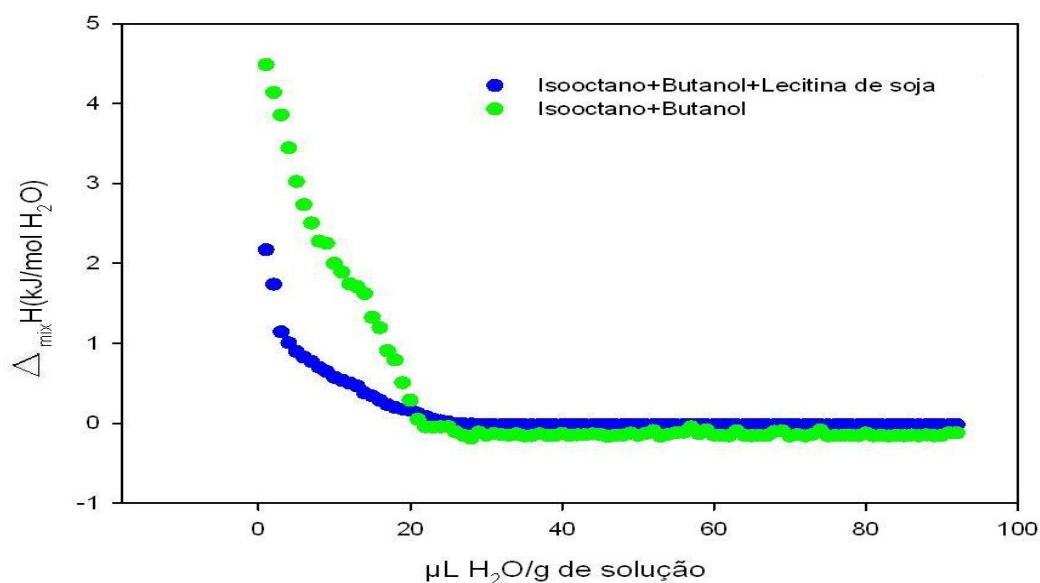


Figura 6: Variação da entalpia de mistura com a titulação da água em Isooctano+Butanol+Lecitina de soja e Isooctano+Butanol.

Por fim, foi feita a titulação de água no sistema composto por isooctano+butanol (curva verde). Nesse sistema o valor da $\Delta_{\text{mix}}H$ da água variou de 4,80 kJ/mol H₂O à $-1,20 \times 10^{-1}$ kJ/mol H₂O, sendo observado que nos primeiros 22 μL de água adicionados a esse sistema ocorre uma brusca variação da entalpia de mistura, que se torna cada vez menos endotérmica, demonstrando a ocorrência de um processo termodinâmico exotérmico, à medida que se aumenta a concentração de água no sistema em questão. A partir de 22 μL de água adicionada ao sistema, começa a ocorrer o processo de mudança de fases, visto que a variação de energia de mistura de água passa a ser praticamente nula. Essa última curva não se assemelha com a curva de titulação do butanol, pelo fato das moléculas de isooctano estarem interferindo na interação das moléculas de água com as moléculas de butanol, podendo estar ocorrendo algum tipo de organização das moléculas de butanol com moléculas de água que leve a um considerável gasto de energia de mistura.

A diferença de comportamento entre as curvas do sistema contendo isooctano+butanol+lecitina de soja (curva azul) e a do sistema contendo isooctano+butanol (curva verde), como já apontado anteriormente, indica que, com a adição de água no sistema ternário, passa a ocorrer um tipo de organização das moléculas de todos os componentes do sistema, nesse caso micelas-reversas, formadas pelas moléculas da lecitina que agem como

surfactante, moléculas do butanol que agem como co-surfactante, moléculas de água que ficam no interior das micelas e pelo isooctano que tem a função de solvente orgânico. Caso a formação de micelas-reversas não estivesse ocorrendo, o comportamento termodinâmico da curva de titulação de água no sistema ternário seria igual à curva do sistema contendo isooctano+butanol, ou igual à curva do sistema contendo butanol+lecitina de soja.

O estudo demonstrou que a lecitina de soja pode ser utilizada como surfactante em microemulsões constituídas por isooctano, butanol e água, uma vez que a energia envolvida do processo de formação desse tipo de microemulsão é considerada baixa, não variando a valores muito superiores a 2,00 kJ/mol H₂O, indicando que não está ocorrendo nenhum processo de deterioração da lecitina de soja, como oxidação, por exemplo, sendo esse o maior problema envolvendo sistemas contendo lecitina de soja.

4. CONCLUSÃO

As análises de titulação turbidimétrica e calorimétrica demonstraram comportamento da microemulsão composta por isooctano-butanol-lecitina de soja e água, indicando que as moléculas de água interagem com as moléculas de butanol e com as moléculas de lecitina de soja para formar agregados, nesse caso micelas reversas. Além disso, o estudo verificou que a lecitina de soja não está sofrendo nenhuma modificação em sua estrutura, como oxidação, por exemplo, visto que a energia envolvida no processo de formação das micelas é considerada inferior àquelas observadas em processos envolvendo quebra e formação de ligações químicas. Sendo assim, pode-se inferir que a lecitina de soja pode ser utilizada em sistemas constituídos por isooctano-butanol e água.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELICO, R., PALAZZO, G., COLAFEMMINA, G., CIRKEL, P.A., GIUSTINI, M., CEGLIE, A. **Water diffusion and headgroup mobility in polymer-like reverse micelles: evidence of a sphere-to-rod-to-sphere transition.** J. Phys. Chem. B vol. 102, pp. 2883–2889, 1998.

ANGELICO, R., BALINOV, B., CEGLIE, A., OLSSON, U., PALAZZO, G., SÖDERMAN, O. **Water diffusion in polymer-like reverse micelles. 2. composition dependence.** Langmuir vol. 15, pp. 1679–1684, 1999.

ANGELICO, R., AMBROSONE, L., CEGLIE, A., PALAZZO, G., MORTENSEN, K., OLSSON, U. **Structure and dynamics of polymer-like reverse micelles.** Prog. Colloid Polym. Sci. vol. 116, pp. 37–41, 2000.

ANGELICO, R., OLSSON, U., MORTENSEN, K., AMBROSONE, L., PALAZZO, G., CEGLIE, A. **Relaxation of shear-aligned wormlike micelles.** J. Phys. Chem. B, vol. 106, pp. 2426–2428, 2002.

- ANGELICO, R., CEGLIE, A., COLAFEMMINA, G., DELFINE, F., OLSSON, U., PALAZZO, G. **Phase behavior of the lecithin/water/isooctane and lecithin/water/decane systems.** *Langmuir*, vol. 20, pp. 619–631, 2004.
- CABOI, F., LAZZARI, P., PANI, L., MONDUZZI, M. **Effect of 1-butanol on the microstructure of lecithin/water/tripalmitin system.** *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 135, pp. 147–156, 2005.
- CORSWANT, V. C., THORÉN, P., ENGSTRÖM, S. **Triglyceridebased microemulsion for intravenous administration of sparingly soluble substances.** *J. Pharm. Sci.*, vol. 87, pp.200–208, 1998.
- HASMANN, F. A., GURPILHARES, D.B., Roberto, I. C., PESSOA, A. J. **Response surface methodology for the evaluation of glucose-6-phosphate dehydrogenase enrichment process by soybean lecithin reversed micelles.** *Journal of Chromatography B*, vol. 847, pp. 262–266, 2007.
- HELLWEG, T. **Phase structures of microemulsions,** *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. vol. 7, pp. 50-56, 2002.
- GRADZIELSKI, M., **Effect of the Cosurfactant Structure on the Bending Elasticity in Nonionic Oil-in-Water Microemulsions,** *Langmuir* 14: 6037–6044, 1998.
- GULLÓN J. S., Rodes A., Montiel V., Aldaz A., Clavilier J. **Electrochemical characterisation of platinum - palladium nanoparticles prepared in a water-in-oil microemulsion,** *Journal of Electroanalytical Chemistry*. pp. 273- 284, 554-555, 2003.
- LESER, M. E., EVERT, W. C. V., AGTEROF, W. G. M. **Phase behaviour of lecithin-water-alcohol-triacylglycerol mixtures.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 116, pp. 293 308, 1996.
- KAHLWEIT, M., BUSSE, G., FAULHABER, B. **Preparing Microemulsions with Lecithins.** *Langmuir*, vol. 11, pp. 1576-1583, 1995.
- MALMSTEN, M., **Microemulsions, in Surfactants and Polymers in Drug Delivery,** *Drugs and Pharmaceutical Sciences*, edited by J. Swarbrick, Marcel Dekker, New York, vol. 122, pp. 133–159, 2002.
- PATEL N., SCHMID U., LAWRENCE M. J. **Phospholipid-Based Microemulsions Suitable for Use in Foods,** *J. Agric. Food Chem*, vol 54, pp. 7817-7824, 2006.
- SCHMIDTS T., NOCKER P., LAVI G., KUHLMANN J., CZERMAK P., RUNKEL F. **Development of an alternative, time and cost saving method of creating pseudoternary diagrams using the example of a microemulsion,** *Colloids and Surfaces A*. vol. 340, pp. 187 – 192, 2009.
- SHEVACHMAN, M.; SHANI, A.; GARTI, N. **Formation and Investigation of Microemulsions Based on Jojoba Oil and Nonionic Surfactants,** *JAOCS*, vol. 81, pp. 1143-1153, n. 12, 2004.

CONCLUSÃO GERAL

Levando em consideração tudo que foi exposto e discutido, conclui-se que sistemas micelares reversos formados por dodecil sulfato de sódio (SDS), butanol e água, nas condições estudadas, podem ser utilizados para extrair proteínas de fontes alternativas como a farinha da semente de jaca, e que mais estudos devem ser feitos para avaliar se a utilização dessa metodologia em escala industrial e a viabilidade financeira.

Pôde-se concluir também que a lecitina de soja pode ser utilizada em sistemas contendo isooctano, butanol e água sem que ocorra deterioração da mesma. Observou-se que não é possível formar micelas reversas em sistemas contendo lecitina de soja, isooctano e água sem a presença de um co-surfactante, nesse caso um álcool.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.