

MAXSUELEN RODRIGUES SOARES

Obtenção e caracterização de adutos ácidos graxos-meglumina

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Química – Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química Analítica pelo Programa de Pós Graduação em Química.

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro

Araraquara

2015

## **DADOS CURRICULARES**

### **MAXSUELEN RODRIGUES SOARES**

#### **1. Dados Pessoais**

Nascimento: 18 de agosto de 1986

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Teresina - PI

Filiação: Raimundo Soares da Cruz

Maria Rodrigues Soares

Estado civil: Solteiro

Profissão: Química

Documento de Identidade: 2303246 SSP/PI

Cadastro de Pessoa Física: 02000710336

Endereço: Avenida Sorocaba, nº60 – Bairro Quitandinha

CEP: 14800-050

E-mail: maxsuelen.rs@gmail.com

#### **2. Formação Acadêmica/Titulação**

##### **2.1. Graduação**

Bacharel em Química com atribuições tecnológicas – Universidade Federal do Piauí, Teresina/PI, concluído em dezembro de 2011.

## AGRADECIMENTOS

*À Deus, primeiramente, por sempre me guiar pelo melhor caminho e não me deixar fraquejar mesmo quando tudo parecer difícil.*

*À toda minha família, meu pai Raimundo, meus irmãos Marcelo e Anderson, que desde o início me incentivaram muito a fazer pós e um agradecimento especial para minha mãe Maria, a quem atribuo toda a minha força, determinação e coragem, quem me faz querer ser sempre melhor. **“Cem homens podem construir uma casa, para criar um lar é preciso uma mulher...”***

*Ao meu orientador Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro, por sempre estar disponível, pela confiança e paciência sempre.*

*À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marisa Spirandeli Crespi e demais integrantes do grupo, Mariana, Leonardo, Suzy, Lídia, Douglas, Lilian, Daniel, Sônia e Diógenes.*

*Aos amigos que fiz em Araraquara, Vanessa, Karol e Martina (minha segunda família e que estiveram sempre comigo, na alegria e no desespero, obrigada por tudo, meninas). Aos amigos de formação, Ludyane, Aline, Isabella, Jefferson, e em especial Glauco e Éverton. – **“Eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos! A alguns deles não procuro, basta saber que eles existem. Esta mera condição me encoraja a seguir em frente pela vida.”***

*Aos amigos de infância, Marília, Cláudia Aline, Dann e Francílio, esses me conhecem melhor do que eu mesma, obrigada por todos os dias me escutar, me entender e me aceitar, mesmo quando não concordarem.*

## RESUMO

O presente projeto de mestrado teve como objetivo a extração de ácidos graxos insaturados do óleo de girassol e a partir desses ácidos foram formados adutos com a meglumina, esses adutos foram caracterizados visando o estudo da reação ácido-base de formação desses compostos carboxilato-meglumina. Inicialmente foi realizada a extração e purificação dos ácidos graxos presentes no óleo de girassol, seguido de caracterizações por meio de técnicas de Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), bem como o estudo do comportamento térmico dessa substância a partir das técnicas termoanalíticas Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG). Após a caracterização dos ácidos extraídos deu-se a formação dos adutos com a meglumina seguida também de caracterizações utilizando as mesmas técnicas usadas para caracterização dos ácidos.

A caracterização estrutural dos adutos confirmou que a transferência de próton mediante reação ácido-base é primordial para o processo de formação dos mesmos. A caracterização térmica mostrou o processo de decomposição das amostras em estudo. Por fim, a análise de sistemas adutos-água através de microscopia de luz polarizada demonstrou diferentes tipos de arranjos microestruturais dependendo da composição do sistema e evidenciou mesofases líquido-cristalinas hexagonal e lamelar para os sistemas estudados.

**Palavras-chave:** Adutos. Polímeros Supramoleculares. Análise Térmica. Óleo de Girassol. Ácido Linoleico.

## ABSTRACT

This project had as objective the extraction of unsaturated fatty acids from sunflower oil and from these acids were formed adducts with meglumine, these adducts were characterized for the study of acid-base reaction formation of these carboxylate-meglumine compounds. It was initially performed the extraction and purification of fatty acids present in sunflower oil , followed by characterization by means of Vibrational Spectroscopy techniques in the infrared (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) as well as to study the thermal behavior of this substance from thermoanalytical techniques Differential Scanning Calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TG). After the characterization of the extracted acid gave the formation of adducts with meglumine also followed characterizations using the same techniques used for characterization of the acids.

Structural characterization of adducts confirmed that the proton transfer through acid-base reaction is key to the process of forming the same. The thermal characterization showed the decomposition process of the samples under study. Finally , analysis of adducts - water systems using polarized light microscopy showed different microstructural arrangements depending on the system composition and showed hexagonal liquid -crystalline and lamellar mesophases in the studied systems.

**Keywords:** Adducts. Supramolecular Polymers. Thermal Analysis. Sunflower Oil. Linoleic Acid.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da meglumina e seus análogos. ....	21
Figura 2. Classificação dos tipos de termobalanças: (a)Suspensa, (b)Balança de topo, (c)Horizontal. ....	26
Figura 3. Principais tipos de curvas termogravimétricas. ....	27
Figura 4 Espectro de IV para o óleo de girassol (OG). ....	40
Figura 5. Espectro de IV para ácidos graxos (AG) extraídos do óleo de girassol. ....	40
Figura 6. Espectro de IV para meglumina. ....	42
Figura 7 Espectro de IV para o aduto AG-Meg. ....	43
Figura 8. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do óleo de girassol (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz). ....	44
Figura 9. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do óleo de girassol (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz) ....	45
Figura 10. Espectros de RMN <sup>1</sup> H dos ácidos graxos (extraído do óleo de girassol) e do aduto (AG-Meg). ....	47
Figura 11. Comparação entre os espectros de RMN <sup>13</sup> C dos ácidos graxos insaturados (extraído do óleo de girassol) e do aduto AG-Meg. ....	48
Figura 12. Curva TG para o óleo de girassol. ....	50
Figura 13. Curva TG para o ácido graxo extraído (AG). ....	51
Figura 14. Curva TG do aduto AG-Meg. ....	52
Figura 15. Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o óleo de girassol (OG). ....	54
Figura 16. Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o ácido graxo (AG) extraído do óleo de girassol. ....	55
Figura 17. Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o aduto AG-Meg. ....	56
Figura 18. Fotomicrografias dos adutos ácido graxo-meglumina ao se acrescentar água. ....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nomenclatura, fórmula estrutural e propriedade física de ácidos graxos.....	13
Tabela 2. Óleos vegetais e percentuais de ácidos graxos majoritários. ....	14
Tabela 3. Perfil de ácidos graxos do óleo de girassol. ....	18
Tabela 4. Técnicas de análise térmica e seus respectivos parâmetros de medidas.....	25
Tabela 5. Massa final do aduto ao se acrescentar percentuais de água que variam de 10 a 90%. ....	35
Tabela 6. Dados para obtenção do índice de acidez.....	38
Tabela 7. Composição percentual de ácidos graxos do óleo de girassol. ....	45
Tabela 8. Valores das áreas correspondentes as integrais dos hidrogênios presentes no RMN <sup>1</sup> H do óleo de girassol. ....	46
Tabela 9. Dados termogravimétricos extraídos das curvas TG do óleo de girassol, dos ácidos graxos extraídos do óleo e do aduto ácido AG-Meg. ....	53

## SUMARIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	09
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	11
2.1. Ácidos graxos.....	11
2.2. Óleos vegetais .....	13
2.2.1. Óleo de Girassol .....	15
2.3. Química supramolecular .....	18
2.3.1. Polímeros Supramoleculares .....	19
2.3.2. A Meglumina como agente formador de sistemas supramoleculares .....	20
2.3.3. A concepção do trabalho.....	23
2.4. Análise Térmica.....	24
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	30
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
4.1. Material .....	31
4.2. Processo de extração dos ácidos graxos a partir do óleo de girassol:.....	32
4.2.1. índice de acidez:.....	33
4.2.2. Preparação dos adutos ácidos graxos-meglumina:.....	33
4.2.3. Preparação das misturas dos adutos ácidos graxos-meglumina com água.....	34
<b>5. CARACTERIZAÇÃO</b> .....	35
5.1. Caracterização estrutural.....	35
5.1.1. Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (IV): .....	35
5.1.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN): .....	36
5.1.3. Microscopia de Luz Polarizada.....	36
5.2. Caracterização térmica.....	36
5.2.1. Análise Termogravimétrica (TG): .....	36
5.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC): .....	36
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO:</b> .....	38
6.1. Caracterização estrutural por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) do óleo de girassol (OG) e dos ácidos graxos (AG) extraídos: .....	39
6.2. Caracterização estrutural por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) da meglumina (MEG) e do aduto ácido graxo – meglumina (AG-MEG): .....	41
6.3. Caracterização estrutural por ressonância magnética nuclear (RMN): .....	44
6.4. Caracterização térmica (TG E DSC).....	49
6.4.1. Análise Termogravimétrica (TG).....	49
6.4.2. Análise por Calorimetria exploratória (DSC).....	53
6.5. Caracterização por microscopia de luz polarizada.....	54
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

Polímeros sintéticos é uma importante classe de compostos empregados como matéria prima na produção de diversos tipos de materiais. Na maior parte das vezes esses polímeros são sintetizados a partir de derivados do petróleo e apresentam um período muito longo de permanência na natureza tornando-se um sério problema ambiental. Para solução deste problema tem-se investido na busca de polímeros naturais ou biopolímeros, os quais degradam mais facilmente na natureza liberando produtos que não agredem o ambiente<sup>(1)</sup>.

Os polímeros supramoleculares constituem uma classe de polímeros onde a natureza macromolecular provém de ligações não covalentes<sup>(2)</sup>. A sua estrutura é mantida através de ligações mais fracas como as interações eletrostáticas, interações de Van de Waals, ligações de hidrogênio, etc. Devido ao caráter reversível das ligações não covalentes, eles são sempre formadas sob condições de equilíbrio termodinâmico e podem exibir características físico-químicas diferenciadas, expandindo ainda mais o campo de aplicação da ciência de polímeros<sup>(2)</sup>.

A meglumina ou (2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-6-metilaminoexano-1,2,3,4,5-pentol, também conhecida como *N*-metilglucamina, tem habilidades de formar adutos, que pertencem a classe de polímeros supramoleculares, com ácidos carboxílicos, acentuando a solubilidade do mesmo em meio aquoso. Recentemente, Cassimiro e colaboradores<sup>(3)(4)</sup> (2011, 2012) realizaram experimentos de caracterização térmica de adutos flunixina-meglumina e diclofenaco-meglumina, verificando que durante a fusão desses adutos ocorre um processo de automontagem, resultando na formação de um polímero supramolecular. Os resultados permitiram atribuir à reação ácido-base como sendo um evento chave para a formação dos “adutos polimerizáveis”.

Ferreira e colaboradores<sup>(5)</sup> (2012) também realizaram experimentos voltados para a formação de adutos com a meglumina, mas os adutos formados foram obtidos a partir de ácidos graxos presentes no óleo de rícino, e verificou-se através da caracterização estrutural desses adutos que a transferência de próton mediante reação ácido-base é primordial para o processo de formação dos mesmos e, além disso, demonstrou que a proporção de meglumina desempenha papel importante no arranjo microestrutural desses adutos. A caracterização térmica evidenciou o caráter

macromolecular dos adutos com a presença de transições vítreas nas curvas de DSC de aquecimento e reaquecimento.

A partir do conhecimento obtido em nosso grupo de pesquisa ficou evidente que os adutos de meglumina podem apresentar comportamentos diferenciados dependente preferencialmente do tipo de ácido carboxílico que faz parte da estrutura supramolecular.

O foco deste trabalho é direcionado ao processo de extração de ácidos graxos a partir de um óleo vegetal, seguido de sua purificação, de modo que os ácidos extraídos sejam insaturados, e posterior preparação e caracterização de adutos desses ácidos na presença do carboidrato meglumina. Os adutos, que são formados através de uma interação eletrostática, foram estudados visando-se possíveis aplicações na área das ciências farmacêuticas.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. ÁCIDOS GRAXOS:

Os ácidos graxos são nomeados de acordo com suas estruturas químicas e classificados como saturados ou insaturados, conforme o número de duplas ligações. Os ácidos graxos saturados são predominantemente encontrados em carne, ovos, queijos, leite, manteiga, óleo de coco e palma e também em vegetais hidrogenados. Os monoinsaturados, que possuem uma única dupla ligação, são encontrados na maioria das gorduras animais, de aves, carnes de vaca e cordeiro e também em azeitonas, sementes e nozes, sendo o mais comum o ácido oleico<sup>(6)</sup>. Os ácidos graxos poli-insaturados, que apresentam duas ou mais ligações duplas, e tem como representante mais importante o ácido linoleico (C18:2n-6) que é precursor do ácido araquidônico (C20:4,n-6)<sup>(6)</sup>, são encontrados em maior ou menor abundância em óleos vegetais como os de girassol, milho, soja e algodão<sup>(7)</sup>.

Os ácidos graxos são constituídos por cadeias de hidrocarbonetos com 4 a 24 unidades de carbono (Tabela 1). São quase que inteiramente ácidos carboxílicos alifáticos de cadeia linear<sup>(8)</sup>. Possuem uma extremidade hidrofóbica, não muito reativa quimicamente e insolúvel em água, e um grupo carboxílico, o qual é ionizado em solução (COO<sup>-</sup>), extremamente hidrofílico (solúvel em água) e capaz de reagir prontamente com o grupo hidroxil ou amino em uma segunda molécula para formar ésteres e aminas<sup>(9)</sup>.

A função mais importante dos ácidos graxos está na constituição das membranas celulares. As membranas que envolvem todas as células, separando suas organelas internas do meio extracelular, são compostas de fosfolipídios. Os fosfolipídios caracterizam-se como sendo pequenas moléculas semelhantes aos triglicerídeos, uma vez que são compostos basicamente por glicerol e ácidos graxos. Entretanto, diferentemente dos triglicerídeos, nos fosfolipídios o glicerol está unido a duas cadeias de ácidos graxos e não a três. O sítio restante está diretamente ligado a um grupamento fosfato negativamente carregado, resultando daí o nome, fosfolipídios<sup>(9)</sup>.

A dupla ligação, presente nos ácidos graxos insaturados, em geral aparece em uma configuração *cis* no meio da cadeia carbônica. Isso quer dizer que os

átomos de carbonos adjacentes estão do mesmo lado da dupla ligação. A rigidez da dupla ligação torna o ácido graxo menos flexível. Quanto maior for o número de duplas ligações, maior é a intensidade de oxidação do ácido graxo. Um notável papel desempenhado pela ligação *cis* ocorre nas membranas biológicas: como essas membranas são constituídas por lipídios e esses, na sua maioria, possuem ácidos graxos como constituintes estruturais, o número total de ligações *cis* em uma membrana vai influenciar sua fluidez (flexibilidade)<sup>(10)</sup>. Os ácidos oleico (18:1), linoleico (18:2) e linolênico (18:3) são os principais representantes dessa classe.

Os ácidos graxos essenciais, linoleico e linolênico, n-6 e n-3 respectivamente, apresentam efeitos em diversos processos fisiológicos na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, arteriosclerose, trombose, hipertrigliceridemia, hipertensão, diabetes, artrite, problemas inflamatórios e câncer<sup>(11)</sup>.

O ácido linoleico possui em sua cadeia 18 carbonos, e sua ausência na dieta é responsável pelo desenvolvimento de uma vasta variedade de anormalidades, tais como a neuropatia diabética, artrite reumatóide e cardiovascular, distúrbios reprodutivos e autoimunes<sup>(12)</sup>.

Através das enzimas elongases e dessaturases, o ácido linoleico pode ser metabolizado em outros ácidos n-6, incluindo os ácidos  $\gamma$ -linolênico, dihomo- $\gamma$ -linolênico e araquidônico<sup>(11)</sup>.

Também foi demonstrado que o ácido linoleico participa na proliferação celular e processo inflamatório (acelera no sentido de curar as inflamações) pelos seus efeitos de quimiotaxia e estimulação de neutrófilos<sup>(13)</sup>, além do efeito antibacteriano<sup>(14)</sup>. Glasgow e Eling<sup>(15)</sup> (1990) citaram que o ácido linoleico estimula alguns fatores de crescimento celular tais como fator de crescimento de plaquetas, fator de crescimento fibroblástico, fator de crescimento epidérmico e fator de crescimento semelhante à insulina.

**Tabela 1.** Nomenclatura, fórmula estrutural e propriedade física de ácidos graxos.

Símbolo	Nome comum	Fórmula estrutural	Temperatura de Fusão (°C)
4:0	Butírico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	-7,9
6:0	Capróico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	-3,0
8:0	Caprílico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	17,2
10:0	Cáprico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	31,0
12:0	Láurico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	44,2
14:0	Mirístico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	52,0
16:0	Palmítico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	63,1
16:1	Palmitoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-0,5
18:0	Estearico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	69,1
18:1	Oléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	13,2
18:2	Linoleico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-9,0
18:3	Linolênico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-17,0
20:0	Araquídico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	75,4
20:4	Araquidônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	-49,5
22:0	Beênico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	81,0
24:0	Lignocérico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	84,2

Fonte: VOET *et al*, 2000<sup>(16)</sup>.

## 2.2. ÓLEOS VEGETAIS:

Óleos e gorduras são substâncias lipofílicas bastante utilizadas pelos organismos vivos, podendo ser de origem animal, vegetal ou mesmo bacteriana<sup>(15)</sup>. O óleo vegetal é uma gordura obtida de plantas. É extraído na maioria das vezes das sementes ou grãos destes vegetais conhecidos como oleaginosos. Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na

gordura<sup>(15)</sup>. Os óleos vegetais se apresentam na forma líquida à temperatura de 25°C e as gorduras vegetais se apresentam na forma sólida ou pastosa à temperatura de 25°C<sup>(17)</sup>, e isso é devido a sua constituição em ácidos graxos saturados<sup>(13)</sup>.

Os óleos destinados ao consumo humano são submetidos a um processo de refino cuja finalidade é melhorar sua aparência, sabor, odor e estabilidade por remoção de alguns componentes como: ácidos graxos livres, proteínas, corantes naturais, umidade e compostos voláteis e inorgânicos<sup>(17)</sup>.

Os óleos vegetais são constituídos por ácidos graxos saturados e insaturados, sendo que esses possuem de uma a quatro insaturações na cadeia carbônica. Uma característica dos óleos influenciada pela sua estrutura química é a estabilidade térmica: óleos com ácidos graxos insaturados são mais estáveis que os com ácidos graxos saturados. Outra característica é a estabilidade oxidativa<sup>(18)</sup>. Quanto maior o grau de insaturação do ácido graxo maior será a intensidade da oxidação<sup>(19)</sup>.

A tabela 2 mostra os diferentes tipos de óleos vegetais e seus correspondentes ácidos graxos majoritários.

**Tabela 2.** Óleos vegetais e percentuais de ácidos graxos majoritários.

<b>Óleo Vegetal</b>	<b>Ácido Graxo Majoritário</b>	<b>Percentual (%)</b>
Soja	Linoleico	48-58
Milho	Linoleico	34-65
Girassol	Linoleico	20-75
Rícino	Ricinoleico	82-95
Oliva	Oleico	65-85
Canola	Oleico	55-75

Fonte: GUNSTONE *et al*, 2007<sup>(20)</sup>.

Além da ampla aplicação à nutrição humana os óleos vegetais constituem uma importante matéria-prima para o desenvolvimento de vários tipos de produtos tais como adesivos, lubrificantes, cosméticos, medicamentos, combustíveis e tintas. O emprego deles no âmbito das ciências farmacêuticas vai além da exploração de propriedades medicinais. As características físico-químicas dos óleos fazem deles

um meio bastante interessante para a solubilização de fármacos hidrofóbicos por exemplo. Dessa forma, eles são bastante empregados em formulações farmacêuticas como emulsões, microemulsões e nanoemulsões. Essas formas farmacêuticas constituem-se em geral da mistura da fase oleosa com aquosa estabilizada por tensoativos e funcionam como veículos para a solubilização e entrega de moléculas bioativas<sup>(5)</sup>.

### **2.2.1. Óleo de Girassol:**

Até o século XVIII, cultivava-se o girassol (*Helianthus annuus*), da família *Compositae*, como planta ornamental e medicinal<sup>(21)</sup>. Ele foi originário dos Estados Unidos e México, e introduzido na Europa no século XVI, inicialmente na Espanha e depois na Inglaterra e França<sup>(22)</sup>.

Foi na Rússia que o girassol começou a ser utilizado como fonte de óleo comestível, tornando-se no início do século XX a principal cultura desses países.<sup>(22)</sup>

O girassol é uma cultura que se adapta a diferentes condições climáticas. A baixa sensibilidade fotoperiódica da planta permite que, no Brasil, o seu cultivo possa ser realizado durante o ano todo, em todas as regiões produtoras de grãos, sendo os estados de São Paulo e Paraná os que possuem maior potencial para sua cultura<sup>(23)</sup>, precisando de muito sol e umidade para o seu desenvolvimento. Em função das condições hídricas e da temperatura característica de cada região, pode ser cultivado como primeira cultura, aproveitando o início das chuvas (inverno-primavera), ou como segunda cultura (verão-outono), aproveitando o final das chuvas<sup>(23)</sup>.

O desenvolvimento da planta de girassol ocorre em duas fases: fase vegetativa e a fase reprodutiva. A primeira fase corresponde à etapa de germinação até o início da formação do broto floral, a segunda fase engloba a etapas de crescimento, floração, enchimento de aquênios e maturação. Na fase de florescimento, a cultura define o número de flores e frutos potenciais. Nessa fase ocorre o crescimento rápido de folhas e talos, gerando 95% da área foliar máxima, que determina a capacidade de captação de radiação foliar. No período são acumuladas reservas de carbono e nitrogênio nos órgãos vegetativos e nos capítulos que, durante o enchimento dos grãos, será de grande importância para

manter a taxa de acumulação de peso seco e óleo nas sementes. A duração do florescimento depende principalmente do genótipo podendo oscilar de 10 a 15 dias<sup>(24)</sup>.

Na fase de enchimento de aquênios, a cultura finaliza a expansão foliar, determina a concentração e a qualidade do óleo, também é o período em que a cultura define o número de aquênios por área, considerado como principal componente na avaliação do rendimento<sup>(24)</sup>. A maturação é caracterizada pela perda de água nos aquênios, e o tempo que leva para ocorrer essa perda de água está diretamente relacionado às condições climáticas e ao tipo de genótipo. A colheita do girassol deve ser realizada quando a umidade dos aquênios estiver entre 14% e 18%<sup>(24)</sup>.

Suas sementes possuem em seu óleo uma grande abundância de ácidos graxos insaturados, como o ácido oleico e especialmente o ácido linoleico<sup>(13)</sup>. Estes compostos não são sintetizados por organismos animais e, assim, a obtenção tem que vir de uma fonte dietética<sup>(14)</sup>.

O óleo de semente de girassol pode ser produzido industrialmente ou artesanalmente. É importante, porém, que em ambos os processos se utilize grãos com alto teor de óleo (cascas pretas) e não o girassol empregado na alimentação de pássaros (grãos maiores e com cascas rajadas)<sup>(25)</sup>.

Segundo a resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999 da ANVISA<sup>(26)</sup>, o óleo de girassol é definido como óleo comestível obtido de semente de *Helianthus annus L.* (girassol) através de processos tecnológicos adequados e é classificado da seguinte forma:

Refinado - Óleo obtido pelos processos de extração e refino.

Semi-refinado - Óleo obtido pelos processos de extração e neutralização.

Bruto - Óleo obtido pelo processo de extração.

Virgem - Óleo obtido por processo de prensagem a frio e não tenha sido submetido a outro tratamento que não a lavagem, decantação, centrifugação e filtração.

A semente de girassol possui cerca de 24% de proteínas e 47% de matéria graxa em sua composição. A porcentagem dos ácidos linoleico e oleico é de, aproximadamente 90% do total dos ácidos graxos presentes no óleo de girassol. As modificações da qualidade do óleo podem ser atingidas através da alteração na proporção relativa desses ácidos graxos. Há relação inversa entre eles, sendo fortemente influenciada pelas condições ambientais, em especial a temperatura

durante o desenvolvimento das sementes. Em temperaturas elevadas, ocorre aumento nos níveis de ácido oleico e diminuição nos níveis de ácido linoleico<sup>(17)</sup>. A qualidade de um óleo é dada pela sua composição de ácidos graxos. Dependendo da sua composição, o óleo será utilizado de diferentes maneiras pela indústria. Os óleos para fritura, por exemplo, devem possuir alto grau de estabilidade oxidativa em temperaturas elevadas. Estes devem apresentar em sua composição, elevado teor de ácido oleico, ou devem sofrer um processo de hidrogenação após a etapa de refino. Na indústria, por exemplo, para a produção de margarina tipo “soft”, utiliza-se óleos vegetais com alto grau de insaturação, ou seja, óleos que apresentam em sua composição um elevado teor percentual de ácido linoleico<sup>(27)</sup>.

Além da presença de ácidos graxos (Tabela 3), existem compostos presentes em pequenas quantidades, que também são importantes do ponto de vista da qualidade e estabilidade dos óleos vegetais. Dentre esses, destacam-se os tocoferóis ou vitamina E, os esteróis, os fosfolipídeos (lecitinas) e os  $\beta$ -carotenos. Os tocoferóis e os fosfolipídeos atuam como antioxidantes naturais. Os  $\beta$ -carotenos aumentam a estabilidade dos óleos à luz. O óleo de girassol possui maior estabilidade em relação ao óleo de soja quando exposto à luz, devido ao seu maior conteúdo em  $\beta$ -carotenos<sup>(10)</sup>.

**Tabela 3.** Perfil de ácidos graxos do óleo de girassol.

Ácidos graxos	Teor porcentual g/100g
Mirístico	0,1
Palmítico	5,8 – 6,6
Palmitoléico	0,1
Esteárico	3,8 – 5,2
Oleico	16,0 – 23,8
Linoleico	64,6 – 71,5
Linolênico	0,1 – 0,4
Araquídico	0,2 – 0,4
Gadoleico	0,1 – 0,3
Behêmico	0,6 – 0,8
Lignocérico	0,1
Ácidos graxos saturados	11,6
Ácidos graxos monoinsaturados	23,1
Ácidos graxos polinsaturados	65,3

Fonte: GUNSTONE *et al*, 2007<sup>(20)</sup> Adaptado.

### 2.3. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR:

A Química Supramolecular pode ser definida como a química para além da molécula, dedicada às entidades organizadas de maior complexidade que resultam da associação de duas ou mais espécies químicas ligadas por forças intermoleculares<sup>(28)</sup>. É focada na utilização de uma série de interações não covalentes incluindo pontes de hidrogênio, interações  $\pi$ - $\pi$ , Forças de Van Der Waals, coordenação metálica, interações hidrofóbicas e efeitos eletrostáticos para gerar a ligação entre moléculas. Estas são as mesmas forças que na natureza os sistemas biológicos, altamente específicos, utilizam para ligar associações moleculares<sup>(29)</sup>.

As ligações de hidrogênio são definidas como uma espécie de interação dipolo-dipolo onde o átomo de hidrogênio ligado a um átomo eletronegativo (ou um grupo retirador de elétron) é atraído para um dipolo vizinho em uma molécula adjacente ou um grupo funcional. Devido à força e direcionalidade das ligações de

hidrogênio, elas estão presentes como “cimento supramolecular”<sup>(29)</sup>. Há três diferentes classes de ligações de hidrogênio descritas na literatura como:

**(a)** Ligações de hidrogênio fortes, onde dois centros de ligação estão envolvidos, ou seja, o átomo de hidrogênio está próximo ao ponto central entre os átomos doador e receptor. São de natureza altamente direcional.

**(b)** Ligações de hidrogênio média ou fracas, onde a direcionalidade é parcialmente perdida e a ligação pode ter várias posições possíveis, assumindo uma forma cônica em torno de uma posição linear, o receptor é um elemento fortemente eletronegativo e o doador pode ser eletronegativo ou até mesmo um átomo de carbono.

**(c)** Ligações de hidrogênio não clássicas, que envolvem interações entre hidrogênio e metais de transição<sup>(29)</sup>.

Como regra geral, a força das ligações de hidrogênio é fortemente influenciada pela ação do solvente, principalmente solventes polares e próticos. Por isso, solventes apolares e apróticos são mais adequados à manutenção da estrutura supramolecular de sistemas estabilizados por ligações de hidrogênio. Além disso, a força de um sistema mantido por ligações de hidrogênio também é determinado pelo número de ligações individuais envolvidas. Quanto maior o número de ligações de hidrogênio maior será a força de associação entre os componentes do sistema<sup>(29)</sup>.

### **2.3.1. Polímeros Supramoleculares:**

*Polímeros supramoleculares* são denominados como uma nova classe de macromoléculas em que suas estruturas são mantidas por interações não covalentes. Os polímeros mantidos por ligações de hidrogênio, por exemplo, podem ser divididos em dois grandes grupos:

**(a)** Polímeros por ligações de hidrogênio na cadeia principal;

**(b)** Polímeros por ligações de hidrogênio na cadeia lateral<sup>(29)</sup>.

O primeiro grupo se refere a macromoléculas formadas a partir de unidades monoméricas que se unem por ligações de hidrogênio. Assim, a estrutura principal da cadeia polimérica é totalmente mantida por esse tipo de interação. O segundo grupo refere-se a uma estrutura polimérica convencional onde a cadeia principal é mantida por ligações covalentes entre as unidades monoméricas, no entanto entre as cadeias poliméricas pode haver ligações de hidrogênio, que são capazes de gerar uma estrutura supramolecular<sup>(29)</sup>.

Recentemente foi demonstrado as bases de um processo de automontagem de estruturas macromoleculares. Os mecanismos conhecidos de polimerização supramolecular seguem princípios termodinâmicos bem definidos, e estão sujeitos à variação de concentração, temperatura e pressão e as principais aplicações práticas desses materiais estão ligadas às características físico-químicas do material final. As propriedades mecânicas, eletrônicas e biológicas são consideradas os três principais fatores que ditam como o material deve ser construído para uma possível aplicação comercial<sup>(30)</sup>.

Materiais avançados com capacidade de autorreparação são uma das grandes novidades trazida pela química supramolecular dos polímeros. Esses materiais, após serem danificados podem sofrer um processo de regeneração após responder a certos estímulos como o calor ou luz, isso foi demonstrado por Burnworth et al<sup>(31)</sup>. O processo dinâmico da polimerização/despolimerização supramolecular é responsável pelo restabelecimento da estrutura macromolecular<sup>(31)</sup>.

Sistemas anfifílicos que possuem em sua estrutura química uma parte polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica e que se auto-organizam em meio aquoso ou em um solvente orgânico biocompatível são também de grande interesse. A exploração desses sistemas como carreadores de moléculas bioativas vem trazendo bons resultados, podendo ser citado, por exemplo, o encapsulamento de fármacos em mesofases líquido-cristalinas. Esse tipo de sistema nada mais é do que um agregado supramolecular de moléculas anfifílicas capaz de compartimentalizar moléculas menores<sup>(5)</sup>.

Os adutos, que são considerados materiais supramoleculares, são formados por meio de uma adição direta de duas ou mais moléculas distintas, resultando em um produto de reação simples contendo todos os átomos de todos os componentes, com formação de duas ligações químicas e uma redução na multiplicidade da ligação em pelo menos um dos reagentes. Assim, aduto é uma nova espécie química resultante da união direta de moléculas individuais, e a união dessas moléculas individuais é mantida por meio de uma forte interação eletrostática.

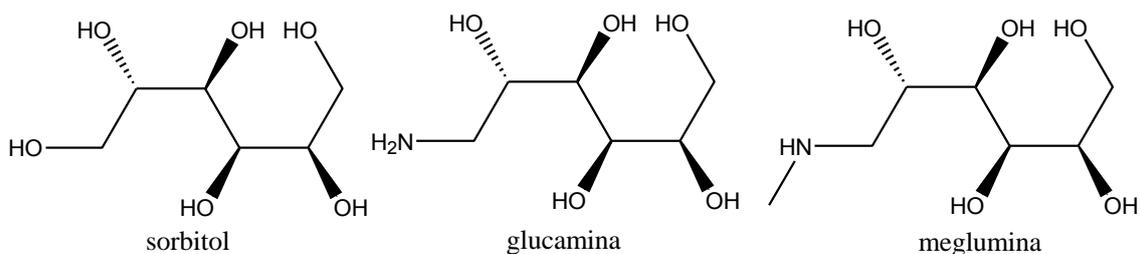
### 2.3.2. A Meglumina como agente formador de sistemas supramoleculares:

A meglumina, *(2R,3R,4R,5S)-6-metil-aminoexano-1,2,3,4,5-pentol*, por ser um aminocarboidrato, se caracteriza pela sua habilidade em formar adutos solúveis em meio aquoso com ácidos carboxílicos, a formação desse aduto se deve principalmente à formação do par iônico entre um componente aniônico (substância de caráter ácido) e um componente catiônico (meglumina). Essa propriedade é principalmente explorada pela indústria farmacêutica no aperfeiçoamento de medicamentos já existentes, onde a substância farmacologicamente ativa tem sua solubilidade em água elevada quando obtida na forma de um aduto com a meglumina<sup>(32)</sup>.

A estrutura da meglumina é análoga ao sorbitol no qual o grupo hidroxila da posição 1 é substituído por um grupo metilamino conforme demonstrado na figura 1.

A sua estrutura também é bem semelhante à glucamina, no entanto o grupo metila confere um maior grau de basicidade ao nitrogênio estabilizando a carga positiva do espécime protonada.

**Figura 1.** Estrutura química da meglumina e seus análogos.



A meglumina é uma substância registrada pelo FDA, possuindo o status GRAS - General Recognized As Safe, sendo, portanto empregada em diversas preparações farmacêuticas<sup>(32)</sup>.

Cao et al<sup>(33)</sup> (2003) contribuíram para um maior entendimento estrutural dos adutos formados com a meglumina através de uma investigação em estado sólido. Os autores determinaram por DRX de monocristal a estrutura do aduto flunixinameglumina e chegaram à conclusão de que apesar da existência de grupos

carregados, estes não estariam participando de interações iônicas responsáveis pela estabilização da estrutura cristalina do aduto. A estrutura supramolecular proposta então seria mantida apenas por ligações de hidrogênio onde os cátions meglumina estão dispostos formando camadas paralelas. Ao mesmo tempo, os ânions flunixina estão arranjados entre duas camadas de cátions.

Complexos ternários onde a meglumina constitui um dos componentes também tem sido relatados na literatura. Basavaraj et al.<sup>(34)</sup> (2006) demonstrou que complexos sólidos entre meglumina, 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina e um fármaco hidrofóbico de natureza ácida tiveram sua biodisponibilidade aumentada. Outros estudos utilizando a combinação de meglumina com polivinilpirrolidona também indicaram um aumento da solubilidade do fármaco celecoxib<sup>(35)</sup>.

Recentemente, nosso grupo identificou a formação de polímeros supramoleculares a partir de adutos flunixina-meglumina e diclofenaco-meglumina. Resultados de ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) e ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV) mostraram que a meglumina está diretamente envolvida na polimerização.

Outros trabalhos que vem sendo desenvolvidos pelo grupo utilizam ácidos orgânicos naturais, como precursores para formação desses polímeros supramoleculares como alternativa para obtenção de materiais de interesse tecnológico e que não sejam nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. A partir desses estudos observamos que alguns ácidos graxos, bem como oleico e esteárico reagem com a meglumina produzindo adutos que facilmente incorporam água formando géis.

A formação destes adutos compreende duas etapas. Primeiramente ocorre a transferência do hidrogênio ácido entre o grupo carboxila e o grupo amino da meglumina. Os íons são unidos por uma forte ligação de hidrogênio envolvendo um dos átomos de oxigênio do grupo carboxilato e a hidroxila ligada ao carbono C2 do aminocarboidrato. Em uma segunda etapa ocorre o processo de polimerização envolvendo somente os grupos hidroxila da meglumina que agem simultaneamente como aceitadores e doadores da ligação de hidrogênio<sup>(36)</sup>.

Polímeros supramoleculares com comportamento líquido-cristalino também foram obtidos a partir de derivados anfífilicos de meglumina<sup>(33)</sup>. Estes sistemas possuem ampla aplicação tecnológica tais como matrizes para liberação controlada de fármacos e reatores heterogêneos para síntese orgânica.

### **2.3.3. A concepção do trabalho:**

Existe um grande interesse científico em se conhecer mais profundamente os fatores pelos quais ocorrem os fenômenos de automontagem molecular. Os conhecimentos gerados por esses estudos devem ser processados visando a pesquisa capaz de gerar produtos aplicáveis tecnologicamente.

Seguindo esse raciocínio, a pesquisa dos adutos ácidos graxos - meglumina como um novo meio de entendimento de processos complexos de automontagem molecular torna-se também uma alternativa bastante viável para a construção de produtos inovadores, podendo inclusive ser aplicados à saúde humana.

Dessa forma, o desenvolvimento de novos materiais com propriedades físico-químicas otimizadas torna-se uma necessidade preponderante no âmbito farmacêutico.

Dentro desse contexto, são diversos os sistemas carreadores coloidais que podem ser empregados, dentre os quais podemos destacar os lipossomas, nanoemulsões, micelas, nanopartículas poliméricas, hidrogéis, nanopartículas lipídicas sólidas dentre outras variantes<sup>(37)</sup>. Esses nanosistemas são capazes de realizar uma liberação progressiva e controlada do fármaco desde que haja estímulos do meio em que se encontram. Com isso a concentração plasmática do fármaco mantém-se constante aumentando a eficácia terapêutica e diminuindo expressivamente a toxicidade devido à ausência de picos de concentração plasmática máxima. Outras vantagens referem-se à possibilidade de incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas nos dispositivos<sup>(38)</sup>.

Matrizes lipídicas podem ser modificadas para se obter estruturas mais estáveis e adequadas ao encapsulamento de moléculas bioativas. A adição de compostos hidrofílicos aos lipídeos geram sistemas anfifílicos que são muito interessantes no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, pois estes são capazes de formar vários tipos de agregados supramoleculares em solução aquosa<sup>(38)</sup>.

A ação da meglumina como uma base de Lewis capaz de se ligar à grupamentos ácidos é bastante conhecida e a sua ação como modificadora de matrizes lipídicas tem sido bastante estudada pelo nosso grupo de forma a tentar

elucidar o comportamento da meglumina frente à um lipídeo de natureza ácida onde ela seja capaz de interagir formando estruturas supramoleculares.

#### **2.4. ANÁLISE TÉRMICA:**

A definição aceita de Análise Térmica, dada por Mackenzie<sup>(39)</sup> e pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) é: “Um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”. Esta definição implica que uma técnica térmica para que possa ser considerada como termoanalítica, três critérios devem ser satisfeitos: 1- Uma propriedade física tem que ser medida, 2- A medida deve ser expressa (direta ou indiretamente) como função da temperatura, 3- A medida tem que ser feita sob um programa controlado de temperatura<sup>(40)</sup>.

A análise térmica apresenta vantagens em inúmeras áreas da ciência, ou seja, pode-se obter através dessa análise: variação de massa, estabilidade térmica, água livre, água ligada, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética da reação, estudos de catalisadores, transições vítreas, etc<sup>(41)</sup>.

Na Tabela 4 estão classificadas as principais técnicas de análise térmica segundo o parâmetro medido.

**Tabela 4.** Técnicas de análise térmica e seus respectivos parâmetros de medidas.

<b>Parâmetro Medido</b>	<b>Técnica</b>
<i>Massa</i>	<i>TERMOGRAVIMETRIA (TG)</i>
<i>Varição de massa (25M/dt)</i>	<i>TERMOGRAVIMETRIA DIFERENCIAL (DTG)</i>
<i>Temperatura (<math>T_o-T_f</math>)</i>	<i>ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)</i>
<i>Entalpia (dH/dt)</i>	<i>CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)</i>
<i>Deformação (volume ou comprimento)</i>	<i>ANÁLISE TERMOMECAÂNICA (DILATOMETRIA)</i>
<i>Condutividade Térmica</i>	<i>DETECÇÃO DE GASES ENVOLVIDOS (EGD)</i>
<i>Espectrometria ou Cromatografia</i>	<i>ANÁLISE DE GASES ENVOLVIDOS (EGA)</i>

Fonte: CAPONERO et al, 2015<sup>(42)</sup>.

#### **2.4.1. Eventos Térmicos:**

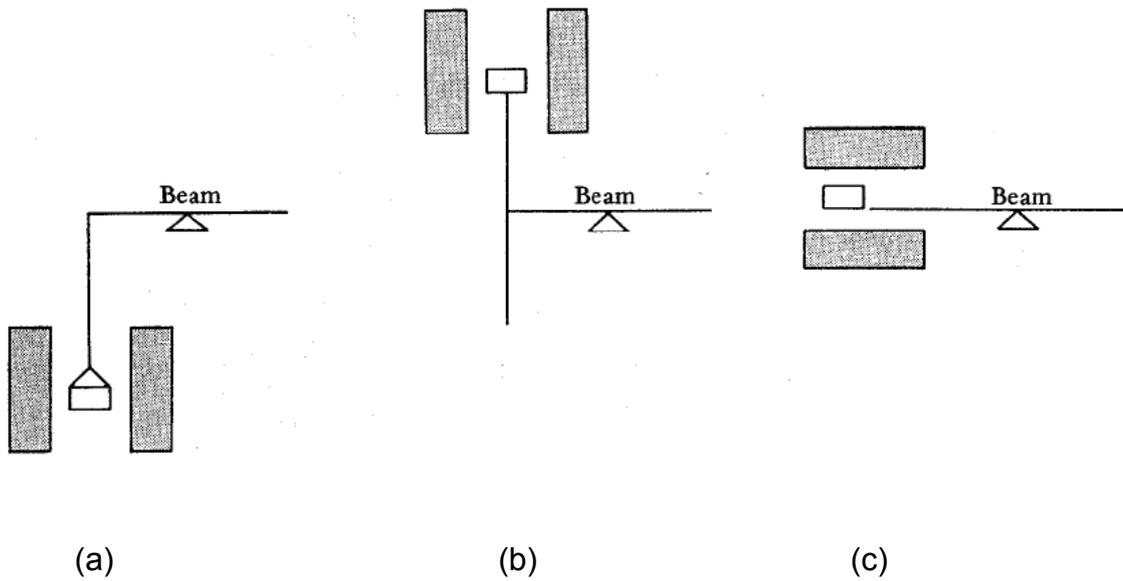
Quando uma substância sólida qualquer é aquecida em uma atmosfera inerte, o resultante aumento na movimentação molecular, atômica ou iônica pode levar a mudanças na estrutura cristalina, a sinterização, fusão ou sublimação do material. Se as forças intramoleculares forem mais fracas que as forças intermoleculares, a substância pode decompor formando novos fragmentos de moléculas, algumas ou todas estas novas moléculas podem volatilizar nas temperaturas alcançadas<sup>(42)</sup>.

#### **2.4.2. Termogravimetria (TG):**

É uma técnica utilizada para medir as variações de massa de uma amostra durante o aquecimento (ou resfriamento) ou quando mantida a uma temperatura específica. É medido principalmente nesta técnica: evaporação, sublimação, decomposição, oxidação, redução e adsorção e dessorção de gás. Durante um programa controlado de temperatura a massa de uma substância é continuamente medida<sup>(40)</sup>. A medida das variações é realizada por uma termobalança, sendo que

são classificadas em três categorias, de acordo com a forma de acondicionamento da amostra, conforme mostra a figura 2.

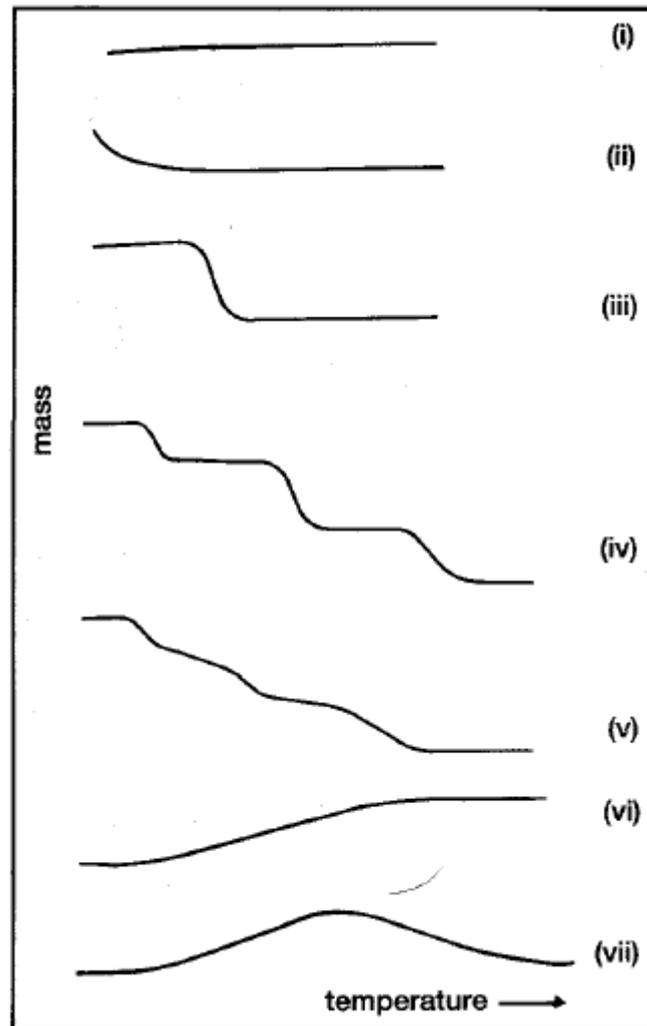
**Figura 2.** Classificação dos tipos de termobalanças: (a) Suspensa, (b) Balança de topo, (c) Horizontal.



Fonte: HOPKINS *et al*, 1959<sup>(43)</sup>

E as curvas obtidas podem ser classificadas em vários tipos conforme ilustrado na figura 3.

**Figura 3.** Principais tipos de curvas termogravimétricas.



Fonte: WENGLANDT *et al*, 1974<sup>(41)</sup>

**Curvas tipo (i):** Este tipo de curva é característico de uma amostra que não apresenta variações de massa no ciclo térmico aplicado<sup>(41)</sup>.

**Curvas tipo (ii):** A rápida perda inicial de massa é em muitos casos associada à perda de umidade da amostra ou à dessorção de gases<sup>(41)</sup>.

**Curvas tipo (iii):** Esta curva representa a decomposição de uma amostra em um único estágio<sup>(41)</sup>.

**Curvas tipo (iv) e (v):** Estas curvas apresentam estágios múltiplos de decomposição. Entretanto nas curvas do tipo (iv) pode-se determinar as temperaturas limite de estabilidade dos reagentes. E as curvas do tipo (v) tendem a apresentar um comportamento mais próximo do tipo (iv) quando a amostra é submetida a menores velocidades de aquecimento (resfriamento)<sup>(41)</sup>.

**Curvas tipo (vi):** Curva típica de ganho de massa. Como exemplo: oxidação de metais<sup>(41)</sup>.

**Curvas tipo (vii):** Este tipo de curva é muito difícil de ser observado. Um exemplo é a oxidação da prata e posterior decomposição, a altas temperaturas, do óxido formado<sup>(41)</sup>.

Dois fatores podem influenciar o aspecto das curvas TG, fatores instrumentais e fatores ligados às características da amostra.

**Fatores instrumentais:** Razão de aquecimento do forno, atmosfera do forno, geometria do suporte de amostras e do forno<sup>(42)</sup>.

**Características da amostra:** Tamanho de partículas quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação da amostra, natureza da amostra, condutividade térmica da amostra<sup>(42)</sup>.

#### **2.4.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC):**

É uma técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material referência, em função da temperatura enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Há duas modalidades baseados no método de medição utilizado: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor<sup>(40)</sup>.

**DSC com Compensação de Potência:** arranjo no qual a referência e amostra são mantidas na mesma temperatura, através de aquecedores elétrico individuais. A potência dissipada pelos aquecedores é relacionada com a energia envolvida no processo endotérmico ou exotérmico<sup>(40)</sup>.

**DSC com Fluxo de Calor:** o arranjo mais simples é aquele no qual a amostra e a referência, contidas em seus respectivos suportes de amostra, são colocadas sobre um disco de metal. A troca de calor entre o forno e a amostra ocorre preferencialmente pelo disco<sup>(40)</sup>.

Através dessas técnicas, podem-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, tais como transições de fase (fusão ebulição, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de óxido-redução, etc. capazes de causar variações de calor. Em geral transições de fase,

desidratação, reduções e certas reações de decomposição produzem efeitos endotérmicos, enquanto que cristalizações, oxidações, algumas reações de decomposição produzem efeitos exotérmicos<sup>(40)</sup>.

Essa técnica permite também estudar transições que envolvem variações de entropia (transições de segunda ordem), das quais, as mais comuns são transições vítreas que certos polímeros podem apresentar<sup>(40)</sup>.

O material de referência utilizado nessa técnica não deve apresentar nenhum evento térmico na faixa de temperaturas estudadas, não deve reagir com o cadinho e com os termopares e a condutividade e a capacidade térmica da amostra e da referência devem ser semelhantes<sup>(40)</sup>.

Em princípio, o aspecto de interesse nas curvas DSC está nos desvios de linha de base, entretanto a linha de base nem sempre é algo fácil de obter. A linha de base pode apresentar um desvio zero, normalmente resultado de uma diferença entre as propriedades térmicas da amostra e da referência ou de uma assimetria na construção dos porta-amostra. Em alguns casos, após um evento térmico a curva não retorna à linha de base original devido à mudança das propriedades térmicas da amostra a altas temperaturas<sup>(42)</sup>.

Mudanças abruptas da linha de base, seja na inclinação seja na posição, indicam uma transformação de segunda ordem, que se caracterizam pela variação de capacidade calorífica, porém sem variações de entalpia. Exemplos deste tipo de transformação são as transições vítreas dos polímeros e a transição do ponto de Curie nos materiais ferro-magnéticos<sup>(42)</sup>.

As transições de primeira ordem apresentam variação de entalpia, endotérmica ou exotérmica, e dão origem à formação de picos<sup>(42)</sup>.

### 3. OBJETIVOS

- (a) Realizar a extração e purificação dos ácidos graxos presentes no óleo de girassol;
- (b) Preparação do aduto ácido graxo-meglumina;
- (c) Caracterização estrutural desse aduto através das técnicas Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), bem como o estudo do comportamento térmico dessa substância a partir das técnicas termoanalíticas Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG).
- (d) Análise no Microscópio de Luz Polarizada do aduto ácido graxo-meglumina obtido e ao se acrescentar percentuais de água, que vão de 10% a 90%.

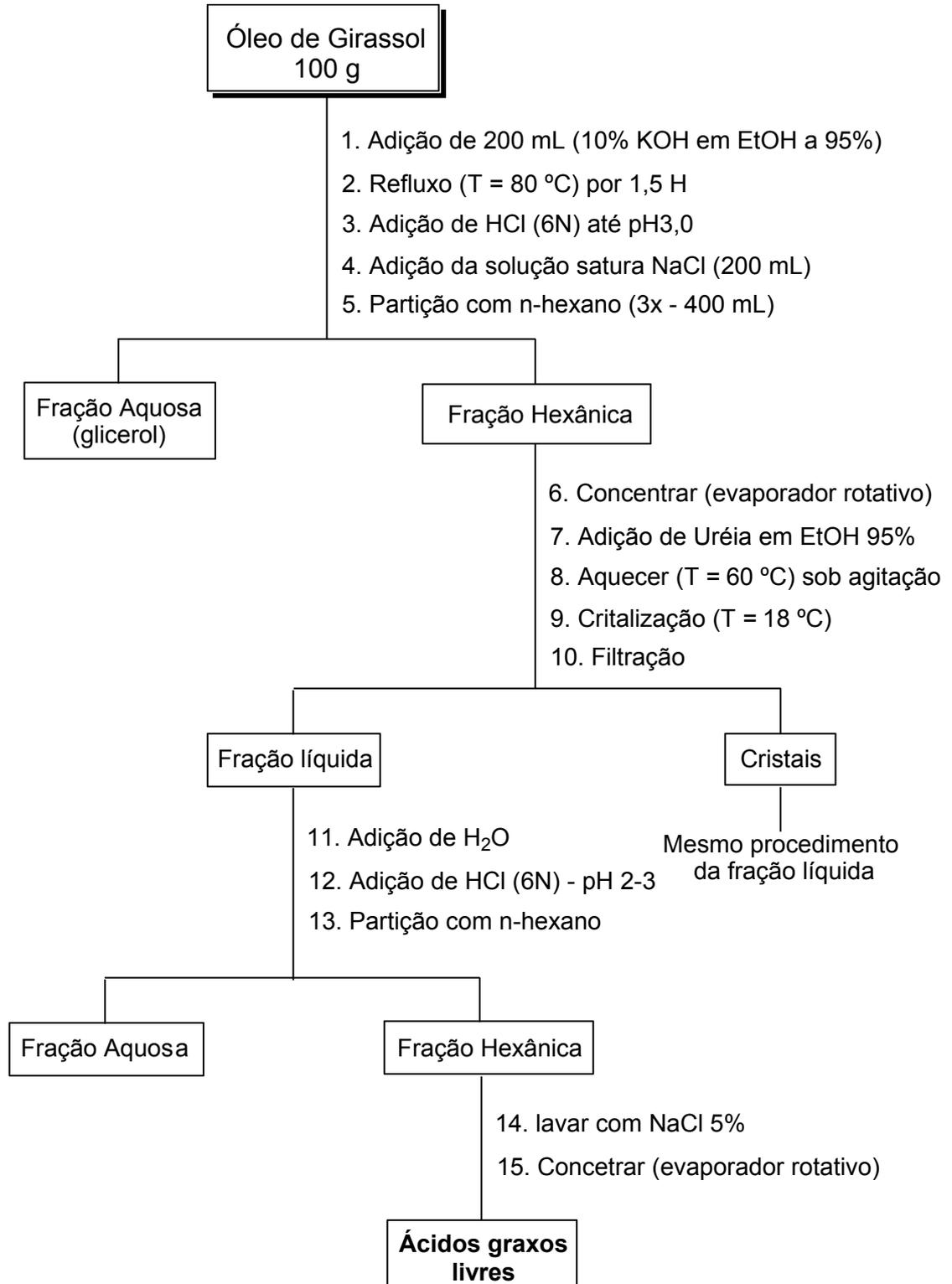
## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. MATERIAL:**

Óleo de girassol da marca LIZA, foi utilizado dessa marca por ser uma marca que não utiliza aditivos, meglumina foi obtida da Sigma Aldrich. Todos os outros reagentes possuíam grau cromatográfico. Água deionizada (Milli-Q Millipore Simplicity 185, Bedford, MA, USA) foi utilizada nos procedimentos.

#### 4.2. Processo de extração dos ácidos graxos a partir do óleo de girassol:

Os ácidos graxos foram extraídos e purificados, seguindo assim as seguintes etapas:



Inicialmente foi realizada uma reação de saponificação com 100g de óleo de girassol, hidróxido de potássio a 10% e 200mL de solução etanólica a 95%, o balão contendo essa solução ficou em refluxo durante 90 minutos com temperatura controlada a 80°C, em seguida a solução foi acidificada com HCl 6M até atingir um pH em torno de 3 e tratados com 200mL de solução saturada de NaCl, colocados em um funil de separação e tratados com hexano, sequencialmente por 3 vezes.

Na segunda etapa a fração hexânica resultante foi misturada com ureia em solução aquosa de etanol a 95% e aquecido a 60°C com agitação até a homogeneização da solução. Em seguida o aduto ureia-ácido graxo foi mantido a temperatura de 18°C para cristalização.

Os cristais formados foram separados da parte líquida por filtração rápida e simples. A parte líquida, considerada a parte que quase não há ácidos graxos, foi diluída em igual volume de água e acidificado com HCl 6M até pH de aproximadamente 3, após isso em igual volume foi adicionado hexano e os ácidos graxos presentes nessa fase foram extraídos, em seguida a solução hexânica foi lavada com uma solução de 5% de NaCl para remover remanescentes de ureia e o solvente então foi removido a 65°C usando o rota-evaporador.

Os ácidos graxos foram recuperados da parte cristalizada após a adição de água, HCl 6M e hexano da mesma forma que foram separados da parte não cristalizada.

#### **4.2.1. Índice de acidez:**

Com o objetivo de caracterizar o grau de acidez dos ácidos graxos uma titulação ácido-base com NaOH foi realizada. O valor de acidez foi definido com a quantidade (mg) de NaOH necessário para a neutralização de 1 g do ácido. Para calcular o índice de acidez utilizou-se 10 mL, cerca de 6 g, do óleo em um erlemeyer de 100 mL e a seguir adicionou-se 3 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína e titulou-se com solução 0,1 mol/L de hidróxido de sódio até que a solução passasse de incolor para uma coloração rósea. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

#### **4.2.2. Preparação dos adutos ácidos graxos-meglumina:**

Os adutos, 11 amostras, foram preparados baseados na quantidade de meglumina usada. O ácido utilizado foi extraído do óleo de girassol que possui como ácido majoritário o ácido linoléico. O procedimento é uma reação ácido-base entre os precursores e a meglumina (MEG). A quantidade de MEG ( $195,2 \text{ g mol}^{-1}$ ) utilizada foi baseada no índice de acidez dos precursores. Quantidades equimolares do ácido e da meglumina foram dissolvidas em 20mL de uma mistura composta de acetato de etila/metanol (1:1 v/v).

O meio reacional foi mantido sob agitação constante por aproximadamente 30 minutos em temperatura ambiente, suficiente para se observar, após este tempo, a precipitação de um sobrenadante branco. Grande parte do sobrenadante foi evaporada espontaneamente e o excesso ainda restante foi decantado. Em seguida o precipitado foi lavado com a mistura de acetato de etila/metanol a frio e seco sob fluxo de nitrogênio.

#### ***4.2.3. Preparação das misturas dos adutos ácidos graxos-meglumina com água.***

Quantidades do aduto contidas na tabela a seguir foram pesadas em balança analítica, completadas com água destilada até à sua massa final e aquecidas em banho-maria para a dissolução completa do sólido. A quantidade de água adicionada variou de 10 a 90% levando-se em consideração a massa do aduto pesada. Essas amostras foram preparadas para análise no microscópio de luz polarizada, com o intuito de observar se houve de fato a formação de polímeros supramoleculares, já que os polímeros são formados por interações de hidrogênio e o acréscimo de água aumenta as interações.

**Tabela 5.** Massa final do aduto ao se acrescentar percentuais de água que variam de 10 a 90%.

Massa do aduto (g)	Percentual de água (%)	Massa Final (g)
9,834	10	10,8174
10,236	20	12,2832
10,112	30	13,1456
9,993	40	13,9902
10,008	50	15,0120
9,882	60	15,8112
10,111	70	17,1887
10,051	80	18,0918
10,316	90	19,6004

## 5. CARACTERIZAÇÃO:

Caracterizações estrutural e térmica foram realizadas utilizando-se técnicas espectroscópicas (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), termoanalíticas (TG e DSC) e Microscopia de Luz Polarizada.

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL:

#### 5.1.1. Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (IV):

Os Espectros FTIR para a Meglumina foram obtidos a partir de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr espectroscópico, VETEC). Para confecção das pastilhas cerca de 1mg da amostra juntamente com 99 mg de KBr foram homogeneizados e prensados, cada espectro foi obtido após 16 varreduras com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ . O equipamento é um espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier, Bruker/Tensor 27.

E os espectros FTIR para o óleo e para o aduto ácidos graxos-meglumina foram obtidos a partir do modo de reflectância total atenuada (ATR) em cristal ZnSe (Seleneto de Zinco).

### **5.1.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN):**

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos no espectrômetro RMN Agilent Technologies, campo 500/54 e campo 400/52. As amostras de óleo de girassol e dos ácidos graxos extraídos foram solubilizadas com  $\text{CHCl}_3$  e amostra do aduto foi solubilizada em DMSO- $d_6$ .

A espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  foi utilizada também como uma alternativa em substituição para a análise de Cromatografia Gasosa na determinação da composição de ácidos graxos presentes no óleo.

### **5.1.3. Microscopia de Luz Polarizada:**

Amostras do aduto ácido graxo-meglumina em água (amostras variando de 10% a 90% m/m) foram colocadas sobre lâminas de vidro e cobertas com lamínula e analisadas em um microscópio Jenamed 2, Carl Zeiss- Jena, sob luz polarizada.

## **5.2. CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA:**

### **5.2.1. Análise Termogravimétrica (TG):**

As curvas TG foram obtidas no termoanalisador SDT 2960 da TA Instruments, na faixa de temperatura de 30-600°C utilizando-se cadinhos de alumina abertos como referência e suporte de amostra, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (fluxo = 50 mL  $\text{min}^{-1}$ ) e razão de aquecimento de 10°C  $\text{min}^{-1}$ .

### **5.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC):**

Foi utilizado um módulo DSC da TA Instruments, capaz de operar de 150 a 650°C, com termopares diferenciais de cromel-cromel com precisão calorimétrica de 1%, precisão de temperatura  $\pm 10^\circ\text{C}$  e reprodutibilidade de  $\pm 0,05^\circ\text{C}$ . Controlado pelo

Software TA Instruments. A calibração do sistema foi realizada com um padrão de índio 99%, conforme as recomendações fornecidas pelo fabricante.

As curvas DSC foram obtidas em atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub> (50 mL min<sup>-1</sup>) utilizando-se 10-12 mg de amostra em cadinhos de alumínio aberto, e razão de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>. Para análise dos ácidos graxos o método aplicado consistiu de um primeiro resfriamento de 25°C até -80°C, seguido por um aquecimento até 25°C. Para a análise dos adutos o método consistiu de um primeiro aquecimento de -80°C até 140°C seguido por um resfriamento até -80°C e um reaquecimento até 140°C.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Índice de acidez é a massa de hidróxido de sódio, em miligramas, gasta na neutralização dos ácidos livres presentes em um grama de amostra.

A determinação do índice de acidez fornece dados importantes no que nos diz respeito à conservação de um alimento. Os ácidos graxos participam das composições dos monos, di e triglicerídeos, que são os principais componentes de óleos e gorduras. Se os ácidos graxos são constituintes de gorduras, uma grande quantidade desses compostos nas formas livre indica que o produto está sofrendo processos de hidrólise, oxidação ou fermentação, ou seja, o alimento está em processo de deterioração.

Os índices de acidez foram medidos em triplicata e foram obtidos os seguintes valores expostos na tabela 5:

**Tabela 6.** Dados para obtenção do índice de acidez.

<b>Titulação</b>	<b>NaOH (mL) gastos para neutralizar 10 mL de óleo</b>	<b>Índice de Acidez (%)</b>
1ª Titulação	2 mL	0,101
2ª Titulação	1,9 mL	0,089
3ª Titulação	1,9 mL	0,097

A média dessas titulações é 0,095% que indica uma baixa acidez nesse óleo, e que pode ser correlacionada com a ausência de ácidos graxos livres. A Anvisa (1999) utiliza como parâmetro de qualidade o índice de acidez em porcentagem equivalente ao ácido oleico presente nos óleos vegetais, e o índice de acidez para o óleo de girassol em gramas de ácido oleico/100g de óleo é de no máximo 0,3%.

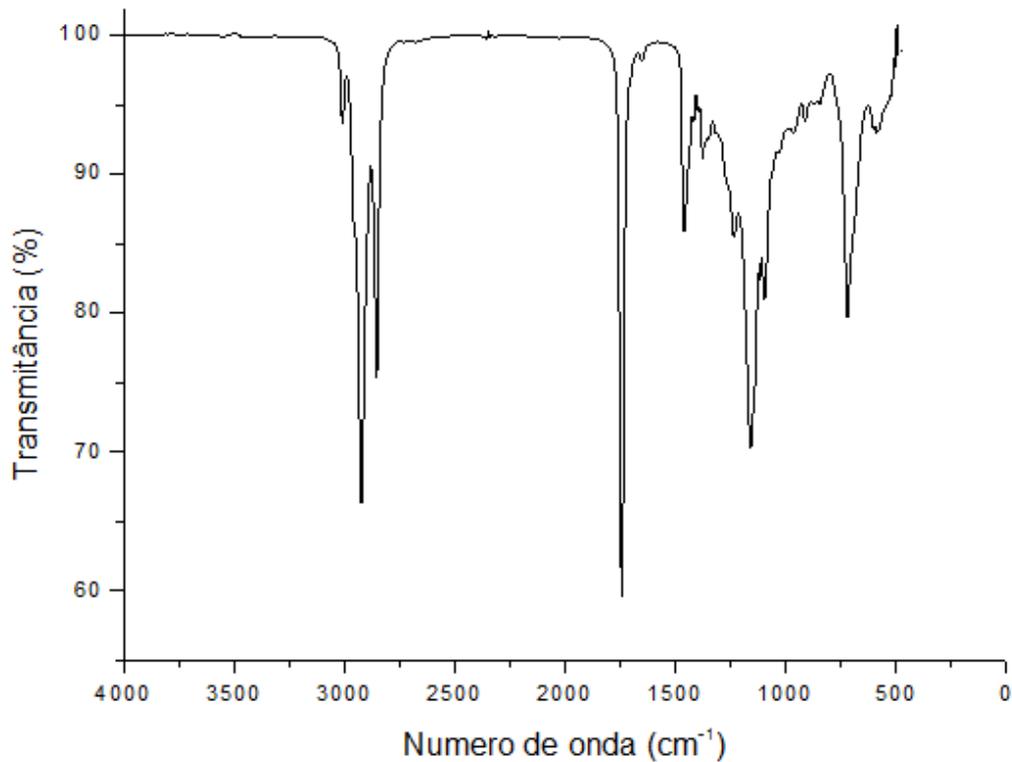
Como a média dos índices de acidez foi de 0,095% verifica-se assim que ele está dentro dos parâmetros de qualidade exigidos pela Anvisa.

### **6.1. Caracterização estrutural por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) do óleo de girassol (OG) e dos ácidos graxos (AG) extraídos:**

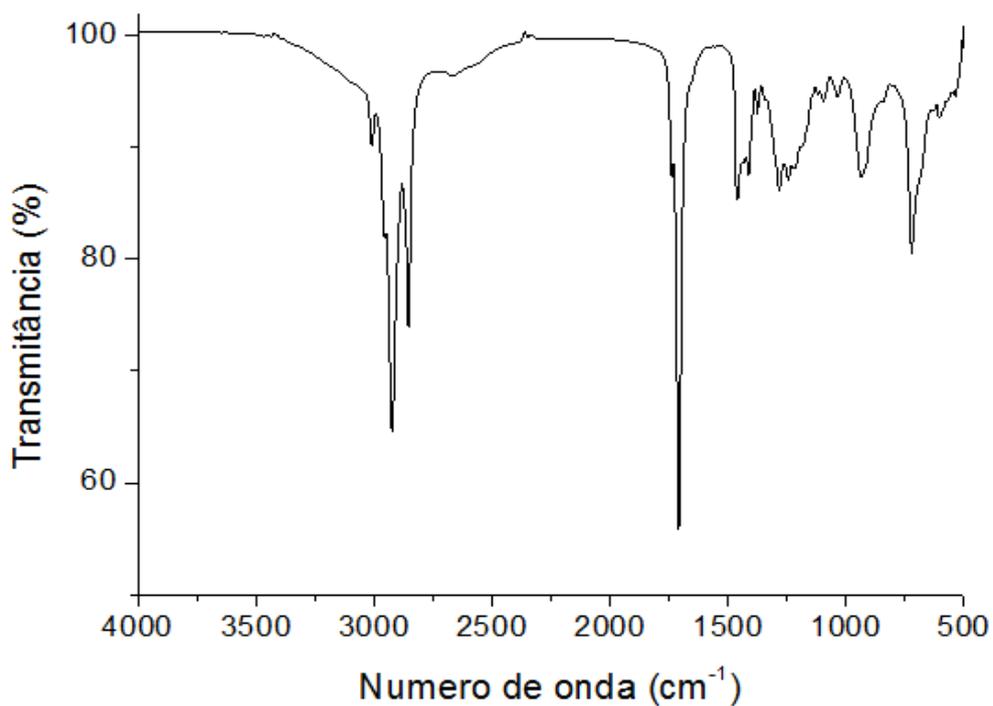
No espectro de IV de OG (FIGURA 4) vemos bandas características em  $1742\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da carbonila do éster, bandas em  $1357$ ,  $1237$ ,  $719$  e  $590\text{ cm}^{-1}$  que correspondem à absorção da ligação H-C das ligações duplas presentes nos ácidos graxos insaturados, bandas em  $2921$ ,  $2856$  e  $1459\text{ cm}^{-1}$  correspondentes às ligações C-H do esqueleto hidrocarbônico, em  $1158$  e  $1099\text{ cm}^{-1}$  correspondente a deformações axiais de C-O e uma banda forte em  $1742\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de C=O de éster. A região de  $1300$  a  $900\text{ cm}^{-1}$  é conhecida como região de "impressão digital" do espectro, que inclui várias bandas acopladas. Esse espectro para o óleo confirmou bandas específicas pertencentes a óleos vegetais.

O espectro de IV dos AG extraídos do óleo de girassol (FIGURA 5) foi compatível com os espectros descritos na literatura correspondentes aos espectros para os ácidos graxos insaturados, principalmente o oleico e linoleico, isso era esperado, pois o processo de purificação foi realizado no intuito de separar o ácido linoleico do restante dos ácidos graxos extraídos do óleo. As diferenças entre o espectro dos ácidos extraídos para o espectro do óleo de girassol ocorrem na região das bandas entre  $1500$  e  $500\text{ cm}^{-1}$  que significa que ocorre a retirada do glicerol presente no óleo.

**Figura 4.** Espectro de IV para o óleo de girassol (OG). Obtido a partir de 1mg da amostra juntamente com 99 mg de KBr homogeneizados e prensados, após 16 varreduras com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Em uma frequência de 500 a 4000 Mhz.



**Figura 5.** Espectro de IV para ácidos graxos (AG) extraídos do óleo de girassol. Obtido a partir de 1mg da amostra juntamente com 99 mg de KBr homogeneizados e prensados, após 16 varreduras com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Em uma frequência de 500 a 4000 Mhz.

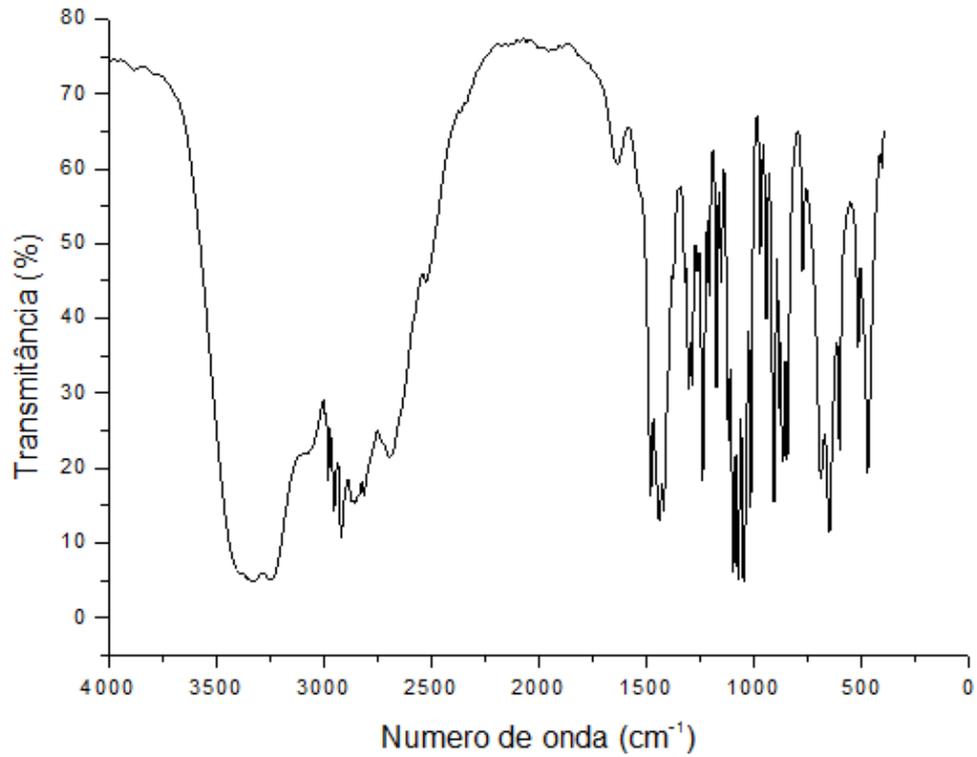


## **6.2. Caracterização estrutural por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) da meglumina (MEG) e do aduto ácido graxo – meglumina (AG-MEG):**

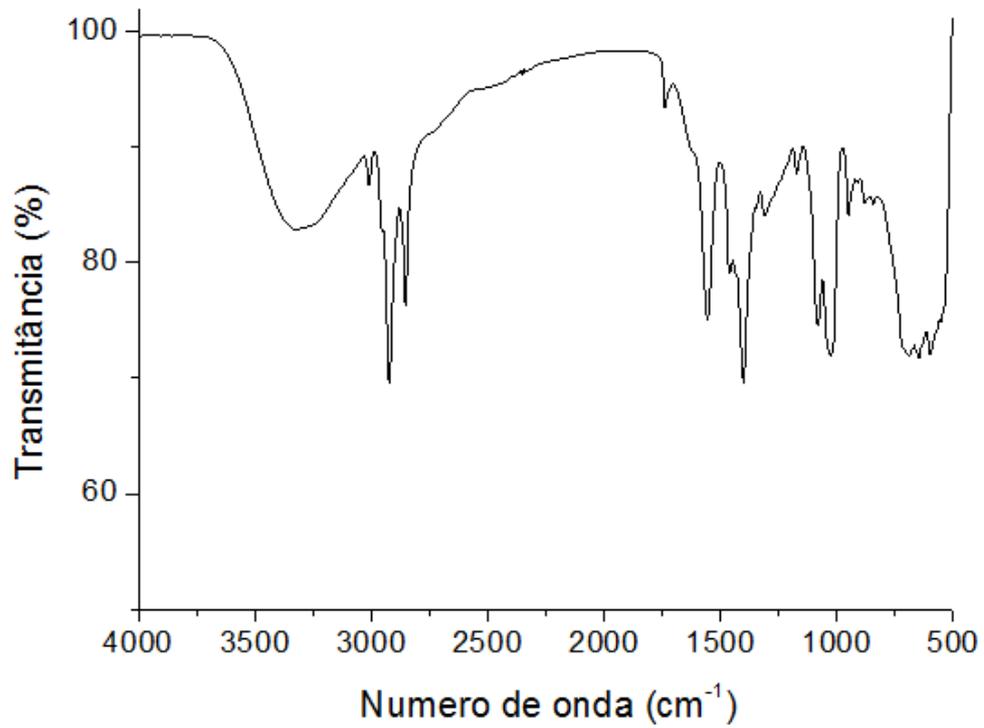
No espectro de IV da meglumina (FIGURA 6) pode se identificar as seguintes bandas: 3550-3000  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes às vibrações de estiramento dos grupos OH, 2880-2860  $\text{cm}^{-1}$  correspondente à vibração de estiramento de C-H dos alcanos, 1650-1550  $\text{cm}^{-1}$  correspondente à vibração de estiramento NH da amina secundária, 1500-1200  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas à deformação angular no plano dos grupos CO. Esse espectro corresponde ao que está proposto na literatura. Essa análise foi realizada com o intuito de comparar os deslocamentos ao se preparar o aduto.

Os adutos formados com os ácidos graxos e a meglumina tiveram uma aparência viscosa e amarelada. E o espectro no IV correspondente a esse aduto (FIGURA 7) mostrou bandas fracas em 3319  $\text{cm}^{-1}$  que correspondem às vibrações de estiramento O-H, bandas em 2919-2819  $\text{cm}^{-1}$  associadas às vibrações de deformação axial nos átomos de hidrogênio ligados a carbono de alcenos. No espectro do aduto quando comparado ao espectro de IV dos ácidos graxos e da meglumina observamos que há um deslocamento das bandas, mas que não há indicação da formação de novas ligações covalentes quando há a formação do aduto. Tal observação é condizente com a natureza dos polímeros supramoleculares, visto que essas espécies não são produtos de reações químicas de adição ou condensação, mas da auto-organização das unidades monoméricas mediante a ação de interações eletrostáticas.

**Figura 6.** Espectro de IV para meglumina. Obtido a partir de 1mg da amostra juntamente com 99 mg de KBr homogeneizados e prensados, após 16 varreduras com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Em uma frequência de 500 a 4000 Mhz.



**Figura 7.** Espectro de IV para o aduto AG-Meg. Obtido a partir de 1mg da amostra juntamente com 99 mg de KBr homogeneizados e prensados, após 16 varreduras com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Em uma frequência de 500 a 4000 Mhz.

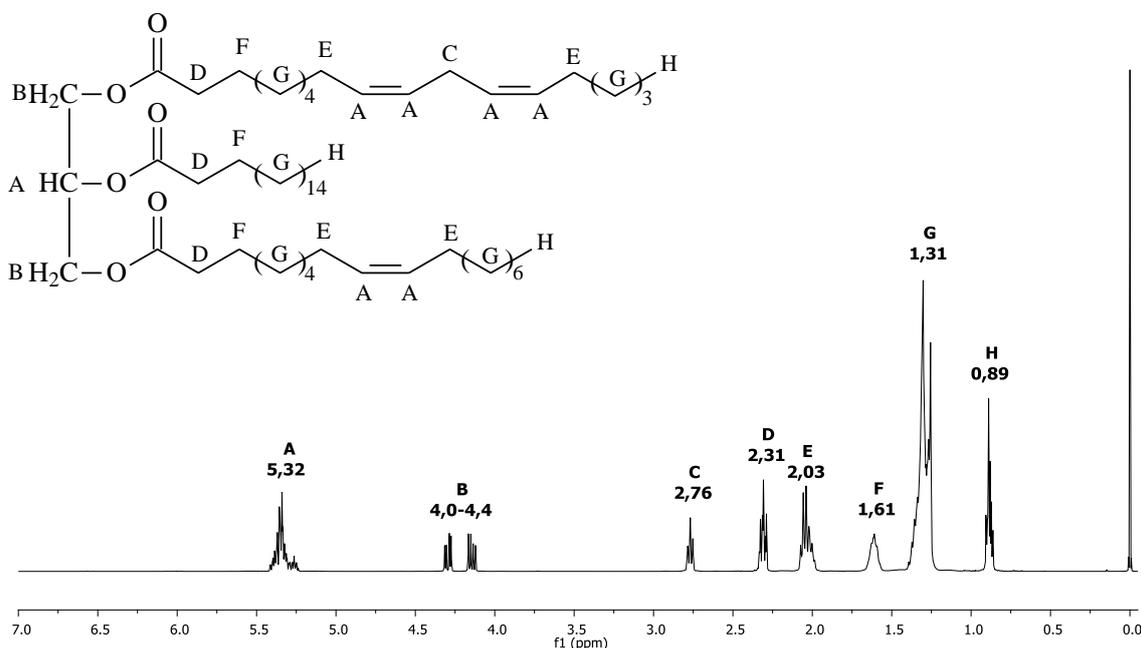


### 6.3. Caracterização estrutural por ressonância magnética nuclear (RMN):

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  fornecem uma grande quantidade de informação a respeito das amostras, que pode ser obtida em um curto período de tempo. Os sinais de ressonância, presentes no óleo, estão relacionados às características estruturais dos triacilgliceróis, tais como: estrutura molecular, conformação molecular, posição das insaturações, geometria das duplas ligações.

A análise de RMN  $^1\text{H}$  (FIGURA 8) da amostra de óleo de girassol (comercial, marca: LISA), apresentou um perfil característico para uma mistura de ácidos graxos de natureza insaturada, confirmado pelo sinal em  $\delta$  5,32 (m) atribuído à CH olefínico (A). Como pode ser observado também na FIGURA 8, os demais sinais de hidrogênio estão representados na estrutura hipotética de um triglicerídeo e os dados de deslocamento foram identificados no espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

**Figura 8.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do óleo de girassol ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz).



A TABELA 7 e FIGURA 9 apresentam os valores das integrais para cada sinal de hidrogênio presente no óleo de girassol. Estes dados foram utilizados para calcular a composição percentual de ácidos graxos no óleo (TABELA 6), através dos parâmetros abaixo:

A proporção de ácidos graxos saturados (S), oleico (O), linoleico (L) e linolênico (Ln) foi determinado seguindo as equações abaixo:

$$Ln (\%) = 100 (H'/(H+H'))$$

$$L (\%) = 100 \{(C/D) - 2(H'/(H+H'))\}$$

$$O (\%) = 100 \{(E/2D) - (C/D) - 2(H'/(H+H'))\}$$

$$S (\%) = 100 (1 - (E/2D))$$

Onde os termos:

**H** = a área de ressonância dos hidrogênios do grupo metila presentes nos ácidos graxos saturados e nos ácidos oleico e linoleico;

**H'** = a área de ressonância dos hidrogênios do grupo metila do ácido linolênico;

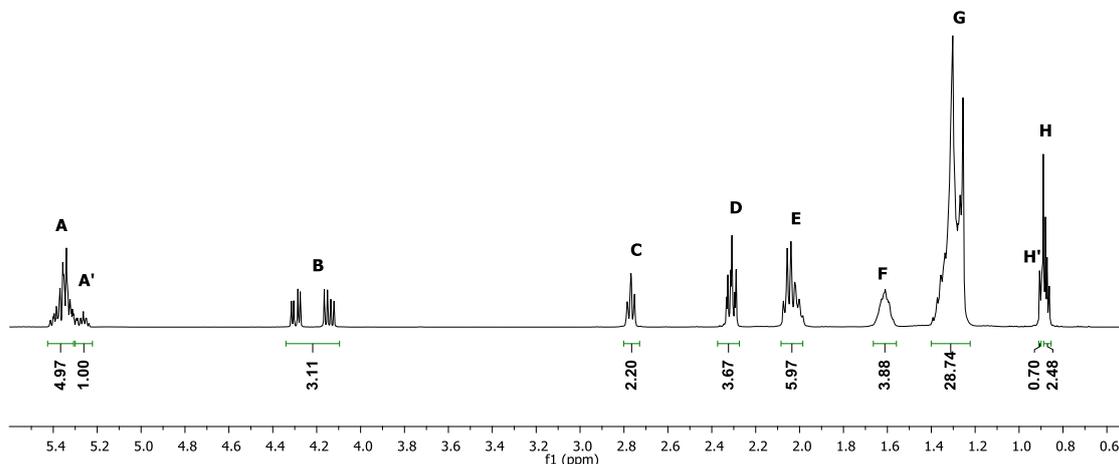
**D, E, F, G** = áreas relacionadas aos hidrogênios dos grupos metilenos

Essas fórmulas têm sido empregadas na literatura na determinação da composição de ácidos graxos<sup>(43)(44)(45)(46)(47)(48)</sup>.

**Tabela 7.** Composição percentual de ácidos graxos do óleo de girassol.

Composição de ácidos graxos		
Tipos de ácidos graxos	RMN <sup>1</sup> H	Literatura
Saturados	25%	15-40%
Oleico (C18:1)	31%	15-40%
Linoleico (C18:2)	28%	20-75%
Linolênico (C18:3)	16%	10-20%

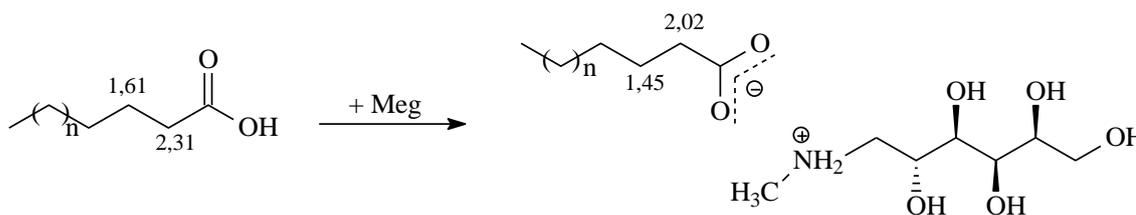
**Figura 9.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do óleo de girassol (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)



**Tabela 8.** Valores das áreas correspondentes as integrais dos hidrogênios presentes no RMN  $^1\text{H}$  do óleo de girassol.

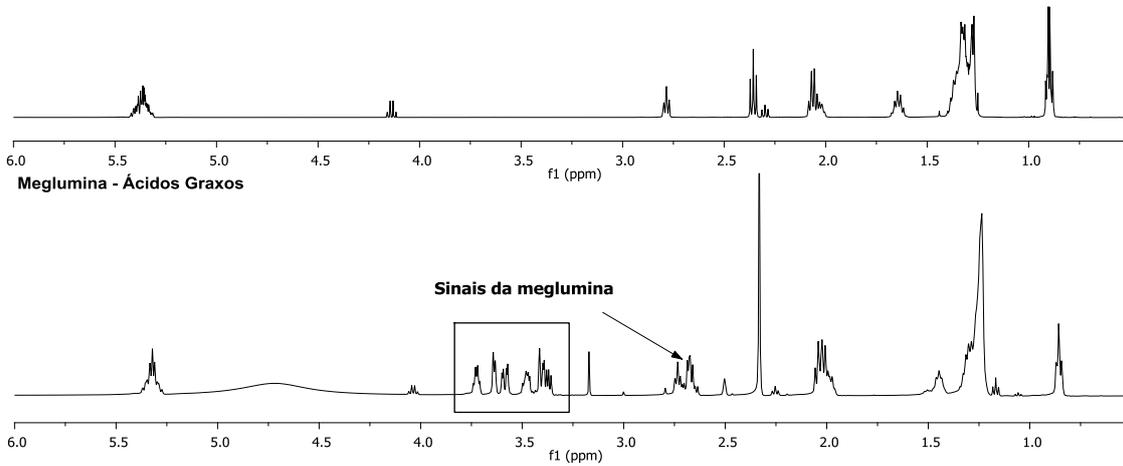
Sinal	Área	Identificação/Grupo funcional
A	4,97	Olefínicos / $-\text{CH}=\text{CH}-$
A'	1,00	Metileno do glicerol
B	3,11	Metileno do grupo glicerol / $-\text{CH}_2\text{OCOR}$
C	2,20	Metileno <i>bis</i> -alílico / $=\text{HC}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$
D	3,67	$\alpha$ -metileno / $-\text{OCO}-\text{CH}_2-$
E	5,97	Metileno alílico / $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$
F	3,88	$\beta$ -metileno / $\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
G	28,74	Metileno / $-(\text{CH}_2)_n$
H	3,69	Metílicos / $-\text{CH}_3$ (Ácido linoleico)
H'	0,70	Metílicos / $-\text{CH}_3$ (Ácidos saturados, oleico e linoleico)

A análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (FIGURA 8 E 10) demonstrou que as etapas de saponificação/extração dos ácidos graxos insaturados foram satisfatórias, uma vez que foi observada a ausência dos sinais entre  $\delta$  4,0 e 4,4 ppm, atribuído aos hidrogênios metilênicos ligados a oxigênio ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), presentes na estrutura do glicerol. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  que corresponde ao aduto mostrou a formação do par iônico meglumina e ácido graxo. Esta interação eletrostática levou a desblindagem dos hidrogênios vizinhos ao grupo carboxílico dos ácidos graxos. Observando-se que antes da interação os deslocamentos para os grupos metilênicos  $\alpha$ - e  $\beta$ - $\text{CH}_2$  ocorreram em  $\delta$  2,31 e 1,61 ppm, respectivamente, e após interação os valores passaram a ser  $\delta$  2,02 e 1,45 ppm.

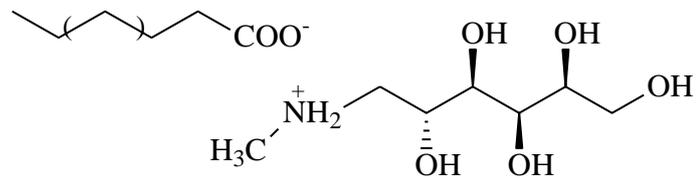


**Figura 10.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos ácidos graxos (extraído do óleo de girassol) e do aduto (AG-Meg).

Ácidos Graxos

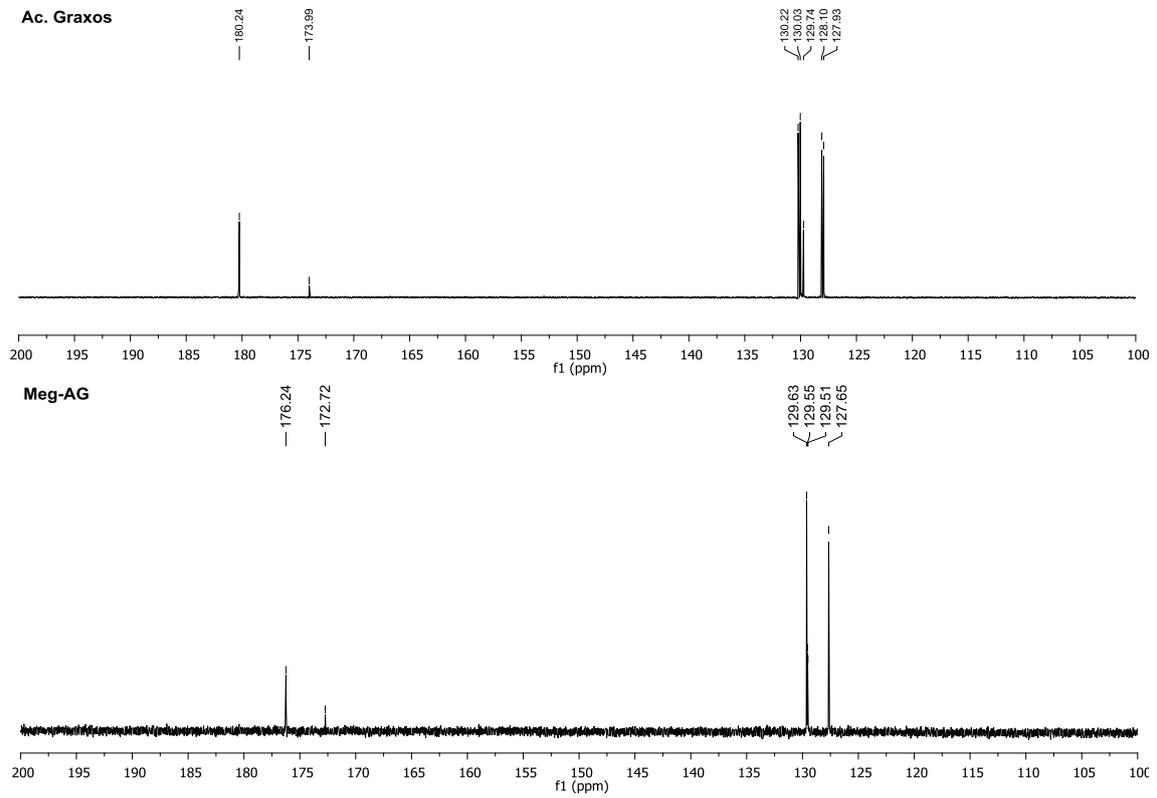


A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 11) confirmou a formação do aduto: ácido graxo-meglumina. A comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  foi possível observar a mudança dos deslocamentos das carbonilas de ácidos graxos de  $\delta$  180,2 e 179,3 ppm para  $\delta$  176,2 e 172,7 ppm atribuídas a interação entre os grupos carboxílicos dos ácidos graxos e ao grupo amina da meglumina.



**carboxilato - meglumina**

**Figura 11.** Comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos ácidos graxos insaturados (extraído do óleo de girassol) e do aduto AG-Meg.



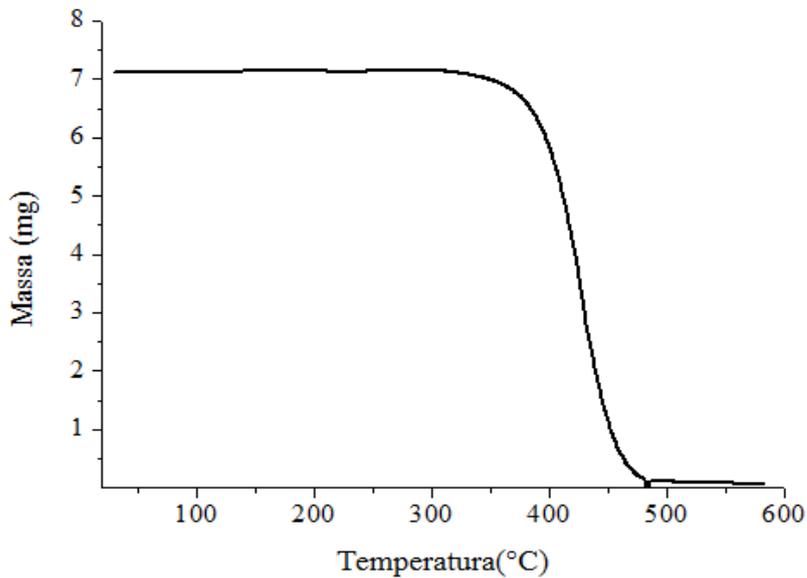
## **6.4. CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA (TG E DSC):**

Os comportamentos de cristalização e fusão de óleos vegetais e seus derivados são propriedades muito importantes que devem ser avaliadas em estudos prévios ao uso destes em processos industriais. Em geral este comportamento reflete a complexidade dessas espécies, considerando que estes são uma mistura de diferentes triglicerídeos. Adicionalmente, estes triglicerídeos podem cristalizar em diferentes estados polimórficos, correspondendo a distintos empacotamentos entre as cadeias de ácidos graxos, o que gera cristais com tamanho, forma e comportamento diferentes<sup>(41)</sup>. Dificilmente essas curvas TG fornecem a interpretação de reações exatas que ocorrem para compostos poliméricos, mas essas análises termogravimétricas demonstram ser um método apropriado para investigar a estabilidade térmica desses sistemas<sup>(42)</sup>.

### **6.4.1. Análise Termogravimétrica (TG)**

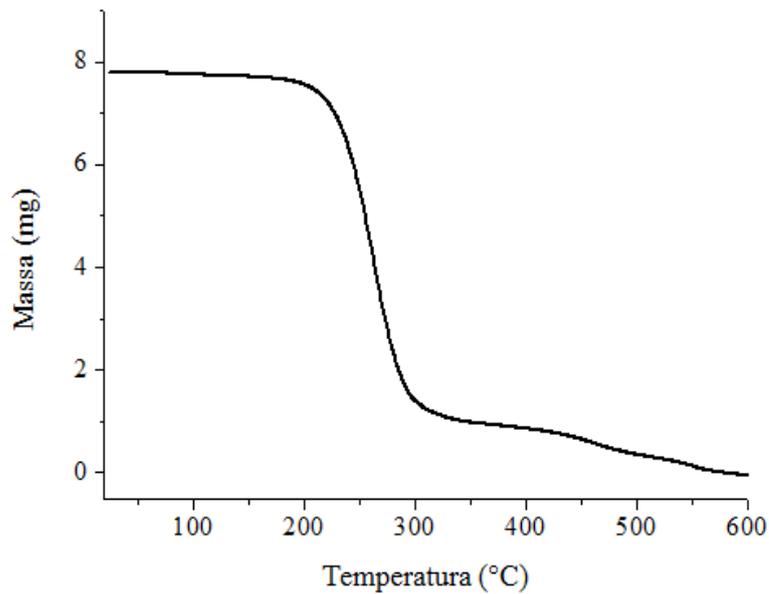
A curva TG (FIGURA 12) do óleo de girassol (OG) em atmosfera inerte apresentou um único pico endotérmico, provavelmente devido à decomposição térmica do óleo. O óleo estudado apresenta boa estabilidade térmica, uma vez que só começou a se decompor acima de 311°C.

**Figura 12.** Curva TG para o óleo de girassol obtida na faixa de temperatura de 30-600°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (fluxo = 50 mL min<sup>-1</sup>) e razão de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>.



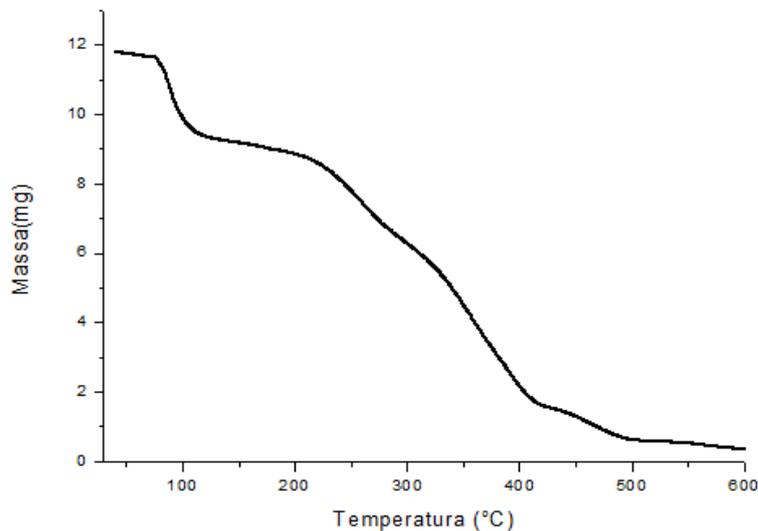
Na curva TG do AG (FIGURA 13) observa-se dois eventos principais de decomposição. Os eventos de decomposição foram consecutivos. Observa-se que a primeira perda de massa, que vai de 172°C até aproximadamente 370°C e um último evento que vai de 400°C em diante, onde a amostra degrada totalmente. Os ácidos graxos insaturados degradam em temperaturas normalmente acima de 170°C, a curva TG nos mostra que provavelmente os eventos de decomposição são referentes à degradação desses ácidos.

**Figura 13.** Curva TG para o ácido graxo extraído (AG) obtida na faixa de temperatura de 30-600°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (fluxo = 50 mL min<sup>-1</sup>) e razão de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>.



Na curva TG do aduto formado pelo ácido graxo com a meglumina (FIGURA 14) há dois eventos principais de decomposição, que foram consecutivos e demonstraram um mecanismo complexo. A primeira perda de massa, que vai de aproximadamente 70°C a pouco mais de 170°C deve ocorrer em função da perda de água e de acetato de etila residual na amostra. A decomposição do aduto ocorre em mais uma etapa, de aproximadamente 200°C em diante.

**Figura 14.** Curva TG do aduto AG-Meg obtida na faixa de temperatura de 30-600°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (fluxo = 50 mL min<sup>-1</sup>) e razão de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>.



O processo de termodecomposição de óleos vegetais pode ser estudado por análise termogravimétrica e relacionado à sua composição em ácidos graxos. Os dados podem ser vistos na tabela 6, e analisando a perda de massa de acordo com as temperaturas inicial e final pode-se verificar que o óleo de girassol quando comparado ao ácido graxo extraído dele e ao aduto formado juntamente com a meglumina possui maior estabilidade termo-oxidativa, degrada a uma temperatura alta, mas em compensação degrada quase completamente em uma só etapa. O ácido graxo extraído começa a se degradar em uma temperatura alta, que é justificado pela existência das insaturações presentes em sua cadeia e quando comparado com a degradação do aduto vemos que degrada há uma temperatura mais alta que o ácido, provavelmente por conta das interações eletrostáticas que mantém o ácido ligado a base meglumina.

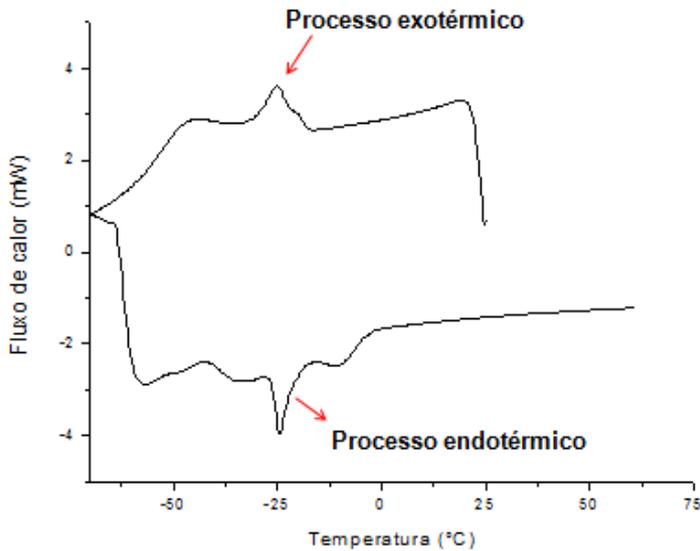
**Tabela 9.** Dados termogravimétricos extraídos das curvas TG do óleo de girassol, dos ácidos graxos extraídos do óleo e do aduto ácido AG-Meg.

Perfil TG								
Amostra	Temp. Inicial (°C)/ Temp. Final (°C)							
	Perda de Massa (%)							
	T <sub>i</sub>	T <sub>f</sub>	T <sub>i</sub>	T <sub>f</sub>	T <sub>i</sub>	T <sub>f</sub>	T <sub>i</sub>	T <sub>f</sub>
<b>OG</b>	311°C	480°C	-	-	-	-	-	-
	97,52%							
<b>AG</b>	172°C	370°C	400°C	570°C	-	-	-	-
	86%		14%					
<b>AG-Meg</b>	70°C	170°C	200°C	504°C	-	-	-	-
	20,26%		76,73%					

#### 6.4.2. Análise por Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

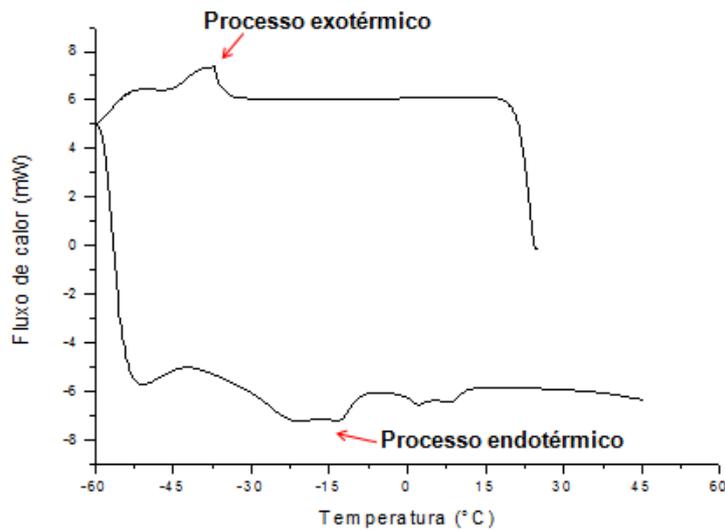
O DSC é uma das principais técnicas utilizadas na determinação das propriedades oxidativas de óleos comerciais. As razões de aquecimento/resfriamento, massa de amostra, fluxo de gás de purga e atmosfera praticamente não interferem nos perfis térmicos observados. A obtenção da curva DSC para o óleo de girassol (OG) é apresentada na FIGURA 15 onde se observa que quando este é submetido ao resfriamento de até -80°C, ocorre um evento principal com características de evento exotérmico, a -25°C. Este pode ser atribuído à cristalização completa dos constituintes do óleo de girassol. Na mesma figura, observa-se que o óleo de girassol quando aquecido apresenta um pico exotérmico pouco intenso entre -50 e -25°C e finalmente o pico endotérmico atribuído à fusão dos componentes do óleo próximo a -25°C.

**Figura 15.** Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o óleo de girassol (OG) obtida em atmosfera dinâmica de  $N_2$  ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ) utilizando-se 10-12 mg de amostra e razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ .



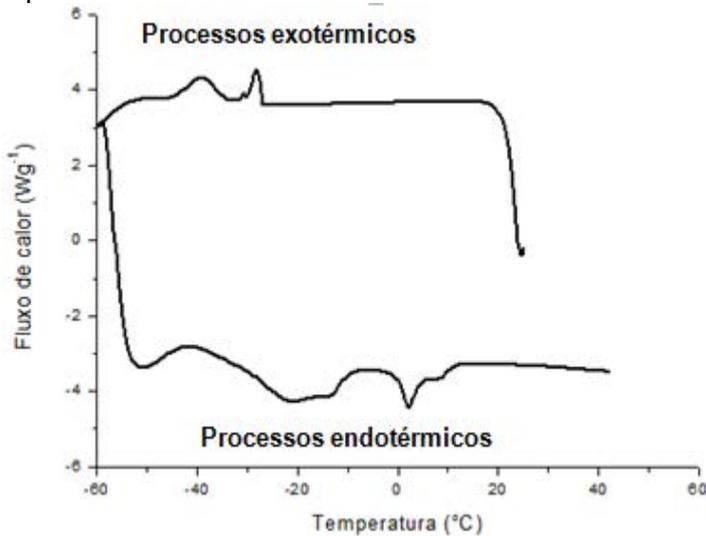
Na curva DSC para o AG (FIGURA 16) observou-se na curva de resfriamento que ocorre um evento principal com características de evento exotérmico, entre aproximadamente  $-30^\circ\text{C}$  e  $-40^\circ\text{C}$ . Este pode ser atribuído à cristalização completa dos seus constituintes. Na mesma FIGURA 16, observa-se que o ácido quando aquecido apresenta um pico exotérmico pouco intenso em aproximadamente  $-40^\circ\text{C}$  e dois picos endotérmicos, um entre  $-20^\circ\text{C}$  e  $-10^\circ\text{C}$  e outro entre  $0^\circ\text{C}$  e  $10^\circ\text{C}$ .

**Figura 16.** Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o ácido graxo (AG) extraído do óleo de girassol obtida em atmosfera dinâmica de  $N_2$  ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ) utilizando-se 10-12 mg de amostra e razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ .



Na curva DSC para o aduto ácido graxo-meglumina (FIGURA 17) observa-se na curva de resfriamento que ocorrem dois eventos com características de evento exotérmico, um entre  $-30^\circ\text{C}$  e  $-20^\circ\text{C}$  e outro entre  $-30^\circ\text{C}$  e  $-40^\circ\text{C}$ , aproximadamente. Estes podem ser atribuídos à cristalização dos seus constituintes. Na mesma figura observa-se que quando aquecido o aduto apresenta um pico exotérmico pouco intenso em aproximadamente  $-40^\circ\text{C}$  e dois picos endotérmicos, um entre aproximadamente  $-20^\circ\text{C}$  e  $-10^\circ\text{C}$  e outro entre  $0^\circ\text{C}$  e  $10^\circ\text{C}$ . Observa-se que quando comparado à curva DSC do ácido a diferença significativa está no processo de resfriamento, já que a provável cristalização dos constituintes se dá em dois eventos.

**Figura 17.** Curva DSC de resfriamento/aquecimento para o aduto AG-Meg obtida em atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub> (50 mL min<sup>-1</sup>) utilizando-se 10-12 mg de amostra e razão de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>.



## 6.5. CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA:

Essa análise foi realizada no intuito de identificar sistemas isotrópicos e anisotrópicos. Em sistemas isotrópicos suas propriedades são as mesmas em qualquer direção e não há desvio da luz polarizada, ao contrário dos sistemas anisotrópicos, em que suas propriedades dependem da direção da medida, que redireciona a luz permitindo a obtenção de informações acerca da estrutura da amostra.

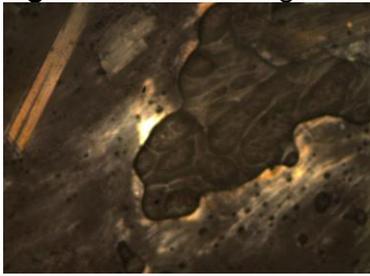
A agregação do composto ácido linoléico–meglumina em meio aquoso é direcionada por interações hidrofóbicas que surgem quando moléculas de água solvatam as cadeias alquílicas. Este evento conduz a organização das cadeias carbônicas que interagem entre si mediante forças de Van der Waals. Para que a polimerização supramolecular dos compostos carboxilato-meglumina ocorra em fase aquosa, além das interações hidrofóbicas e forças de van der Waals, ligações de H entre grupos hidroxila da meglumina devem ser estabelecidas sendo possível alcançar, ambos uma constante de dimerização entre os pares iônicos e grau de polimerização apreciáveis, permitindo observar as propriedades poliméricas destes compostos mais do que suas propriedades surfactantes.

A dissolução do composto em água conduzida sob aquecimento, levou a formação de misturas bastante viscosas com aspecto de gel quando resfriadas à

temperatura ambiente. A concentração das espécies foi determinante para se observar tal característica, de forma que as misturas apresentaram o aspecto de gel mais homogêneo, a partir de 60,0% (FIGURA18). Ao aquecer as misturas observamos que a dissolução do composto se deu em aproximadamente 60°C, a partir da qual a solução tornou-se transparente. Diante do comportamento dos compostos carboxilato-meglumina em meio aquoso, a elevada viscosidade pode ser explicada pela polimerização e imobilização da água e também pela formação de uma fase líquido-cristalina hexagonal indicada por microscopia de luz polarizada. Mesofases escoam como líquidos, mas suas moléculas ficam em um arranjo moderadamente ordenado o que aumenta a viscosidade. Devido a essa ordem os cristais líquidos são anisotrópicos, ou seja, suas propriedades dependem da direção da medida, diferentemente para os líquidos comuns que são isotrópicos e suas propriedades são as mesmas em qualquer direção.

Todas as amostras foram adquirindo uma maior viscosidade com o passar do tempo à temperatura ambiente, e ao serem analisadas no microscópio apresentaram anisotropia característica de mesofases líquido cristalinas. Pode-se perceber também a presença de estrias e cruces de malta, texturas características de fases hexagonal e lamelar respectivamente.

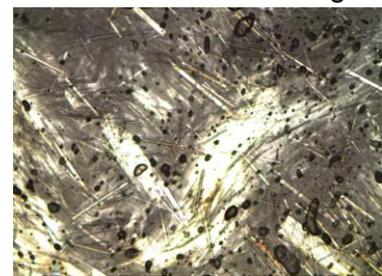
**Figura 18.** Fotomicrografias dos adutos ácido graxo-meglumina ao se acrescentar água.



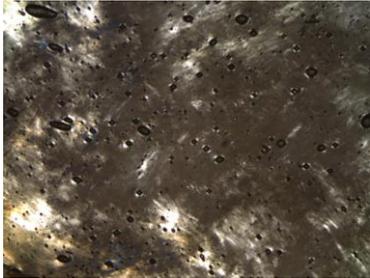
(10% de água)



(20% de água)



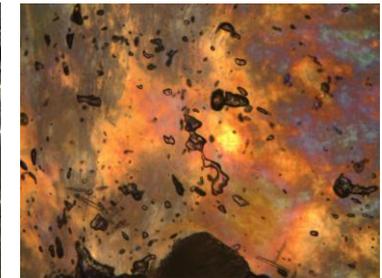
(30% de água)



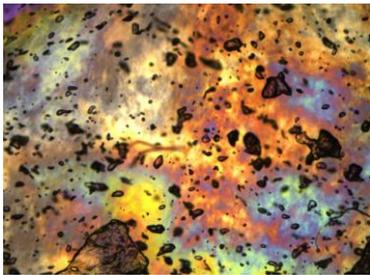
(40% de água)



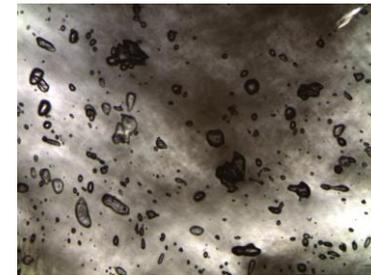
(50% de água)



(60% de água)



(70% de água)



(80% de água)



(90% de água)

## 7. CONCLUSÕES

O estudo estrutural dos ácidos graxos extraídos do óleo de girassol evidenciou que o processo de extração e purificação ocorreu como esperado. O trabalho teve como objetivo o estudo da interação desses ácidos graxos com a meglumina, com a obtenção dos espectros ficou evidente através da análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  que não houve a formação de novas ligações covalentes durante a formação do aduto, isso era o esperado já que polímeros supramoleculares não são produtos de reações químicas de adição ou condensação, mas sim da auto-organização das suas unidades monoméricas através de interações eletrostáticas.

As técnicas de TG e DSC demonstraram que as propriedades térmicas dos adutos são diferentes do ácido e do óleo de girassol, demonstrando inclusive que há a interação do ácido com a meglumina já que durante o resfriamento e o aquecimento no DSC observa-se que a amostra cristaliza e funde em duas etapas.

Os resultados apresentados sugeriram que as ligações de hidrogênio podem ser as responsáveis pelo processo de auto-organização devido à presença dos grupos hidroxilas que agem simultaneamente como doadores e aceitadores da ligação, isso ficou mais evidente ainda ao se acrescentar água em diferentes percentuais, já que a água favorece mais ainda a formação de polímeros supramoleculares.

## REFERÊNCIAS

- 1 POHL, M.; SCHALLER, J.; MEISTER, F.; HEINZE, T. Novel bulky esters of biopolymers: dendritic cellulose. **Macromolecular Symposia**, v. 262, p. 119-128, 2008.
- 2 GREEF, T. F. A.; MEIJER, E. W. Supramolecular polymers. **Nature**, v. 453, p. 171-173, 2008.
- 3 CASSIMIRO, D. L.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.; CAPELA, J. M. V.; CAPELA, M. V. Kinetic parameters for thermal decomposition of supramolecular polymers derived from flunixin-meglumine adducts. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 105, n. 2, p. 405-410, 2011.
- 4 CASSIMIRO, D. L.; KOBELNICK, M.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.; BORALLE, N. Structural aspects, thermal behavior, and stability of self-assembled supramolecular polymer derived from flunixin meglumine supramolecular adducts. **Thermochimica Acta**, v. 529, p. 59-67, 2012.
- 5 FERREIRA, L. M. B. **Síntese e caracterização de adutos óleo de rícino maleinizado-meglumina como potenciais carreadores de fármacos**. 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.
- 6 GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa**. 2003. 149 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos/Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- 7 VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. São Paulo: Varela, 2006. 120 p.
- 8 BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 2.
- 9 MACEDO, C. E. C.; SILVA, N. B.; LICHSTON, J. E. **Organização e diferenciação celular**. 2. ed. Natal: Ed. UFRN, 2012. 262 p.
- 10 LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p.
- 11 MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002. 1179 p.
- 12 SALEM, N. Jr. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1999.

- 13 WENDT, S. B. T. **Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais.** 2005. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2005.
- 14 MARQUES, S. R.; PEIXOTO, C. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; SILVA JÚNIOR, V. A. The effects of topical application of sunflower-seed oil on open wound healing in lambs. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 3, p. 196-205, 2004.
- 15 GLASGOW, W. C.; ELING, G. T. Epidermal growth factor simulates linoleic acid metabolic in BAB/C 3T3 fibroblast. **Molecular Pharmacology**, v. 38, p. 503-510, 1990.
- 16 VOET, D.; VOET, G. J.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica.** Porto Alegre: Editora Artmed, 2000. 931 p.
- 17 OLIVEIRA, M. F.; VIEIRA, O. V. Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa. **Documentos/Embrapa Soja**, n. 237, 2004. Disponível em: <[http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/documento\\_237.pdf](http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/documento_237.pdf)>. Acesso em: 09 jun. 2015.
- 18 MORETTO, E.; FEET, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 1998. 150 p.
- 19 OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos.** São Paulo: Manole, 2006. 632 p.
- 20 GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. (Ed.). **The lipid handbook.** 3rd ed. New York: CRC Press, 2007. 783 p.
- 21 GAZZOLA, A.; FERREIRA JÚNIOR, C. T. G.; CUNHA, D. A.; BORTOLINI, E.; PAIÃO, G. D.; PRIMIANO, I. V.; PESTANA, J.; D'ÁNDREA, M. S. C.; OLIVEIRA, M. S. **A cultura do girassol.** Piracicaba: ESALQ, 2012. 69 f. Trabalho didático. Disponível em: <<http://www2.esalq.usp.br/departamentos/lpv/lpv506/LPV-0506%20-%20GIRASSOL%20APOSTILaO%202012.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2015.
- 22 MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, R. M. S.; GONCALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (terc butil hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1053-1057, 2008.
- 23 HALL, A. J. **Advances in the physiology of the sunflower crop: a ten-year progress report.** In: INTERNATIONAL SUNFLOWER CONFERENCE, 16th, 2004, Fargo. **Proceedings...** Paris: International Sunflower Association, 2004. v. 1, p. 29-41. Disponível em: <<http://isasunflower.org/fileadmin/documents/aaProceedings/16thISCFargo-vol1/paper29-42.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2015.

- 24 ZOBIOLE L. H. S.; CASTRO C.; OLIVEIRA F. A.; OLIVEIRA JUNIOR, A. Marcha de absorção de macronutrientes na cultura do girassol. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 2, p. 425-434, 2010.
- 25 OLIVEIRA JUNIOR, L. A. T. **Efeitos do uso tópico de óleo de semente de girassol (*Helianthus annuus*) em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos**. 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha, 2010.
- 26 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/82d8d2804a9b68849647d64600696f00/RDC\\_n\\_270.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/82d8d2804a9b68849647d64600696f00/RDC_n_270.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 20 jan. 2015.
- 27 MANDARINO, J. M. G. Características bioquímicas e nutricionais do óleo e do farelo de girassol. **Documentos/Embrapa Soja**, n. 52, 1992. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/445477/1/doc052.pdf>>. Acesso em: 09 jun. 2015.
- 28 STEED, J. W.; ALTHOOD, J. L. **Supramolecular chemistry**. 2nd ed. Chichester: Wiley, 2009. 1002 p.
- 29 BINDER, W. H. (Ed.). **Hydrogen bonded polymers**. New York: Springer, 2007. 206 p.
- 30 LEHN, J. Toward self-organization and complex matter. **Science**, v. 295, p. 2400-2403, 2001.
- 31 BURNWORTH, M.; TANG, L.; KUMPFER, J. R.; DUNCAN, A. J.; BEYER, F. L.; FIORE, G. L.; ROWAN, S. J.; WEDER, C. Optically healable supramolecular polymers. **Nature**, v. 472, p. 334-337, 2011.
- 32 ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S. C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 5th ed. London: Pharmaceutical Press, 2006. 918 p.
- 33 CAO, X. J.; SUN, C. R.; PAN, Y. J. The complex of flunixin and meglumine. **Acta Crystallographica**, v. 59, p. 1471-1473, 2003.
- 34 BASAVARAJ, S.; SIHORKAR, V.; KUMAR, T. R.; SUNDARAMURTHI, P.; SRINIVAS, N. R.; VENKATESH, P.; RAMESH, H.; SINGH, S. K. Bioavailability enhancement of poorly water soluble and weakly acidic new chemical entity with 2-hydroxy propyl- $\beta$ -cyclodextrin: selection of meglumine, a polyhydroxy base, as a novel ternary component. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 11, p. 443-451, 2006.
- 35 GRUPTA, P.; BANSAL, A. K. Ternary amorphous composites of celecoxib, polyvinyl pyrrolidone and meglumine with enhanced solubility. **Pharmazie**, v. 60, p. 830-836, 2005.

- 36 GRUPTA, P.; BANSAL, A. K. Molecular interactions in celecoxib-PVP-meglumine amorphous systems. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v. 57, p. 303-310, 2005.
- 37 PALEOS, C. M.; TSIOURVAS, D. Supramolecular hydrogen-bonded liquid crystals. **Liquid Crystals**, v. 28, p. 1127-1161, 2001.
- 38 MISHRA, B.; PATEL, B. B.; TIWARI, S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 9-24, 2010.
- 39 MACKENZIE, R. C. Nomenclature in thermal analysis, part. IV. **Termochimica Acta**, v. 28, n. 1, p. 1-6, 1979.
- 40 IONASHIRO, M. **Giolito**: fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial. São Paulo: Giz, 2005. 80 p.
- 41 WENDLANDT, W. W. **Thermal methods of analysis**. 2nd ed. New York: Interscience Publishers, 1974. 524 p.
- 42 CAPONERO, J.; TENÓRIO, J. A. S. **Técnicas de análise térmica**. Disponível em:  
<[http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1\\_multipart\\_xF8FF\\_9\\_ANALISE\\_TERMICA PMI-2201.pdf](http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1_multipart_xF8FF_9_ANALISE_TERMICA PMI-2201.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2015.
- 43 HOPKINS, C.; BERNSTEIN, H. Applications of proton magnetic resonance spectra in fatty acid chemistry. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 37, n. 4, p. 775-782, 1959.
- 44 MIYAKE, Y.; YOKOMIZO, K.; MATSUZAKI, N. Determination of unsaturated fatty acid composition by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, n. 9, p. 1091-1094, 1998.
- 45 MIYAKE, Y.; YOKOMIZO, K.; MATSUZAKI, N. Rapid determination of iodine value by  $^1\text{H}$  nuclear resonance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, n. 1, p. 15-19, 1998.
- 46 MANNINA, L.; SEGRE, A. High resolution nuclear magnetic resonance: from chemical structure to food authenticity. **Grasas y Aceites**, v. 53, n. 1, p. 22-33, 2002.
- 47 GUILLEN, M. D.; RUIZ, A. Rapid simultaneous determination by proton NMR of unsaturation and composition of acyl groups in vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 105, n. 11, p. 688-696, 2003.
- 48 SKIERA, C.; STELIOPOULOS, P.; KUBALLA, T.; HOLZGRABRE, U.; DIEHL, B. Determination of free fatty acids in edible oils by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy of steels. **Lipid Technology**, v. 24, n. 12, p. 279-281, 2012.