

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE MICROEMULSÕES EM MISTURAS DE
SURFACTANTE/ÁGUA/ÓLEOS VEGETAIS E INTERAÇÃO COM VITAMINAS E
SAIS**

Marcos Alexandre Polizelli

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular.

São José do Rio Preto – SP

08 de novembro de 2007

Polizelli, Marcos Alexandre.

Estudo da formação de microemulsões em misturas de
surfactante/água/óleos vegetais e interação com sais e vitaminas / Marcos
Alexandre Polizelli. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2007.

98 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Eloi da Silva Feitosa
Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Físico-Química. 2. Química de superfície. 3. Colóides. 4.
Microemulsões. 5. Tensoativos. I. Feitosa, Eloi da Silva. II.
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e
Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 66-911.48

MARCOS ALEXANDRE POLIZELLI

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE MICROEMULSÕES EM MISTURAS DE
SURFACTANTE/ÁGUA/ÓLEOS VEGETAIS E INTERAÇÃO COM VITAMINAS E
SAIS**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa

Profa. Dr. Adalberto Pessoa Junior

Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira

Prof. Dr. Marcio José Tiera

Profa. Dra. Iêda Aparecida Pastre Fertoni

Prof. Dr. Watson Loh

Profa. Dra. Maria Elisabete Darbello Zaniquelli

Profa. Dra. Vera Aparecida de Oliveira Tiera

São José do Rio Preto, 08 de novembro de 2007.

DADOS CURRICULARES

MARCOS ALEXANDRE POLIZELLI

NASCIMENTO	20.10.1976 – S. J. RIO PRETO/SP
FILIAÇÃO	Onivaldo Polizelli Izaura Caseri Polizelli
03/96 à 12/96	Curso de Graduação em Engenharia Mecânica– Universidade Estadual Paulista
01/97 à 12/00	Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual Paulista
03/01 à 06/03	Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, nível mestrado, na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de São José do Rio Preto/SP.
09/03 à 09/07	Curso de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, nível doutorado, na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de São José do Rio Preto/SP.

À minha saudosa mãe Izaura, meu pai e irmã e sobrinho, Onivaldo, Elaine e Gabriel, e, minha Patricia, os quais muito amo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente à Deus.

Ao Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa, pela orientação durante o doutorado.

À Profa. Dra. Vânia Regina Nicoletti Telis pelo apoio e sugestões feitas no decorrer do trabalho.

Às Profas. Dras. Ana Lúcia Barreto Penna, Neuza Jorge, Maria Elisabete Darbello Zaniquelli e Lia Q. do Amaral pela ajuda na realização dos experimentos de reologia, estabilidade oxidativa, espalhamento dinâmico de luz e espalhamento de raios-X a baixo ângulo, respectivamente.

À todos os professores do Departamento de Física, que de uma forma direta ou indireta, colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos TÉCNICOS e SECRETARIA do Departamento de Física, pela ajuda no desenvolvimento do projeto.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro (Proc. 03/04478-0) e também pelo acompanhamento dos relatórios encaminhados.

O que sei é uma gota.

O que ignoro é um oceano.

Isaac Newton

(1643-1727)

ÍNDICE

	Página
Índice de Figuras.....	6
Índice de Tabelas.....	11
Símbolos.....	12
Resumo	14
Abstract	15
1. Introdução.....	16
1.1. Surfactantes.....	16
1.2. Microemulsões (MEs).....	18
1.2.1. Estruturas de Microemulsões.....	22
1.2.2. Fases de Winsor.....	11
1.2.3. Mecanismo de Formação de Microemulsões	28
1.3. Bis (2-etilhexil)sulfosuccinato de sódio (AOT)	31
1.4. Fosfatidilcolina (FC)	32
1.5. Monooleína (MO)	34
1.6. Óleo de Soja (OS).....	35
1.7. Óleo Essencial de Laranja (OEL).....	36
1.8. Vitaminas e Sais.....	37
1.8.1. Ácido Fólico (AF).....	38
1.8.2. Ácido Ascórbico (AA)	38
1.8.3. Sulfato Ferroso.....	39
1.9. Métodos de investigação.....	40
1.9. 1. Reologia.....	40
1.9.2. Condutividade Elétrica.....	42
1.9.3. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	42
1.9.4. Espalhamento de Raio X à Baixo Ângulo (SAXS)	43
2. OBJETIVOS.....	45
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1. Componentes.....	46
3.2. Diagramas de Fases.....	46
3.3. Fração Volumétrica da Fase Dispersa.....	48
3.4. Reologia.....	49
3.5. Condutividade Elétrica.....	50

3.6. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	50
3.7. Espalhamento de Raio X à Baixo Ângulo (SAXS)	50
3.8. Estabilidade Oxidativa.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Sistema óleo de soja/FC:AOT/ /água.....	52
4.1.1. Diagramas de Fases.....	52
4.1.2. Reologia.....	56
4.2. Sistema MO/AOT/óleo de soja/água.....	60
4.2.1. Diagramas de Fases.....	60
4.2.2. Reologia.....	62
4.2.3. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	68
4.2.4. Espalhamento de Raio-X à Baixo Ângulo.....	70
4.2.5. Região L_2' de Estruturas Secas.....	72
4.3. Sistema AOT/óleo essencial/água.....	75
4.3.1. Diagrama de Fases.....	75
4.3.2. Reologia.....	77
4.3.3. Condutividade Elétrica.....	80
4.3.4. Espalhamento de Raio-X à Baixo Ângulo (SAXS).....	82
4.4. Propriedades físico-químicas das MEs.....	85
4.4.1. Solubilização de Compostos Hidrofílicos nas MEs.....	85
4.4.2. Viscosidade.....	86
4.4.3. Estabilidade à Temperatura.....	87
4.4.4. Estabilidade Oxidativa.....	87
5. CONCLUSÕES.....	90
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
ANEXO – Artigos Publicados.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1:	Esquema de Fontell: Seqüência de estruturas de agregados de surfactantes em solução. A concentração de surfactante aumenta de cima para baixo (copiado de Jönsson <i>et al.</i> , 1998).....	17
Figura 2:	Representação esquemática da estrutura de uma ME de água em óleo A/O. A região mais escura representa a água enquanto a região clara representa o óleo	22
Figura 3:	Representação esquemática da estrutura de uma ME de óleo em água O/A. A região mais escura representa a água enquanto a região clara representa o óleo.....	24
Figura 4:	Representação esquemática da estrutura de uma ME bicontínua (Sjöblom, et al., 1996).....	24
Figura 5:	Representação esquemática das fases de Winsor.....	27
Figura 6:	Estrutura química de bis (2-etilhexil)sulfosucianato de sódio (AOT).....	32
Figura 7:	Diagrama de fases binário de AOT/água, a 25°C (L ₁ micelar isotrópica, H ₂ = hexagonal reversa). Adaptado de Jönsson <i>et al.</i> (1998).....	32
Figura 8:	Estrutura química de fosfatidilcolina (FC), principal fosfolípido encontrado na lecitina.....	33
Figura 9:	Diagrama de fases de FC/água, a 25°C (I = cúbica, L _α = lamelar, W = água, a região cinza é de cristais hidratados de lecitina). Adaptado de Jönsson (1998).....	33
Figura 10:	Estrutura química da monooleína (MO).....	34
Figura 11:	Diagrama de fases binário de MO/água, a 25°C (L _C : fase lamelar cristalina; L _α : fase lamelar líquido cristalina; H ₂ : Cúbica reversa, a faixa em branco é uma região de duas fases). Adaptado de Briggs <i>et al.</i> (1996).....	35

Figura 12: Estrutura química do Limoneno e do Linalol, principais componentes do óleo essencial da casca de laranja.....	36
Figura 13: Estrutura química do ácido fólico (folato).....	38
Figura 14: Estrutura química do ácido ascórbico (vitamina C).....	39
Figura 15: Triângulo de Gibbs para a construção de diagramas de fases ternários, contendo linhas de diluição.....	47
Figura 16: Diagramas de pseudoternários de óleo de soja/FC:AOT/água para razões de FC:AOT de 1:2, 1:1 e 2:1. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs.....	53
Figura 17: Diagrama de Fases pseudoternários de óleo de sojaFPC:AOT(1:1)/Solução aquosa NaCl a 0, 2, 5, 8, 11 e 15%. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs.....	55
Figura 18: Área de formação de MEs versus fração mássica de NaCl em solução aquosa.....	56
Figura 19: Tensão de cisalhamento versus taxa de deformação para amostra encontrada na linha de diluição 95:5 (óleo:surfactante) sem água, no diagrama FC:AOT 1:1.....	57
Figura 20: Viscosidade vs linha de diluição (x:y) para o sistema OS/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl (11%), para dois conteúdos aquosos (0 e 2%). A seta indica o ponto de inversão das curvas	59
Figura 21: Viscosidade vs conteúdo aquoso para o sistema OS/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl (11%), para a linha de diluição 30:70.....	60
Figura 22: Diagramas de fases ternario e pseudoternarios para os sistemas óleo de soja/MO/água e óleo de soja/MO:AOT/água para razões de MO:AOT de 1:1, 2:1 e 3:1. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs.....	61
Figura 23: Tensão de cisalhamento versus taxa de deformação para amostra encontrada na linha de diluição 100:0 (óleo:surfactante) com uma fração mássica de água de 0,15. No diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	63

Figura 24: Viscosidade Relativa versus fração mássica de água para a linha de diluição 50:50, 60:40 e 70:30 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	64
Figura 25: Viscosidade Relativa versus fração mássica de água para a linha de diluição 75:25, 85:25, 90:10 e 100:0 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	65
Figura 26: Viscosidade relativa vs. fração volumétrica micelar para a linha de diluição 80:20 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	66
Figura 27: Viscosidade relativa vs. fração volumétrica micelar para a linha de diluição 85:15 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	66
Figura 28: Viscosidade Relativa vs. fração volumétrica micelar para a linha de diluição 90:10 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.....	67
Figura 29: Curva típica de DLS para MEs dos sistema óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água, na linha de diluição $x:y = 85:15$, e fração mássica de água $X_{\text{Água}} = 0,19$	69
Figura 30: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema pseudoternário óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água. L_2 e L_2' . As curvas referem-se a uma amostra de óleo, ao capilar vazio, e a pontos sobre a linha de diluição 75:25 com 0, 5 e 20% de água (os dois primeiros estão na região de interação intermicelar forte e o terceiro na região de interação menor)	70
Figura 31: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema pseudoternário óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água. L_2 e L_2' . As curvas referem-se a uma amostra de óleo puro, ao capilar vazio, e a pontos sobre a linha de diluição 85:15 com 2 e 22% de água (regiões de interação intermicelar mais e menos fortes respectivamente).....	71
Figura 32: Esquema de um modelo sugerido para uma estrutura lamelar seca na fase L_2'	74
Figura 33: Esquema de um modelo sugerido para as micelas reversas formadas na fase L_2	75

Figura 34: Diagrama ternário de fases do sistema óleo essencial de laranja/AOT/água (L_1 : micelar isotrópica, L_2 : micelar reversa isotrópica, L_C : Fase líquido-cristalina).....	77
Figura 35: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 60:40.....	78
Figura 36: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 50:50.....	79
Figura 37: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 40:60.....	80
Figura 38: Condutividade versus fração mássica de água para as linhas de diluição (OEL:AOT) 40:60 e 50:50.....	82
Figura 39: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema ternário OEO/AOT/água. As curvas referem-se a pontos sobre a linha de diluição 50:50 com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de água.....	83
Figura 40: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema ternário OEL/AOT/água. As curvas referem-se a uma amostra de OEL puro, e a pontos sobre a linha de diluição 35:65 com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de água.....	84

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Parâmetros obtidos com o ajuste da equação de Mooney aos dados de viscosidade relativa em função da fração micelar volumétrica.....	67
Tabela 2: Diâmetro e polidispersidade das micelas reversas da região de ME W/O do diagrama de óleo/monooleína:AOT (2:1)/água.....	69
Tabela 3: Viscosidade do óleo de soja comercial e de MEs de alguns sistemas.....	87
Tabela 4: Tempo de indução do óleo de soja comercial e das MEs enriquecidas.....	89

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

λ : comprimento de onda

ρ : densidade

ϕ : fração volumétrica

Ω : número de estados possíveis para o sistema

τ : tensão de cisalhamento

γ : tensão interfacial

η : viscosidade do sistema

ν : viscosidade intrínseca da dispersão

μ_i : potencial químico do componente i

ϕ_m : fração máxima de empacotamento

η_r : viscosidade relativa

η_s : viscosidade da fase contínua

•

$\dot{\gamma}$: taxa de deformação

A: área interfacial

a: área ocupada pelo grupo polar

AA: ácido ascórbico

AF: ácido fólico

a_i : atividade do componente i

AOT: bis(2-etilhexil)sulfosuccinato de sódio

b: constante relacionada à viscosidade intrínseca da dispersão

c: constante relacionada com a interação entre as partículas

CMC: concentração micelar crítica

D_H : diâmetro hidrodinâmico

DLS: espalhamento dinâmico de luz

f: fugacidade

FC: fosfatidilcolina

G: energia livre de Gibbs

H: entalpia

H_2 : fase hexagonal reversa

I: fase cúbica

k: constante de Boltzmann
L α : fase lamelar
l: comprimento da cadeia hidrofóbica
L₁: fase micelar normal
L₂: fase micelar reversa
L₂' : fase micelar reversa "seca"
L_c: fase líquido cristalina
m: massa
ME: microemulsão
MO: monooleína
n_i: número de mols em excesso na interface do componente i
O/W: óleo em água
OEL: óleo essencial de laranja
OS: óleo de soja
p: parâmetro de empacotamento
q: ângulo de espalhamento
r: coeficiente de correlação
R: constante dos gases
S: entropia
SAXS: espalhamento de raio X à baixo ângulo
T: temperatura
TG: triglicerídeos
V: volume
v: volume da cadeia hidrofóbica
W/O: água em óleo
X: fração mássica
x_i: fração molar do componente i

RESUMO

Foram construídos diagramas de fases ternários e pseudo-ternários parciais a 25 °C dos sistemas: óleo de soja (OS)/Monooleína(MO):Bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (AOT)/água (*a*), OS/L α -fosfatidilcolina(FC):Bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (AOT)/solução aquosa de NaCl (*b*), e óleo essencial de laranja (OEL)/AOT/água (*c*), a fim de identificar fases de microemulsões (ME) de água em óleo (W/O). Para o sistema (*a*) a área da fase de MEs no diagrama de fases depende da razão MO:AOT, sendo maior para a razão 2:1. Experimentos reológicos, de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) indicam a existência de uma ME de água em óleo (W/O) esférica (região L₂), e estruturas lamelares locais (região L₂'). Na ausência de NaCl os diagramas de fases do sistema (*b*) exibem uma fase de ME com áreas dependentes da razão FC:AOT; sendo a maior para a razão 1:1. A área da fase de MEs no diagrama aumenta com a concentração de NaCl até a saturação ao redor de 11% (m/m) de sal. Neste sistema também foram identificadas MEs esféricas e agregados "secos" não esféricos. Para o sistema (*c*) foram identificadas duas monofases, uma isotrópica de ME W/O (L₂) e uma fase líquido-cristalina. A região de ME W/O (L₂) também mostrou ser composta por dois tipos de agregados, esféricos e não esféricos, como indicado por experimentos de reologia, condutividade elétrica e SAXS. Aditivos alimentares (ácido ascórbico, ácido fólico, cloreto de sódio e sulfato ferroso) foram incorporados nas MEs (*a* e *b*). As viscosidades dessas MEs enriquecidas aproximam-se do óleo de soja puro. As MEs também mostraram ter estabilidade oxidativa, em alguns casos próxima e em outros até oito vezes superior à do óleo de soja puro, exceto para MEs enriquecidas com ferro. Tais resultados indicam que as MEs enriquecidas com nutrientes apresentam grande potencial para aplicação. Também, conclui-se que o ácido ascórbico incorporado nas MEs pode atuar como um antioxidante do óleo de soja.

Palavras Chave: microemulsão, micelas reversas, estruturas secas, diagramas de fase, óleos vegetais, surfactante, reologia, espalhamento de luz, SAXS.

ABSTRACT

Partial ternary and pseudoternary phase diagrams at 25 °C were built for the systems soy bean oil (SOB)/monoolein (MO)/sodium bis-2-(ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT)/water (a), soy bean oil/L α -phosphatidylcholine (PC)/sodium bis-2-(ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT)/aqueous NaCl solution (b), and orange essential oil (OEO)/sodium bis-2-(ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT)/water (c), and the phases consisting of water-in-oil (W/O) microemulsion (ME) were identified. For system (a) the area of the ME phase depends on the MO:AOT ratio, being larger for ratio 2:1. Rheology, dynamic light scattering and small angle X ray scattering (SAXS) measurements indicate the existence of water-in-oil (W/O) spherical MEs (L_2 region), and a local lamellar structure (region L_2'). In absence of NaCl the phase diagram for system (b) exhibits an isotropic phase of ME that depends on the PC:AOT ratio; being larger for ratio 1:1. Furthermore, the phase area for MEs in the diagram increases with NaCl concentration up to saturation at around 11 wt% salt. In this system it was also identified spherical MEs and non spherical "dry" aggregates. For system (c) two single phases were identified, a W/O ME isotropic (L_2) and a liquid crystalline phase, and a two-phase region. The ME region (L_2) also showed be formed by spherical and non spherical aggregates, as suggested by rheological, electric conductivity and SAXS experiments. Food grade additives (ascorbic acid, folic acid or ferrous sulfate) were incorporated into ME droplets in system (a and b). The viscosity of such ME approaches that of pure SBO. Moreover, these ME present oxidative stability up to eight-fold the pure SBO. Exception is for ME enriched with iron. Such results indicate that ME enriched with nutrients present a high potential for application. It can also be concluded that the MEs with ascorbic acid can act as antioxidant for SBO.

Keywords: microemulsion, reverse micelle, dry structures, phase diagram, vegetable oil, surfactant, rheology, light scattering, SAXS.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Surfactantes

Surfactantes são moléculas de natureza anfifílica, consistindo de duas partes, uma hidrofílica e a outra hidrofóbica. Os surfactantes são classificados com base na carga do grupo polar, em aniônicos, catiônicos, não-iônicos e zwitteriônicos ou bipolares.

Em solução, surfactantes podem agregar em uma variedade de estruturas, obedecendo ao esquema de Fontell mostrado na Figura 1 (Jönsson et al., 1998), segundo o qual, aumentando-se a concentração de surfactante na mistura surfactante/água, a estrutura formada obedece à seqüência: micela esférica, fase cúbica, micela cilíndrica, fase hexagonal, cúbica, lamelar e as correspondentes estruturas e fases reversas.

O surgimento destas fases não necessariamente ocorre para todos os surfactantes, porém a seqüência em função da concentração é, na maioria dos casos, respeitada. O conhecimento das fases de um sistema surfactante/água é da maior importância em aplicações práticas, pois cada fase possui uma característica específica que determina as propriedades físico-químicas da solução (Jönsson et al., 1998).

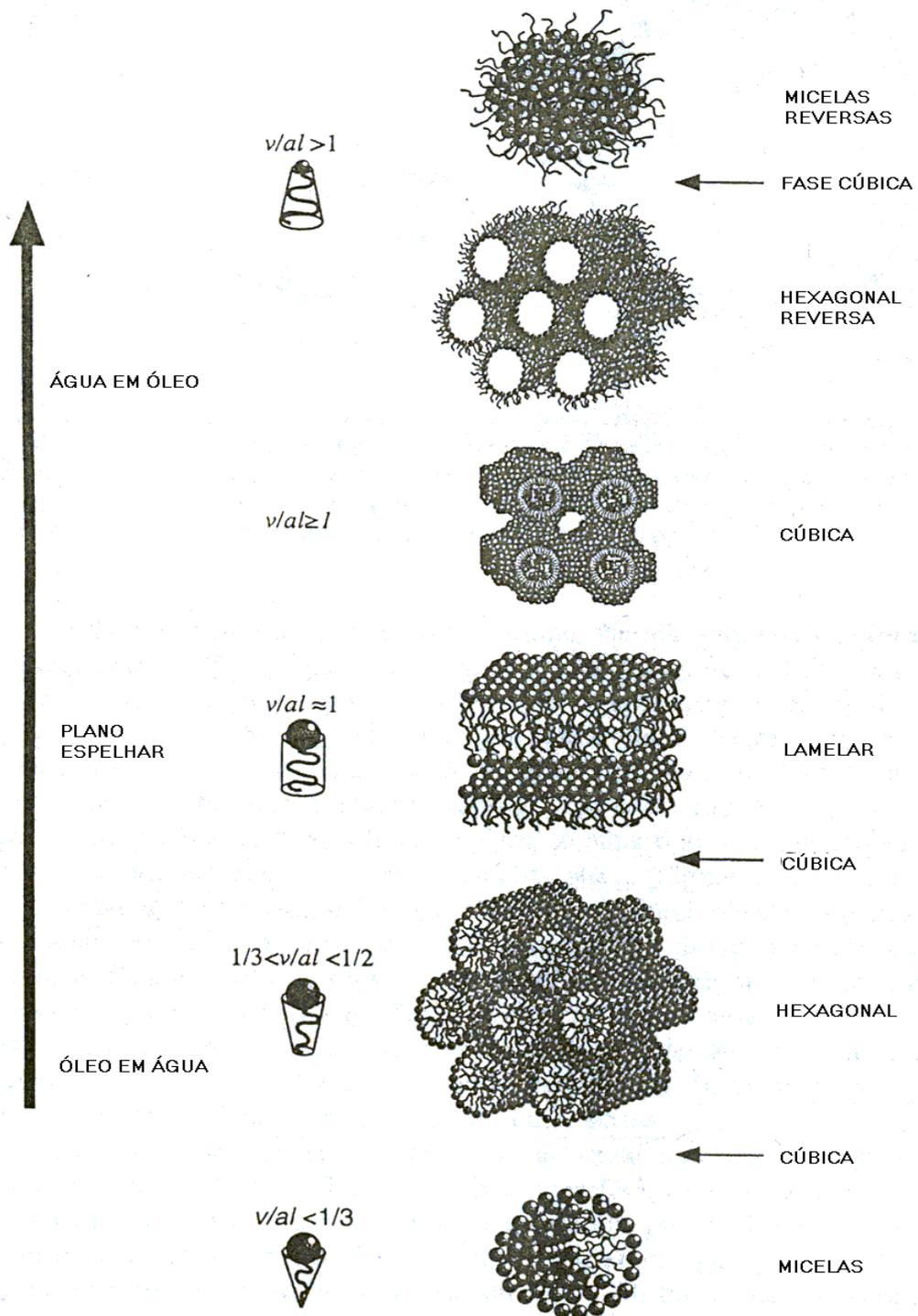


Figura 1: Esquema de Fontell: Seqüência de estruturas e fases de agregados de surfactantes em solução. A concentração de surfactante aumenta de baixo para cima (Jönsson et al., 1998).

1.2. Microemulsões (MEs)

Microemulsões (MEs) são dispersões macroscopicamente homogêneas de óleo, água e surfactante, as quais, em nível microscópico, consistem de microdomínios individuais de óleo e água separados por uma monocamada de surfactante posicionados com as partes polares e apolares voltadas para os respectivos meios de afinidade. Este sistema é formado espontaneamente e possui propriedades físico-químicas como transparência, isotropia óptica, baixa viscosidade, estabilidade termodinâmica, alta capacidade de solubilização de componentes em meios de baixa afinidade, e grande área interfacial específica (Moulik e Paul, 1998; Jönsson et al., 1998; Holmberg, 1997 e Sjöblom et al., 1996). A transparência destes sistemas se deve ao fato do tamanho das gotículas da fase dispersa ser de 5 a 100 nm, que é menor do que comprimento de onda da luz visível, que é de 350 – 800 nm. Estes agregados normalmente são polidispersos, sendo que a polidispersidade, em geral, aumenta com o tamanho das gotas (Moulik e Paul, 1998).

Nos últimos anos as MEs têm despertado grande interesse em indústrias de cosmético, farmacêuticas, química e de alimentos, como sistema para incorporar e transportar fármacos, permitir a solubilidade de compostos químicos em meios de polaridade diferente e como sistemas bifásicos para extração líquido-líquido (Pessoa e Vitollo, 1998).

As MEs como veículo transportador de fármacos de aplicação cutânea, como anestésicos, apresentam como vantagem a sua alta estabilidade e difusividade transdermal e dermal, devido à sua pequena dimensão. Djordjevic et al. (2004) estudaram a incorporação de drogas anfifílicas por microemulsões

do sistema pseudoternário isopropil miristato/PEG-8 caprílico/cáprico glicerídeo/poligliceril-6 dioleato/água. Sintov e Shapiro (2004) estudaram a interação de lidocaína com MEs de um sistema glicerol oleato:polioxil 40/tetraglicol/isopropil palmitato/água. A lidocaína solubilizada nas MEs apresentou uma difusividade na pele de ratos maior do que a mesma droga suspensa em um creme comercial.

A capacidade de solubilizar quantidades consideráveis de compostos solúveis e insolúveis em água, ao mesmo tempo, torna as MEs excelentes micro-reatores para reações orgânicas, inorgânicas e enzimáticas, especialmente aquelas que utilizam compostos imiscíveis. Por exemplo, reações de hidrólise de óleos e gorduras catalisadas por lipases. Neste processo, a lipase é um catalisador de superfície hidrossolúvel e os substratos e produtos da reação são lipossolúveis, sendo que o contato entre o catalisador e o substrato é propiciado pela grande área interfacial das MEs (Garti, 2003; Jönsson et al., 1998; Sjöblom et al., 1996).

Lif e Holmberg (1997) realizaram com sucesso a hidrólise de 4-nitrofenil decanoato em 4-nitrofenol e ácido decanóico catalisada por lipases em uma ME de O/W. Este sistema pode ser usado como alternativa para a mesma hidrólise realizada na presença de um álcali. Blasi et al., 2006 estudaram a reação enzimática de desacilação de 1,2-diacil-glicerol-3-fosfocolina em glicerol-3-fosfocolina como uma alternativa para deacilação em condições alcalinas. A reação enzimática foi realizada em suspensão e em uma ME sendo que o segundo sistema apresentou os melhores resultados.

A enorme área interfacial específica formada pelas MEs torna este tipo de agregado capaz de solubilizar grandes quantidades de componentes que

possam ser adsorvidos nesta interface. Tal propriedade das MEs tem sido amplamente explorada na extração seletiva de íons de metálicos, proteínas ou outros compostos biológicos, em sistemas líquido-líquido (Watarai, 1997).

O processo de extração líquido-líquido utilizando MEs consiste de duas etapas fundamentais: a extração, pela qual o íon ou a proteína é transferido de um meio aquoso para uma ME, e a re-extração onde o composto extraído é liberado da ME para uma fase aquosa, para, na seqüência, ser recuperado em uma concentração mais elevada e com maior grau de pureza (Ramos et al., 1997).

A utilização de MEs na extração de íons metálicos tem sido uma alternativa interessante, pois estes sistemas têm características que os tornam vantajosos quando comparados a extrações realizadas por solventes convencionais. O aumento da taxa de extração conseguido com as MEs é explicado pela enorme área interfacial disponível nestes sistemas.

A extração de vários íons metálicos foi conseguida com o emprego de sistemas bifásicos de ME com recuperação maior do que 98%, indicando que este tipo de sistema pode ser usado para extração seletiva de íons metálicos de solução aquosa (Dantas et al., 2003). He et al. (2004) extraíram íons de cádmium em solução aquosa com alta eficiência utilizando sistemas bifásicos de MEs.

A extração líquido-líquido de proteínas usando MEs, além de apresentar uma alta eficiência, tem uma boa seletividade, podendo este processo ser capaz de purificar uma proteína ainda durante a sua extração de um extrato com outros compostos, inclusive outras proteínas. Este tipo de processo apresenta também como vantagem a possibilidade de sua execução

contínua, o que é extremamente importante para o aumento de escala de processo e aumento de produtividade.

As enzimas inulinase, xilanase e xilitol desidrogenase foram extraídas por sistemas líquido-líquido de MEs com altos valores de eficiência (Pessoa e Vitollo, 1998; Rodrigues et al., 1999; Cortez et al., 2004).

Ainda ressaltando as potenciais aplicações das MEs, é reconhecido que várias vitaminas e precursores de vitaminas são sensíveis à degradação oxidativa por luz visível (Fenemma, 1996). A solubilização destes compostos na fase dispersa de MEs reduz esse tipo de oxidação, com o aumento o tempo de vida útil de armazenamento de vitaminas (Chiu e Yang, 1992; Banville et al., 2000; Garti et al., 2004). MEs de óleo em água (O/W) também têm grande potencial para solubilização de moléculas apolares como aditivos nutricionais e antioxidantes em alimentos com elevada concentração em água (Campo et al., 2004).

Poucas pesquisas foram realizadas, até o momento, sobre MEs formadas totalmente por componentes de grau alimentar. A maioria das MEs citadas na literatura são formuladas por compostos não edíveis (Trotta et al., 1996). Garti et al. (2001) encontraram uma grande área de MEs em um diagrama de fases pseudoternário de R-limoneno Tween 80, etanol, glicerol, e água, todos compostos edíveis.

Os óleos comumente usados em aplicações na indústria de alimentos, como o de soja, de milho, de algodão e de girassol, são compostos triglicerídeos de ácidos graxos insaturados e de cadeia longa. Devido ao seu grande tamanho molecular e limitada solubilidade de emulsificantes comestíveis, os triglicerídeos são de difícil formação de MEs (Garti et al., 2001).

1.2.1. Estruturas de Microemulsões

Muitas aplicações práticas fazem uso de diferentes formas de microestruturas de MEs. No entanto, o uso eficiente deste tipo de agregado está diretamente relacionado ao entendimento destas microestruturas e de como elas podem ser influenciadas por diferentes aditivos (Sjöblom et al., 1996).

Na literatura há três tipos principais de estruturas de MEs: as MEs de água em óleo (W/O), MEs de óleo em água (O/W) e MEs bicontínuas.

ME de água em óleo (W/O)

Neste tipo de ME, nano-gotas de água encontram-se dispersas em uma fase contínua de óleo, estabilizadas por um filme ou monocamada de surfactante, e, na maioria os casos, um co-surfactante também. Um desenho esquemático deste tipo de estrutura é mostrado na Figura 2.

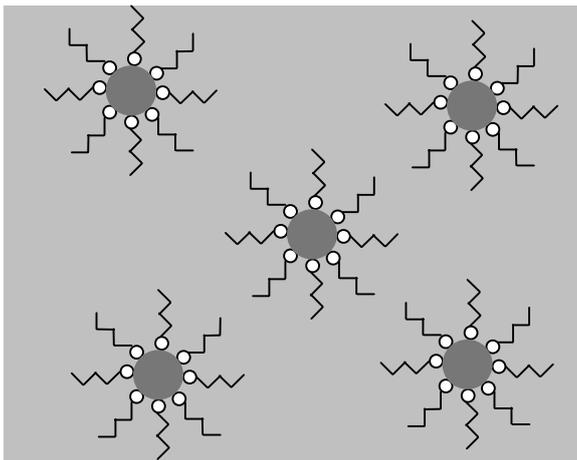


Figura 2: Representação esquemática da estrutura de uma ME de água em óleo (W/O).

A região mais escura representa a água, enquanto a região clara representa o óleo.

Em baixas frações volumétricas de água as nano-gotas são esféricas e monodispersas, mas com o aumento da fração da fase dispersa, as gotas aumentam em tamanho e polidispersidade, como indicam resultados de espalhamento de nêutrons SANS (Sjöblom et al., 1996).

ME de óleo em água (O/W)

Em MEs de O/W, nano-gotas de óleo estão dispersas em uma fase contínua de água e as moléculas de surfactante e co-surfactante estão arranjadas de modo que o grupo polar encontra-se posicionado na superfície das gotas, voltados para a água. Um desenho esquemático deste tipo de estrutura é mostrado na Figura 3.

Em baixas frações volumétricas de óleo as nano-gotas são esféricas e monodispersas, mas com o aumento da fração da fase dispersa, as gotas aumentam em tamanho e polidispersidade (Evans e Wennerström, 1999).

ME Bicontínua

Há uma considerável discussão sobre o tipo de microestrutura existente nas MEs bicontínuas. A representação mais geral para este tipo de ME é a de uma microestrutura com curvatura média zero, com infinitos canais encurvados de óleo e água, podendo as moléculas dos dois componentes transitar livremente por toda a fase, como mostrado na Figura 4 (Holmberg, 1997). As MEs bicontínuas geralmente contêm quantidades próximas de água e óleo, e ambos os componentes óleo e água apresentam grande coeficiente de difusão, como constatado experimentalmente pela primeira vez em um sistema observado por Jönsson et al. (1998).

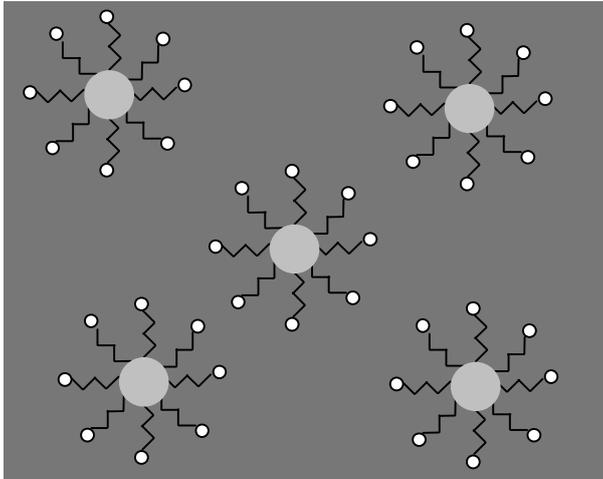


Figura 3: Representação esquemática da estrutura de uma ME de óleo em água (O/W). A região mais escura representa a água, enquanto a região clara representa o óleo.

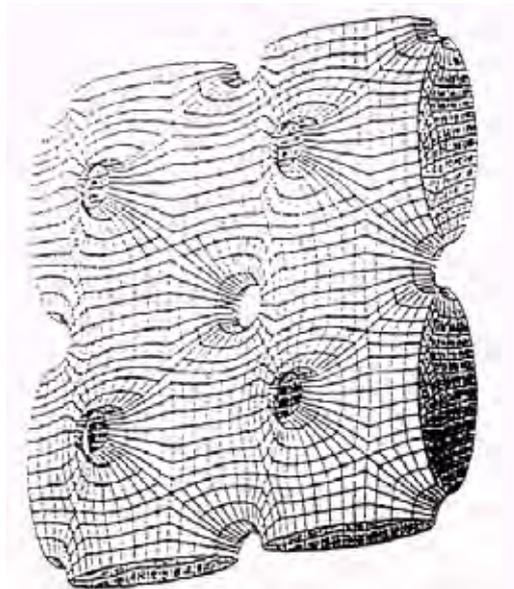


Figura 4: Representação esquemática da estrutura de uma ME bicontínua (Sjöblom et al., 1996).

Fatores que determinam a estrutura da MEs

A propensão do sistema para formar uma ME de O/W, W/O ou bicontínua é dependente de vários fatores, como o tipo de surfactante, co-surfactante e óleo, da razão de água /óleo, da presença de íons na fase aquosa, e da temperatura.

A escolha de um surfactante é decisiva para a formação de MEs, e a geometria molecular do surfactante é um fator importante a ser observado. O parâmetro de empacotamento (p) do surfactante, mostrado na equação 1, é bastante utilizado para correlacionar a geometria do surfactante com a do agregado formado, e depende da área ocupada pelo grupo polar (a) do volume (v) e comprimento (l) da cadeia hidrofóbica.

$$p = \frac{v}{a.l} \quad (1)$$

Assim, quando o surfactante está agregado em micelas esféricas, $p \leq 1/3$, em micelas cilíndricas, $p < 1/2$ e em lamelas, $p = 1$. Quando $p > 1$, estruturas reversas são formadas.

Considerações geométricas da parte apolar da molécula permitem estimar que surfactantes com cadeias hidrocarbônicas moderadamente longas e não ramificadas favorecem a formação de MEs de O/W; enquanto surfactantes com cadeias hidrofóbicas volumosas tendem a formar MEs bicontínuas, e, surfactantes com cadeias hidrofóbicas altamente ramificadas facilitam a formação de MEs de W/O.

A área a ocupada pelo grupo polar do surfactante é governada pelas forças repulsivas entre os grupos polares, pelas forças atrativas entre as cadeias apolares, e pelas forças entre estas cadeias apolares e as moléculas de óleo, sendo, portanto, o valor de a uma propriedade não exclusivamente intrínseca do

surfactante, mas também dependente de fatores do sistema, como concentração de íons na fase aquosa, composição do óleo da fase apolar da ME e da própria concentração do surfactante que determina a estrutura formada (Jönsson et al., 1998).

O papel do co-surfactante, que se posiciona na monocamada do surfactante, é de aumentar a flexibilidade e diminuir a tensão interfacial, e, conseqüentemente, causar uma curvatura de superfície favorável energeticamente à formação de uma dispersão (Moulik e Paul, 1998). No entanto, o uso de co-surfactantes nem sempre é necessário para a obtenção de MEs.

O tamanho das moléculas do óleo e a sua polaridade influenciam a formação de MEs. Em alguns casos, o tamanho das moléculas é o fator que mais influencia na formação de MEs, sendo óleos de tamanho menor mais propícios para o aparecimento deste tipo de estrutura (Aboofazeli et al., 1995). Alguns óleos podem também atuar como co-surfactante favorecendo a formação de MEs, como é o caso de alguns monoglicerídeos presentes em um sistema de óleo de soja/óleo de girassol/água estudado por Engström (1990), que pôde solubilizar até 10% de água em uma ME de W/O.

1.2.2. Fases de Winsor

Em MEs com quantidades insuficientes de surfactante, a fase dispersa pode não ser completamente solubilizada na ME, e então uma fase do componente em excesso puro pode surgir, em equilíbrio com a ME. Há uma

seqüência de equilíbrio entre fases, comumente conhecida como fases de Winsor.

Uma fase de MEs de O/W em equilíbrio com excesso de óleo é conhecida como fase de Winsor I. Quando uma ME de W/O se encontra em equilíbrio com excesso de água, o sistema é chamado de Winsor II. Uma ME pode também estar em equilíbrio simultaneamente com excessos de água e óleo (Winsor III), com pode ser observado na Figura 5. Estas fases em equilíbrio encontram-se separadas por uma camada de surfactante, que diminui a tensão superficial nas interfaces.

Para surfactantes não-iônicos a transição entre as fases Winsor I → Winsor III → Winsor II pode ocorrer pelo aumento da temperatura, enquanto para sistemas com surfactantes iônicos, e contendo eletrólitos, essa transição pode ocorrer pelo aumento da concentração dos eletrólitos (Jönsson et al., 1998).

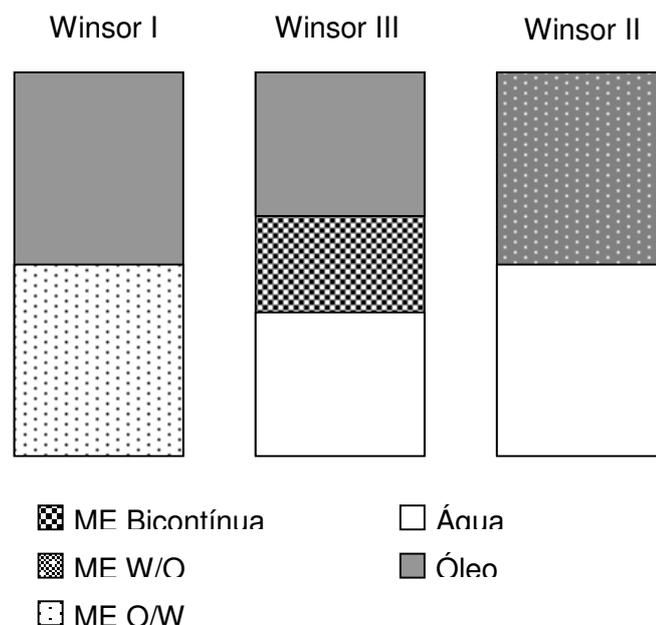


Figura 5: Representação esquemática das fases de Winsor.

1.2.3. Mecanismo de Formação de Microemulsões

O processo de formação de MEs de W/O ou O/W, partindo de um sistema de duas fases macroscopicamente separadas, leva ao surgimento de gotas de água dispersas em uma fase contínua de óleo ou gotas de óleo em uma fase aquosa, respectivamente, estabilizadas por moléculas de surfactantes.

Este processo é acompanhado por uma mudança de energia livre do sistema, de acordo com a segunda lei da termodinâmica (Jönsson et al., 1998; Evans e Wennerström, 1999):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

(2)

onde ΔG é a variação da energia livre de Gibbs, ΔH é a variação de entalpia, T é a temperatura e ΔS é a variação de entropia.

Neste processo a variação de entalpia é dada pelo aumento da energia interfacial:

$$\Delta H = \Delta A\gamma \quad (3)$$

onde ΔA é a variação de área da interface e γ é a tensão interfacial

Para a formação da ME há um enorme aumento da área interfacial, ΔA , e a tensão interfacial tem valor positivo (na ausência de surfactante, γ para interface hexano água é de 50 mN/m) e, conseqüentemente, ΔH de formação de MEs é grande e positivo.

Para reduzir a energia de formação das MEs, deve-se, portanto, reduzir o valor de γ em algumas ordens de grandeza. Isso é conseguido através da adsorção de moléculas de surfactante no sistema, ou seja, na interface óleo-água.

O termo $T\Delta S$ é a variação de energia causada pela variação da entropia configuracional do sistema, sendo S dado pela seguinte equação:

$$S = k \ln \Omega \quad (4)$$

onde k é a constante de Boltzmann e Ω é o número de configurações possíveis para o sistema.

A variação de entropia no processo de formação de MEs é resultante do aumento no número de configurações possíveis, devido à formação de um grande número de gotas. A subtração deste termo, positivo, torna menor a variação de energia livre de formação das MEs, o que favorece o processo.

Para a formação de MEs, a tensão interfacial deve ser suficientemente baixa para tornar a variação de energia interfacial comparável, ou menor, do que a variação de energia causada pela entropia da dispersão. Neste caso a variação da energia livre de formação do sistema se torna zero ou negativa, que é a condição de estabilidade termodinâmica das MEs.

Assim, a principal força motriz da formação das MEs é a baixa tensão interfacial, que é normalmente alcançada com o uso de dois ou mais surfactantes. Isso pode ser entendido pelo efeito da concentração do surfactante e da natureza da tensão interfacial γ entre óleo e água.

A adição de surfactante na fase apolar (óleo) ou água causa uma diminuição gradual de γ atingindo um valor limite, denominado concentração micelar crítica, CMC. Qualquer acréscimo de surfactante acima da CMC causa pequena ou nenhuma diminuição no valor de γ . O valor limite de γ atingido com um único surfactante é raramente menor que 0,1 mN/m. Esse valor muitas vezes não é suficientemente baixo para a formação de MEs, e a formação deste tipo de fase requer valores de γ da ordem de 10^{-2} mN/m ou mesmo mais baixos. Se uma

mistura de surfactantes é usada com um componente predominantemente solúvel em água e um predominantemente solúvel em óleo, o valor limite de γ pode atingir valores muito baixos ($<10^{-2}$ mN/m). Neste caso, a interface expande espontaneamente adsorvendo todos os surfactantes até que um pequeno valor de γ é atingido.

A redução na tensão interfacial com a adição de dois surfactantes pode ser entendida de uma consideração da equação de adsorção de Gibbs, para um sistema de multicomponentes:

$$d\gamma = -\sum_i \frac{n_i}{A} d\mu_i \quad (5)$$

onde n_i é o número de moles em excesso na interface do componente i , e μ_i é o potencial químico do componente i .

No equilíbrio entre as concentrações nas fases interfacial e interior, temos:

$$d\mu_i = RTd(\ln a_i) \quad (6)$$

sendo a_i a atividade do componente i , dada por:

$$a_i = f \cdot x_i \quad (7)$$

onde f é a fugacidade e x_i é a fração molar do componente i .

Portanto, a equação (6) torna-se:

$$d\mu_i = RTd[\ln(f \cdot x_i)] \quad (8)$$

Substituindo esta equação na equação (5), temos:

$$d\gamma = -\sum_i \frac{n_i}{A} RTd[\ln(f \cdot x_i)] \quad (9)$$

Para um sistema com dois surfactantes (S_1 e S_2) adsorvidos na interface:

$$d\gamma = -\frac{n_{S1}}{A} RTd[\ln(f \cdot x_{S1})] - \frac{n_{S2}}{A} RTd[\ln(f \cdot x_{S2})] \quad (10)$$

Integrando a equação (10):

$$\gamma = \gamma_0 - \int \frac{n_{S1}}{A} RTd[\ln(f \cdot x_{S1})] - \int \frac{n_{S2}}{A} RTd[\ln(f \cdot x_{S2})] \quad (11)$$

A equação (11) mostra que a tensão interfacial é reduzida a dois termos, um para cada surfactante, que têm concentração interfacial de excesso respectivamente iguais a $\frac{n_{S1}}{A}$ e $\frac{n_{S2}}{A}$. Deve-se mencionar aqui que as duas moléculas adsorvem-se simultaneamente e não interagem entre si para que as respectivas concentrações não sejam diminuídas. Isso explica por que as duas moléculas devem variar em natureza, isto é, uma predominantemente solúvel em água e a outra solúvel em óleo.

1.3. Bis(2-etilhexil)sulfosuccinato de sódio (AOT)

O AOT é um surfactante aniônico muito usado em formulações farmacêuticas, na formação de MEs, para fins de encapsulamento de drogas. A estrutura química do AOT é mostrada na Figura 6. A Figura 7 mostra o diagrama de fases binário de AOT/água, de onde vemos que este surfactante tende a formar estrutura lamelar. A fase lamelar (L_α) domina entre ca 15-75% de AOT. Entre 75-82% tem-se uma pequena fase cúbica (I) e, acima de 82%, AOT forma em água a fase hexagonal reversa (H_2). Em pequenas concentrações (até 5%), AOT forma micelas (fase isotrópica L_1). Entre 5-15% tem-se uma região e duas fases (micelar isotrópica com lamelar) em equilíbrio. A formação de MEs requer, portanto, a adição de um co-surfactante. Por exemplo, AOT/iso-octano/água

forma MEs em uma grande região do diagrama de fases (Evans e Wennerström, 1999).

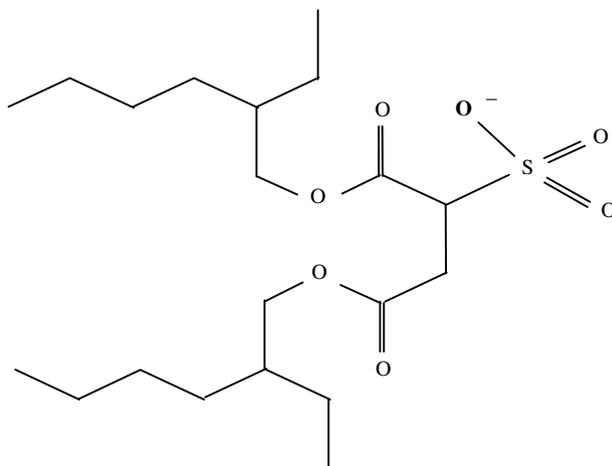


Figura 6: Estrutura química de bis(2-etilhexil)sulfosuccinato de sódio (AOT).

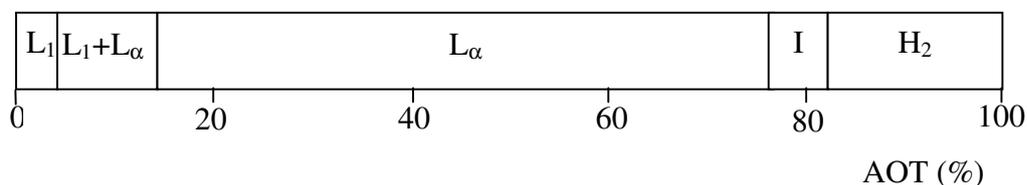


Figura 7: Diagrama de fases binário de AOT/água, a 25°C (fases: L₁ = micelar isotrópica, L_α = lamelar, I = cúbica e H₂ = hexagonal reversa). Adaptado de Jönsson et al. (1998).

1.4. Fosfatidilcolina (FC)

A lecitina de soja é uma mistura de vários fosfolipídios, como a fosfatidilcolina, que é o componente mais abundante; o segundo mais encontrado é a fosfatidiletanolamina, e, em quantidades intermediárias, se

encontram o fosfatidilinositol e o ácido fosfatídico; a fosfatidilserina e os lisofosfatídios estão presentes em baixos teores. A fosfatidilcolina é um surfactante zwitteriônico dos mais usados como emulsificante em alimentos (Hasenhuettl e Hartel, 1997), e espera-se um crescimento do seu uso em outras áreas devido a sua origem natural. Essa mistura de lipídios confere à lecitina característica como a temperatura de transição do estado gel (configuração ordenada das caudas dos lipídios) para o líquido cristalino (configuração desordenada das caudas dos lipídios) das bicamadas de lecitina muito baixa, em torno de -5°C . A Figura 8 mostra a estrutura química do principal fosfolipídio encontrado na lecitina comercial, a fosfatidilcolina (FC).

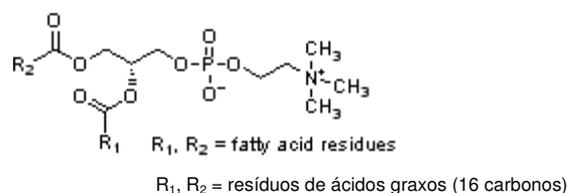


Figura 8: Estrutura química de FC, principal fosfolipídio constituinte da lecitina.

Em água, a fosfatidilcolina organiza-se preferencialmente em estruturas lamelares (Figura 9). Até 55% em peso de FC, predomina a fase lamelar dispersa em água ($L_{\alpha}+W$); entre 55-88% tem-se a fase lamelar L_{α} pura e entre 88-95% a fase cúbica (I). Acima de 95% cristais hidratados de lecitina são formados.

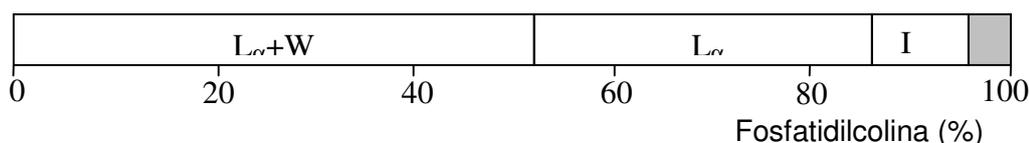


Figura 9: Diagrama de fases de fosfatidilcolina/água, a 25°C (fase I = cúbica, L_{α} = lamelar, W = água, a região cinza é de cristais hidratados de lecitina). Adaptado de Jönsson et al. (1998).

1.5. Monooleína (MO)

A monooleína (MO), ou glicerol monooleato, tem sua fórmula estrutural representada na Figura 10. Este monoglicerídeo é insolúvel em água e tem a capacidade de formar diferentes fases líquido cristalinas em meio aquoso. Apresenta características interessantes para a sua aplicação: é biodegradável, não tóxico, biocompatível, seguro e têm atraído grande interesse na indústria farmacêutica, de alimentos, para sistemas bioadesivos, entre outros (Steluti et al., 2005; Bender et al., 2005).

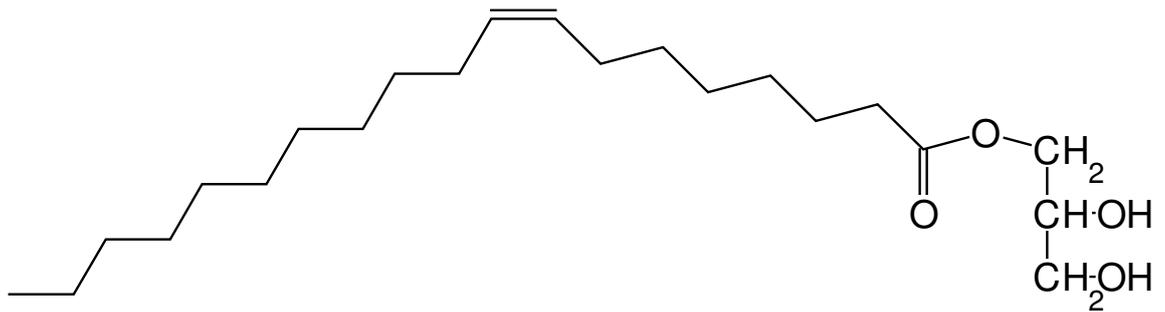


Figura 10: Estrutura química da monooleína (MO).

A Figura 11 mostra o diagrama de fases binário de MO/água, de onde observamos que este surfactante forma uma fase lamelar cristalina de 95–100% de MO, a faixa de 81–95% de MO ainda forma uma fase lamelar líquido-cristalina. Entre 60–78,5% de MO tem-se uma fase cúbica reversa, e de 50–60% de MO esta fase coexiste com excesso de água, esta fase cúbica também é encontrada na faixa entre 78,5–81% de MO em equilíbrio com a fase lamelar líquido cristalina (Briggs et al., 1996).

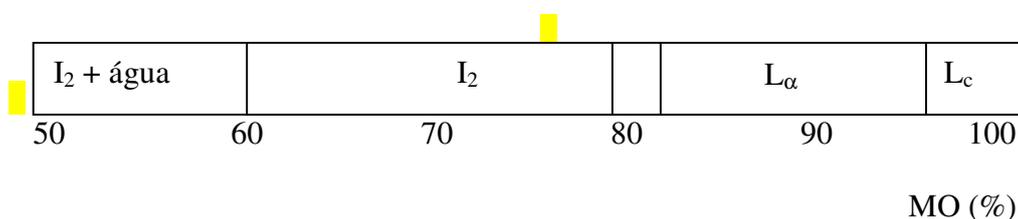


Figura 11: Diagrama de fases binário de MO/água, a 25°C (L_c: fase lamelar cristalina; L_α: fase lamelar líquido cristalina; I₂: Cúbica reversa, a faixa em branco é uma região de duas fases). Adaptado de Briggs et al. (1996).

1.6. Óleo de soja (OS)

Os óleos vegetais em geral são compostos principalmente por glicerídeos, formados pela esterificação de uma molécula de glicerol com até três moléculas de ácido graxo. O óleo de soja comercial é composto principalmente por uma mistura de glicerídeos formados por diversos ácidos graxos saturados, como o palmítico (9,0-14,5%), esteárico (2,5-5,0%), araquídico (traços), behênico (traços), lignocérico (traços), ácidos graxos mono-insaturados, como o palmitoléico (traços) e o oléico (18,0-34,0%), e ácidos graxos poli-insaturados, como o linoléico (45,0-60,0%) e o linolênico (3,5-8,0%) (O'Brien, 1998).

O complexo da soja, formado por grãos de soja, farelo e óleo, tem atualmente um grande peso nas exportações brasileiras e um dos principais responsáveis pelo saldo positivo em nossa balança comercial. Este fato constitui um estímulo a mais para o estudo de produtos derivados da soja, como o óleo e a lecitina.

1.7. Óleo Essencial de Laranja

Anualmente são produzidas milhares de toneladas de óleos essenciais de frutas cítricas, principalmente de laranja e limão. O Brasil é o maior produtor mundial de óleo essencial de laranja. Este produto possui grande importância na balança comercial brasileira e é exportado como matéria-prima importante para as indústrias de alimentos, tintas, bebidas, cosméticos e perfumes.

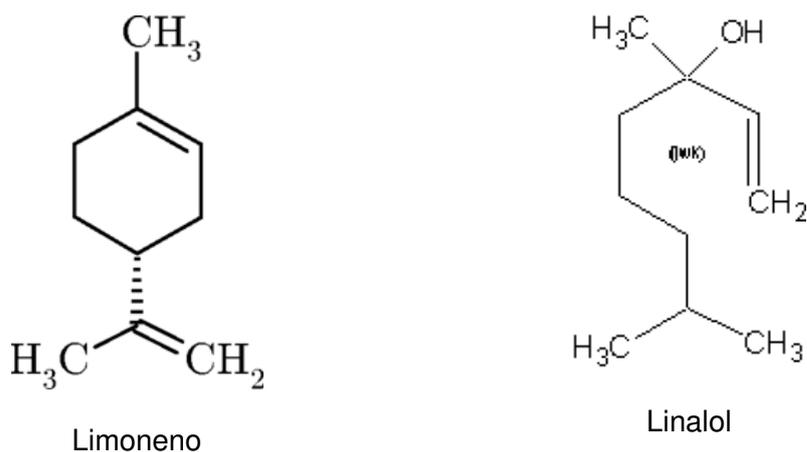


Figura 12: Estrutura química do Limoneno e do Linalol, principais componentes do óleo essencial da casca de laranja.

O óleo essencial da casca de laranja é um sistema complexo que contém mais de 200 componentes, onde os componentes de maior ocorrência são limoneno e o linalol, cujas estruturas químicas estão representadas na Figura 12 (Aburto et al., 1998; Vieira de Melo et al., 1997).

1.8. Vitaminas e Sais

Definidas como um grupo de diversos nutrientes essenciais que atuam como coenzimas, antioxidantes e como fator que envolve a regulação gênica. Estes compostos são constituintes minoritários em alimentos, sendo, de grande interesse maximizar a sua retenção e reduzir a sua oxidação e reação com outros constituintes dos alimentos (Fennema, 1996). Além do uso no enriquecimento de alimentos as vitaminas são importantes na indústria de medicamentos, e na indústria de cosméticos onde estes compostos são usados em cremes. A retenção das vitaminas no interior das micelas de MEs aumenta a solubilidade destas vitaminas em meios de hidrofobicidade contrária e as protege de reações com compostos presentes na fase contínua da ME.

Neste trabalho foram incorporadas duas vitaminas, folato e ácido ascórbico (vitamina C), e dois sais, sulfato ferroso e cloreto de sódio, no interior micelar das MEs W/O constituídos de óleo de soja, surfactantes e água, constituindo assim, o que chamamos de “óleo enriquecido” com vitamina e sais minerais.

1.8.1. Ácido Fólico (AF)

O termo folato refere-se a uma classe de compostos hidrofílicos que têm estrutura química e atividade similar ao ácido fólico, cuja estrutura é mostrada na Figura 13. A necessidade humana desta vitamina geralmente não é atingida devido, em parte, às perdas do folato durante o processamento e preparo dos alimentos. Esta vitamina é adicionada em produtos derivados de cereais, p. ex. farinhas, massas e pães, no intuito de reduzir o risco de má formação do feto acarretada pela sua deficiência. A gama de produtos enriquecidos com esta vitamina é relativamente pequena (Fennema, 1996), e a solubilização do folato em MEs de W/O pode ser uma alternativa para aumentar o número de produtos enriquecidos com esta vitamina.

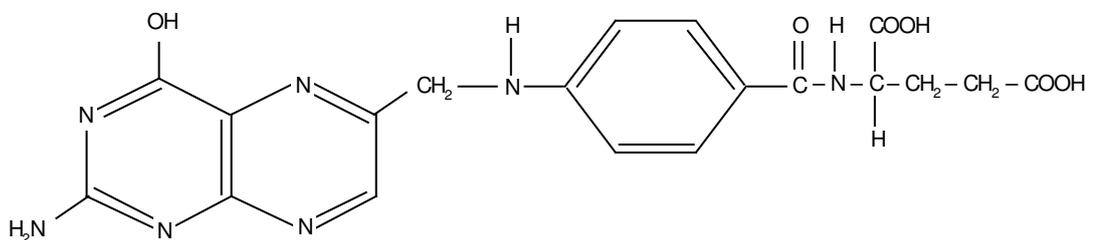


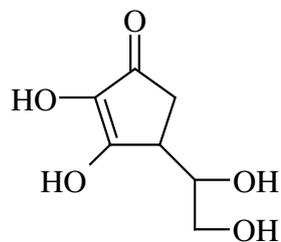
Figura 13: Estrutura química do ácido fólico (folato).

1.8.2. Ácido Ascórbico (AA)

A vitamina C é um nutriente essencial porque não pode ser sintetizada pelo nosso organismo, tendo de ser fornecida por ingestão de

alimentos ou medicamentos. Linus Carl Pauling,^{*} considerava a vitamina C como "uma substância que participa em quase todas as reações químicas que acontecem no nosso organismo, sendo imprescindível em muitas delas".

O ácido ascórbico ou vitamina C (Figura 14) é uma substância que tem como propriedade característica o seu poder redutor. Este ácido consegue reduzir o íon férrico Fe(III) no íon ferroso Fe(II), e o iodo I₂ no iodeto I⁻, devido ao seu poder redutor, além de várias outras aplicações químicas (Fennema, 1996).



ácido ascórbico

Figura 14: Estrutura química do ácido ascórbico (vitamina C).

1.8.3. Sulfato Ferroso

O ferro tem recebido maior atenção do que outros minerais na nutrição humana, pois ele é um elemento essencial. O ferro é componente de várias enzimas e do grupo heme na hemoglobina e na mioglobina, nas quais

* Linus Pauling (1901-1994) foi um dos maiores químicos de todos os tempos e um cidadão muito importante. Foi a única pessoa a receber o Prêmio Nobel por duas vezes, por motivos completamente diferentes. Em 1928 o cientista húngaro Albert Szent-Gyorgyi (1893-1986) descobriu e isolou o fator anti-escorbuto, que foi denominada de **vitamina C**, ou ácido ascórbico. Ele ganhou o prêmio Nobel de 1937 por essa descoberta. Essa vitamina ficou bastante popularizada a partir das pesquisas de Linus Pauling, que, revelou a importância dessa vitamina em terapias em processos infecciosos, como em gripes.

desempenha papel importante no transporte, estocagem e armazenamento de oxigênio. A deficiência deste composto acarreta na anemia (que atinge 30% da população mundial), na alteração no desenvolvimento mental e no decréscimo na imunidade (Fennema, 1996).

A adição de ferro em alimentos é uma maneira de suprir esta deficiência, porém, em alguns casos, ela é dificultada, pois algumas formas de ferro catalisam a oxidação das vitaminas A, C e E. Em muitos casos, formas que são altamente biodisponíveis, são também as mais cataliticamente ativas, e formas que são relativamente inertes tendem a ser pouco biodisponíveis.

Uma alternativa para adição de ferro em alimentos consiste na retenção de íons deste composto na fase hidrofílica de MEs de W/O. Retido em MEs, o ferro também melhora a sua solubilidade em meios lipofílicos.

O ferro é um catalisador da reação de oxidação de triglicerídeos (O'Brien, 1998), portanto, na adição deste composto em uma ME à base de óleo de soja deve se contar com a completa retenção do ferro no interior das micelas, para evitar a hidrólise dos triglicerídeos presentes no óleo de soja. A quantidade de ferro retido pelas MEs deve ser tal que não afete a estabilidade do sistema.

1.9. Métodos de investigação

1.9.1. Reologia

Soluções diluídas, onde as partículas da fase dispersa não interagem entre si, podem ter a viscosidade relacionada à fração volumétrica da fase

dispersa através de equações analíticas, como a desenvolvida por Einstein (Rao, 1999):

$$\eta_r = 1 + 2,5\phi \quad (12)$$

onde ϕ é a fração volumétrica da fase dispersa, e η_r é a viscosidade relativa ($\eta_r = \eta/\eta_s$), sendo η a viscosidade do sistema e η_s a viscosidade da fase contínua.

A dependência entre a viscosidade e a concentração de soluções reais (não diluídas, com partículas da fase dispersa interagindo entre si) pode ser representada por equações empíricas e semi-empíricas existentes na literatura (Moulik e Paul, 1998). As MEs são sistemas complexos e uma única relação matemática não pode seguramente descrever bem o comportamento da viscosidade.

Para relacionar a viscosidade de algumas MEs foi usada a equação de Mooney (Moulik e Paul, 1998):

$$\eta_r = \exp \frac{b\phi}{1 - c\phi} \quad (13)$$

onde b e c são constantes relacionadas, respectivamente, à viscosidade intrínseca da dispersão e com a interação entre as partículas.

Outra equação também utilizada para relacionar a viscosidade relativa de MEs à fração volumétrica da fase dispersa é a de Krieger (Moulik e Paul, 1998):

$$\eta_r = \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m} \right)^{-v\phi_m} \quad (14)$$

onde v e ϕ_m são, respectivamente, a viscosidade intrínseca da dispersão e a fração máxima de empacotamento.

1.9.2. Condutividade Elétrica

A condutividade de uma ME pode variar drasticamente dependendo do tipo da ME (O/W, W/O ou bicontínua). MEs de O/W têm condutividade próxima à do meio aquoso, enquanto ME de W/O apresentam valores de condutividade muito baixos. Nas MEs bicontínuas a condutividade também é significativamente alta (Moulik e Paul, 1998). Desta forma a condutividade das MEs pode ser extremamente importante na determinação do tipo de ME formada em um sistema.

Em frações volumétricas de água maiores o fenômeno de percolação governa a condutância das MEs de W/O (Mitra e Paul 2005). Este fenômeno ocorre em misturas onde há um condutor e um isolante. Em MEs de W/O as gotas contendo íons dos surfactantes aproximam-se à uma distância onde ocorra troca de cargas entre elas. MEs de W/O formadas por surfactantes não iônicos, porém contendo sais na fase aquosa, também exibem o fenômeno de percolação.

1.9.3. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Técnica importante na determinação do tamanho molecular de partículas de dimensões coloidais em geral e de colóides de associação em particular, incluindo micelas, vesículas e MEs (Brown, 1993). Neste trabalho foi usado espalhamento dinâmico de luz (DLS) para identificar MEs através do tamanho e verificar o efeito da composição no tamanho das MEs.

O método consiste em medir a função de auto-correlação da intensidade da luz espalhada. Para uma partícula essa função decai exponencialmente com o tempo e, para um conjunto de partículas, a função é uma soma de exponenciais. O tempo de relaxação, característico do sistema, é proporcional ao coeficiente de difusão do elemento de volume de espalhamento e obedece a uma função distribuição, cujo máximo corresponde ao coeficiente de difusão médio da partícula, que equivale à soma do espalhamento de luz dos elementos de volume. A partir do coeficiente de difusão médio das partículas, obtido da função distribuição do tempo de relaxação, obtém-se, usando a equação de Stokes-Einstein, o raio hidrodinâmico médio (R_h) dessa partícula. Normalmente esses valores são obtidos a diluição infinita da amostra, ou seja, mede-se o coeficiente de difusão em função da concentração de partículas, e extrapolam-se esses valores para a concentração zero. R_h é, portanto, obtido do coeficiente de difusão da partícula (ME) a diluição infinita.

1.9.4. Espalhamento de Raio-X a Baixo Ângulo (SAXS)

O espalhamento da radiação pela matéria é um comportamento universal e é de grande importância prática. Na técnica de SAXS a radiação é espalhada elasticamente pela amostra e a radiação resultante espalhada é analisada fornecendo informações sobre o tamanho e forma das estruturas presentes na amostra. Sistemas coloidais são formados por materiais de diferentes naturezas e consistem na maioria das vezes em sistemas de dois ou mais componentes que podem se agregar em uma grande variedade de estruturas distintas, como por exemplo, MEs. Uma descrição detalhada das

estruturas formadas nestes sistemas é necessária para o seu entendimento e aplicação. A técnica de SAXS é uma das únicas técnicas que fornece detalhes estruturais, suas interações, e transições de fases em sistemas micelares e de ME.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos:

- A construção de diagramas de fases ternários e pseudo-ternários parciais de misturas de água, surfactantes (AOT, MO e FC) e óleos vegetais (óleo de soja comercial ou óleo essencial de laranja), a fim de identificar as fases isotrópicas de microemulsões (MEs).
- A caracterização das fases de MEs por reologia, espalhamento dinâmico de luz (DLS) e espalhamento de raio-X a baixo ângulo (SAXS).
- O estudo da incorporação de constituintes de interesse alimentar (ácido ascórbico, ácido fólico, sulfato ferroso e NaCl) pelas MEs de óleo de soja.
- O estudo reológico e de estabilidade oxidativa das MEs de óleo de soja enriquecidas com ácido ascórbico, ácido fólico, cloreto de sódio e sulfato ferroso e a comparação com o óleo de soja comercial.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Componentes

O Bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (AOT), com 99% de pureza, e a L- α -Fosfatidilcolina (FC) extraída da soja, com 30% de pureza (os contaminantes são principalmente fosfolípidos, com destaque para a L- α -Fosfatidiletanolamina), foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A monooleína (MO), com 40% de pureza (30% de dioleína e 30% trioleína), foi adquirida da Fluka. O sulfato ferroso, com 99% de pureza, foi adquirido da Analítica. O ácido ascórbico, com 99% de pureza, foi adquirido da Sigma-Aldrich. O ácido fólico, com 98% de pureza, foi adquirido da Vetec. O óleo de soja (Cargill) foi adquirido comercialmente, e o óleo essencial de laranja foi doado pela Bascitrus e também é de grau comercial. Todos os compostos foram usados sem tratamento ou purificação adicional.

3.2. Diagrama de Fases

Os diagramas de fases pseudo-ternários de óleo de soja/água/surfactante:co-surfactante foram feitos para razões de massa fixas de surfactante:co-surfactante.

Para a construção dos diagramas de fases foram desenhadas linhas de diluição traçadas a partir de pontos do diagrama que representam 0% de água, até o vértice do triângulo onde se encontra o valor de 100% de água. As linhas de diluição foram denotadas arbitrariamente com os valores das

interseções destas linhas com o eixo surfactante/óleo (por exemplo a linha que sai do ponto de 25% de surfactante e 75% de óleo é chamada de 25:75). A Figura 15 mostra um triângulo de Gibbs com algumas linhas de diluição selecionadas. Este método é bastante conveniente para sistemas líquidos (Garti et al., 2001).

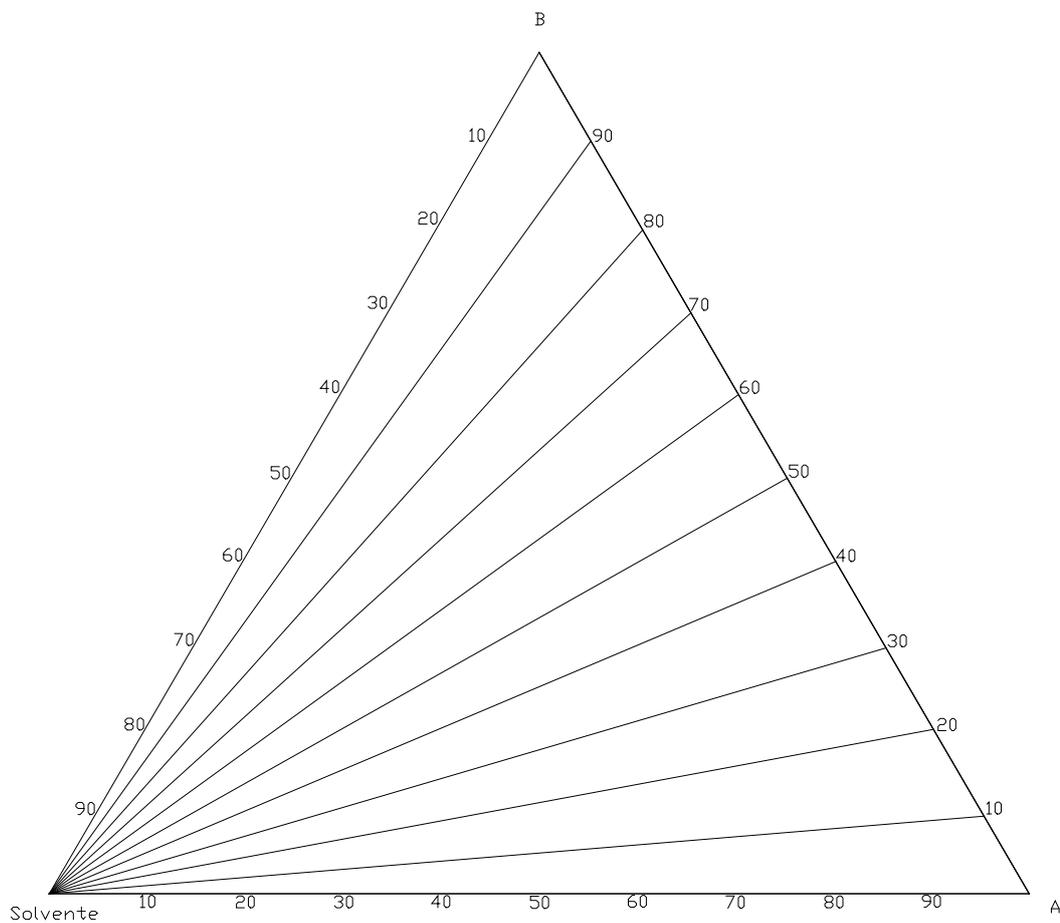


Figura 15 - Triângulo de Gibbs para a construção de diagramas de fases ternários, contendo as linhas de diluição.

Misturas de óleo/surfactante (surfactante e cosurfactante) em razões de massa pré-determinadas foram preparadas em tubos de cultura selados por

tampas rosqueáveis. Para cada diagrama foram preparadas inicialmente 19 amostras com as seguintes frações de surfactante:óleo: 5:95, 10:90, 15:85, 20:80, 25:75, 30:70, 35:65, 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40, 65:35, 70:30, 75:25, 80:20, 85:15, 90:10, 95:5. As amostras contidas nos tubos foram tituladas com água deionizada, e a cada 2 a 5% em massa de aumento do conteúdo de água as amostras foram agitadas vigorosamente em um agitador tipo vortex e então deixadas em repouso por 24 horas, até atingir o equilíbrio e serem analisadas.

As diferentes fases foram determinadas observando as amostras através de dois polarizadores cruzados (posicionados em ângulo de 90°), que permite, de maneira simples e segura, afirmar se a amostra é birrefringente ou não. As amostras birrefringentes, observadas através dos polarizadores cruzados, são brilhantes, enquanto que as não-birrefringentes são opacas. Amostras isotrópicas que permaneceram transparentes e homogêneas após nova agitação foram consideradas regiões de ME no diagrama de fases. Todas as medidas foram realizadas em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) e as perdas por evaporação foram desconsideradas.

3.3. Fração Volumétrica da Fase Dispersa

A fração volumétrica da fase dispersa (ϕ) é definida como:

$$\phi = \frac{V_{\text{micelar}}}{V_{\text{sistema}}} \quad (15)$$

onde V é o volume. Ou seja,

$$\phi = \frac{V_{\text{sistema}} - V_{\text{contínua}}}{V_{\text{sistema}}} \quad (16)$$

$$\phi = 1 - \frac{V_{\text{contínua}}}{V_{\text{sistema}}} \quad (17)$$

O volume da fase contínua é composto pelo volume do óleo de soja e dos diglicerídeos e triglicerídeos presentes na mistura da monooleína (MO) como na equação:

$$V_{\text{contínua}} = V_{\text{óleo}} + V_{\text{impureza}} \quad (18)$$

$$V_{\text{contínua}} = \frac{m_{\text{SBO}}}{\rho_{\text{SBO}}} + \frac{m_{\text{sistema}}}{\rho_{\text{impurezas}}} 0,6(X_{\text{MO}}) \quad (19)$$

onde ρ é a densidade, m é a massa e X é a fração mássica dos componentes e a constante 0,6 é a fração mássica de impurezas na amostra de MO.

Substituindo a equação (19) em (17), temos:

$$\phi = 1 - \left(X_{\text{SBO}} \frac{\rho_{\text{sistema}}}{\rho_{\text{SBO}}} + X_{\text{MO}} \frac{\rho_{\text{sistema}}}{\rho_{\text{impurezas}}} 0,6 \right) \quad (20)$$

As densidades das MEs e do óleo de soja foram medidas por picnometria.

3.4. Reologia

Os experimentos de reologia foram realizados usando um reômetro rotacional do tipo cone e placa Brookfield (Brookfield Engineering Laboratories, modelo RVIII, Stoughton, MA, USA). O equipamento foi operado com o cone variando a velocidade de 10 a 250 rpm, variando de 10 rpm a cada 10 segundos. Dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação foram coletados usando o programa Rheocalc (Brookfield Engineering Laboratories). Foi utilizado um banho termostático acoplado ao aparelho para manter a temperatura do experimento em 25°C.

3.5. Condutividade Elétrica

As medidas de condutividade elétrica foram realizadas em temperatura ambiente usando um condutivímetro Hanna (modelo HI 9032), equipado com um eletrodo com constante de cela igual a 1,0. As medidas foram realizadas em diferentes composições, em linhas de diluição com razão óleo/surfactante constante, por titulação de água com uma microseringa.

3.6. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

As medidas de espalhamento de luz foram realizadas usando um equipamento Zeta Sizer 3000 HS, operando com um laser com potência de 10 mW. A fonte luz é um de laser de He-Ne, com comprimento de onda de 633 nm. Todas as medidas foram realizadas com as amostras em temperatura de 25°C.

Neste trabalho foi usado espalhamento dinâmico de luz (DLS) para identificar MEs através do tamanho e verificar o efeito da composição no tamanho das MEs.

3.7. Espalhamento de Raio-X a Baixo Ângulo (SAXS)

Também foram realizadas medidas de SAXS objetivando, assim como as medidas de espalhamento de luz, identificar as fases de MEs nos diagramas de fases, através do perfil das curvas de intensidade de espalhamento vs. vetor de espalhamento $q = 4\pi\sin\theta/\lambda$, onde 2θ é o ângulo de espalhamento.

As medidas de SAXS foram realizadas em um equipamento convencional Rigaku Denki, equipado com um alvo de Cu K α em um anodo rotatório e um monocromador para um comprimento de onda $\lambda=1,54$ Å, e uma placa detectora de imagem, localizada a 48,5 cm da amostra condicionada em capilares de 1,5 mm de diâmetro. As imagens foram analisadas usando um scanner STORM 820 (Molecular Dynamics) usando o programa Imagequant, a fim de obter as curvas de espalhamento, ie., intensidade vs. ângulo de espalhamento q . As medidas foram obtidas a 25 °C.

3.8. Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa do óleo de soja e das MEs foi avaliada pelo método de Rancimat. A estabilidade foi expressa em tempo de indução de oxidação em horas, com a utilização de um equipamento Rancimat 743 (Metrohm). Uma vazão de ar (20 l/h) foi borbulhada através da amostra de óleo ou ME (3,0 g) aquecido a 110 °C e os produtos voláteis da degradação foram absorvidos em 60 ml de água destilada, aumentando a condutividade da água. O tempo de indução de oxidação foi definido como o tempo necessário para se alcançar o ponto de inflexão da curva de condutividade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sistema óleo de soja (OS)/FC:AOT/ água

4.1.1. Diagramas de Fases

Foram investigadas misturas ternárias de OS/AOT/água e nenhuma região de ME monofásica foi encontrada devido à baixa solubilidade do AOT em óleo de soja (menor que 1%), o que não proporciona uma tensão superficial suficientemente baixa para formação de MEs. Apesar do AOT ser insolúvel em óleo de soja ele pode formar grandes regiões de ME de água em óleo (W/O) com outros solventes apolares como iso-octano e p-xileno (Evans e Wennerström, 1999; Sjöblom et al., 1996). Sendo assim, ele foi mantido como co-surfactante para os sistemas com FC e MO.

Misturas de OS/FC/água também foram investigadas e nenhuma região isotrópica e transparente monofásica de MEs foi encontrada. O óleo de soja é composto por triglicerídeos de cadeia longa, assim como as caudas hidrofóbicas de FC (16 carbonos), o que favorece a diminuição da tensão interfacial entre a face hidrofóbica de uma monocamada de FC e a fase óleo de soja. Porém, FC é insolúvel em água e, portanto, sendo o único surfactante, não é eficiente para baixar a tensão interfacial com este solvente e formar MEs.

A combinação de FC e AOT (AOT possui caudas mais curtas) diminui a tensão interfacial entre o óleo de soja e água, formando MEs em algumas composições do sistema. Para este sistema pseudoternário foram construídos três diagramas de fases de óleo de soja/FC:AOT/água, nas razões FC:AOT de

1:2, 1:1 e 2:1, mostrados na Figura 16. As regiões de MEs de W/O (L_2) ocupam áreas, respectivamente, de 1,4, 2,1 e 1,4%, da área total do diagrama.

Nas regiões vizinhas às fases de MEs coexistem duas fases em equilíbrio, sendo uma de ME e a outra fase birrefringente (provavelmente uma fase lamelar, $p = 1$).

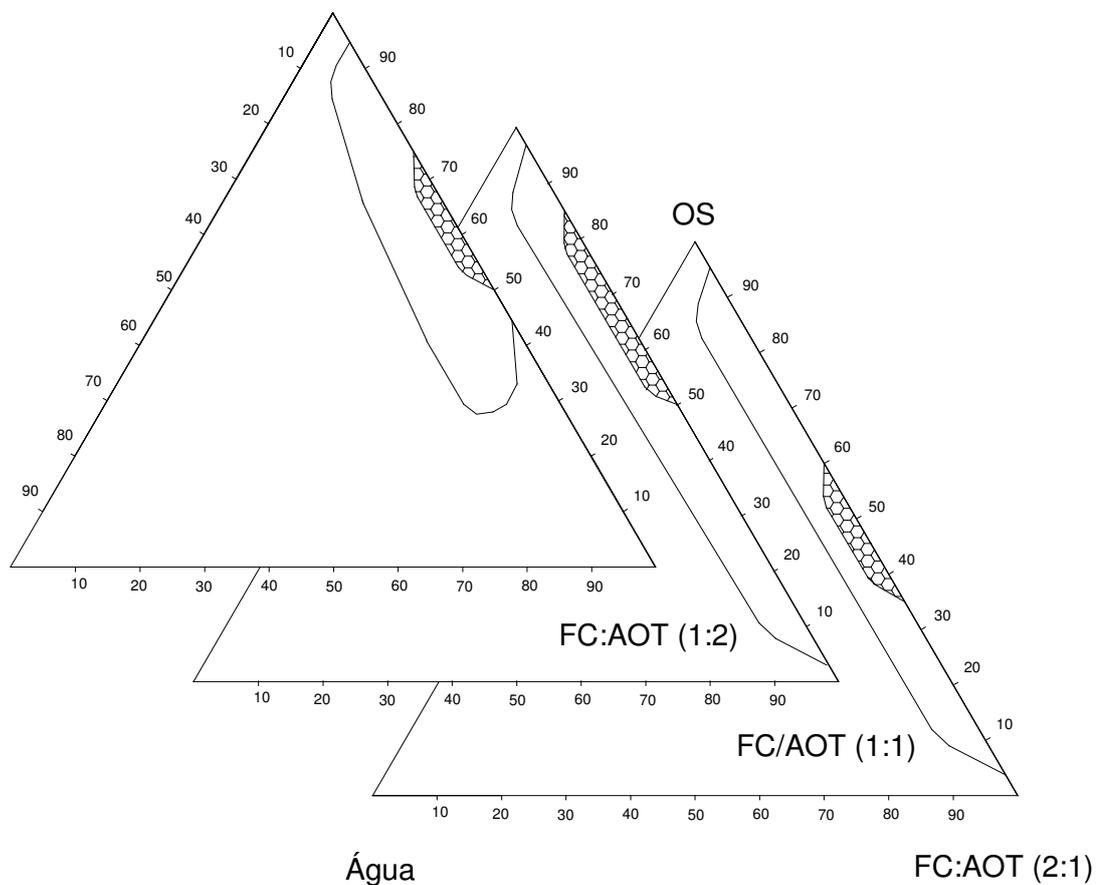


Figura 16: Diagramas de fases pseudoternários de óleo de soja/FC:AOT/água para razões de FC:AOT de 1:2, 1:1 e 2:1. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs (L_2) e ao redor regiões de duas fases MEs + uma fase birrefringente ($L_2 + L_C$).

As estruturas dos agregados formados por surfactantes podem ser preditas pelo parâmetro de empacotamento, $p = v/(a \cdot l)$ (Eq. 1). Como v e l , não são dependentes da força iônica e a diminui com o aumento desta força, para surfactantes iônicos devido a efeitos de blindagem eletrostática, a adição de íons ao sistema aumenta o parâmetro de empacotamento causando alterações nas estruturas dos agregados.

Diante disso, foram construídos diagramas de fases pseudoternários na presença de NaCl (fase aquosa), na tentativa de se obter sistemas com regiões maiores de MEs. Tais diagramas foram construídos para a razão FC:AOT 1:1, que apresentou a maior área de MEs. A Figura 17 representa os diagramas de fases dos sistemas óleo de soja/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl, com conteúdo mássico de NaCl de 0, 2, 5, 8, 11 e 15% em peso, respectivamente.

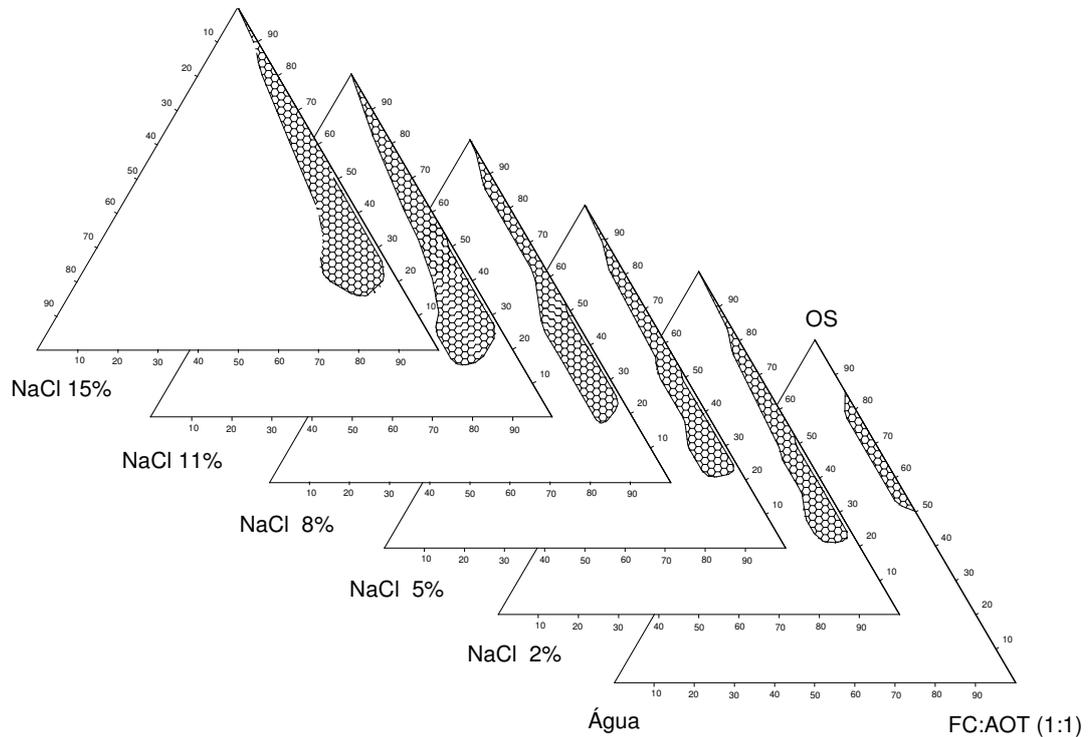


Figura 17: Diagrama de fases pseudoternários de óleo de soja/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl 0, 2, 5, 8, 11 e 15%. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs (L_2).

De acordo com os diagramas de fases para OS/FC:AOT/solução aquosa, para o sistema livre de sal, estruturas birrefringentes (possivelmente lamelas, $p=1$) próximas a borda da fase L_2 , se revertem para a fase de MEs de W/O ($p > 1$) na presença de NaCl. O sal, portanto tende a expandir a área da fase L_2 até um valor máximo para NaCl 11%; acima desta concentração o efeito de blindagem das cargas é saturado, e a área da fase de ME permanece constante, como mostra a Figura 18. Também pode ser observado na Figura 17 que as mudanças mais pronunciadas na área de MEs ocorre na região mais concentrada em surfactantes, onde o efeito de blindagem das cargas dos grupos polares é mais pronunciado.

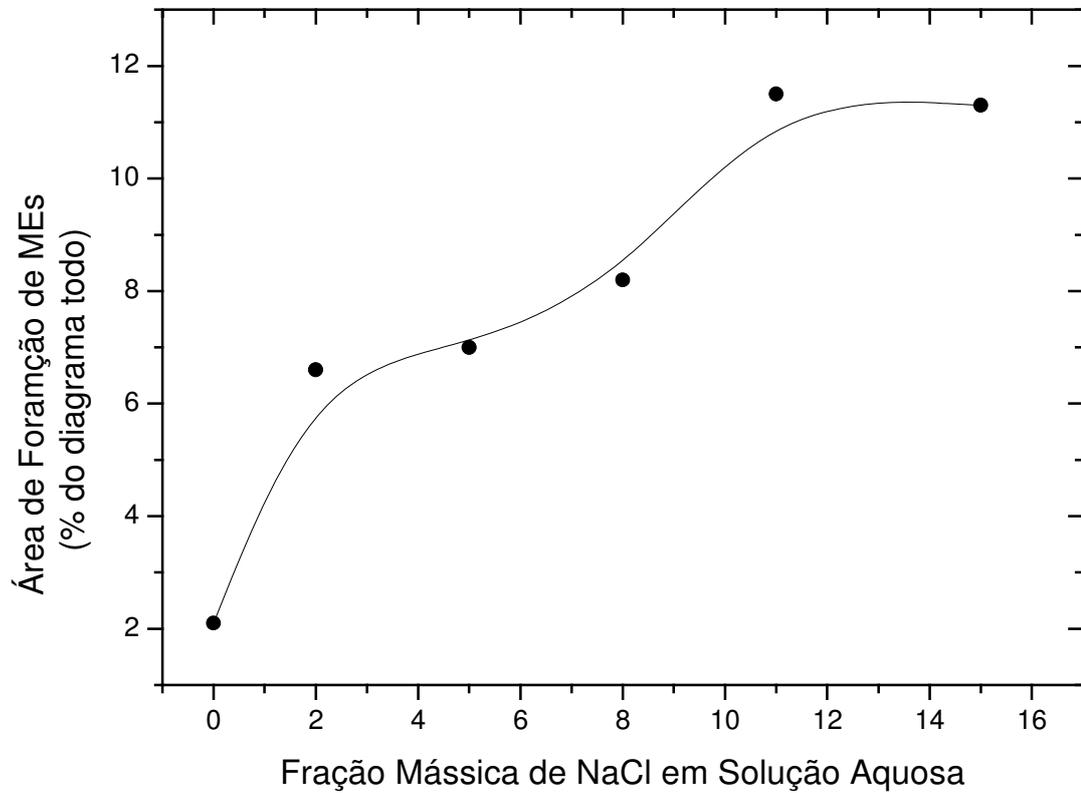


Figura 18: Área de formação de MEs versus fração mássica de NaCl em solução aquosa.

4.1.2. Reologia

Uma investigação reológica foi feita em amostras da fase L_2 na presença e ausência de NaCl 11% para obter informações estruturais sobre esta fase.

Gráficos de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação foram construídos e todas as amostras analisadas apresentaram uma relação linear entre as duas grandezas, ou seja, todas elas obedeceram a lei de Newton

da viscosidade, $\tau = \eta \cdot \dot{\gamma}$, sendo então classificadas como fluidos Newtonianos e podendo ser encontrada a viscosidade do sistema através um ajuste linear. Como exemplo disto temos o reograma apresentado na Figura 19, para a linha de diluição 95:5 sem água.

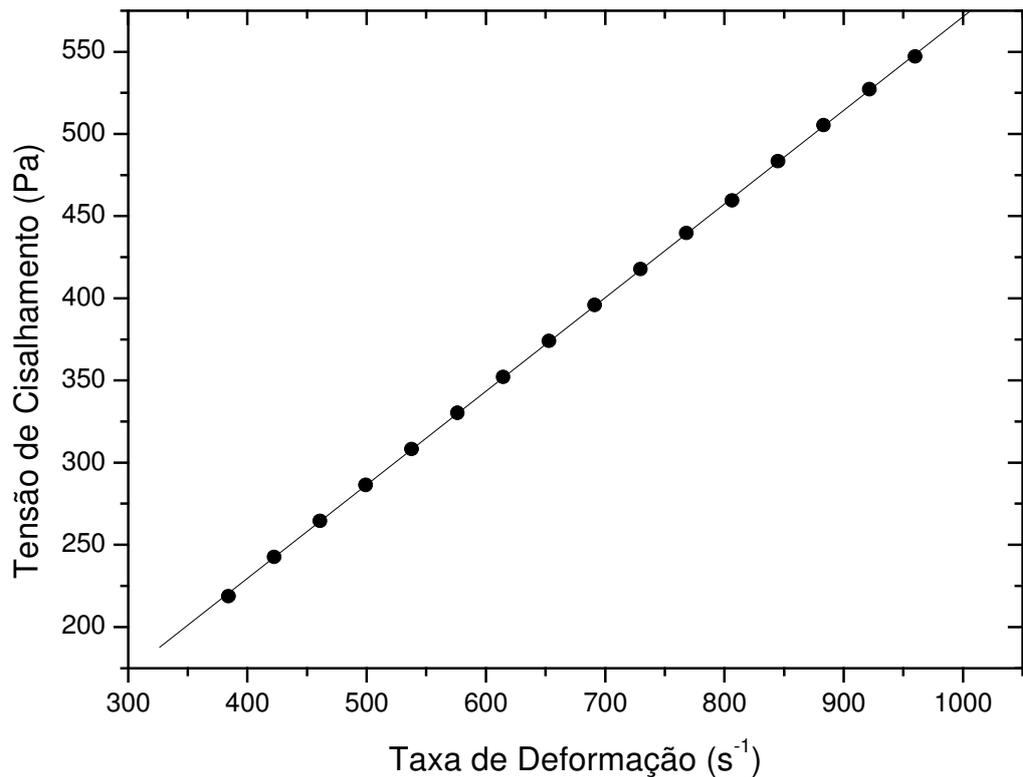


Figura 19: Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para amostra encontrada na linha de diluição 95:5 (óleo:surfactante) sem água, no diagrama FC:AOT 1:1.

Na Figura 19 um ajuste linear foi conseguido, com um coeficiente de correlação $r = 0,9999$, e a viscosidade encontrada é igual a 56 cP. Estudos reológicos realizados em microemulsões indicam que este sistema geralmente

exibe um comportamento newtoniano e que a viscosidade depende da estrutura (Garti et al., 2006; Yaghmur et al., 2003).

A Figura 20 mostra a viscosidade como função das linhas de diluição x:y (surfactante:SOB), na ausência e na presença de solução aquosa (11 % NaCl). Nota-se uma pequena inversão nas curvas ao redor da linha de diluição 70:30. No entanto, o ponto exato onde ocorre a mudança não é bem definido porque os valores de viscosidade das amostras com e sem solução aquosa se aproximam e a diferença entre as viscosidades dos pontos intermediários (65:35, 70:30, 75:25 e 80:20) é menor do que o desvio padrão das medidas, dessa forma tornando inexato o ponto de inversão de comportamento. A baixo (acima) deste ponto a viscosidade é maior (menor) para as MEs secas. O aumento na viscosidade com o conteúdo de solução aquosa, ao longo de uma linha de diluição (acima da linha de diluição 70:30), deve estar relacionado ao aumento no tamanho e na interação entre micelas esféricas em uma ME de W/O, comportamento também encontrado por outros pesquisadores com outros sistemas (Note et al., 2006; Garti et al., 2006; Polizelli et al., 2006 e Yaghmur et al., 2003). O aumento no tamanho das micelas nesta região foi confirmado por experimentos de DLS. O diâmetro médio das micelas ao longo da linha de diluição 95:5 aumentou de 4,8 para 7,3 nm quando o conteúdo aquoso variou de 0,5 para 1,0%.

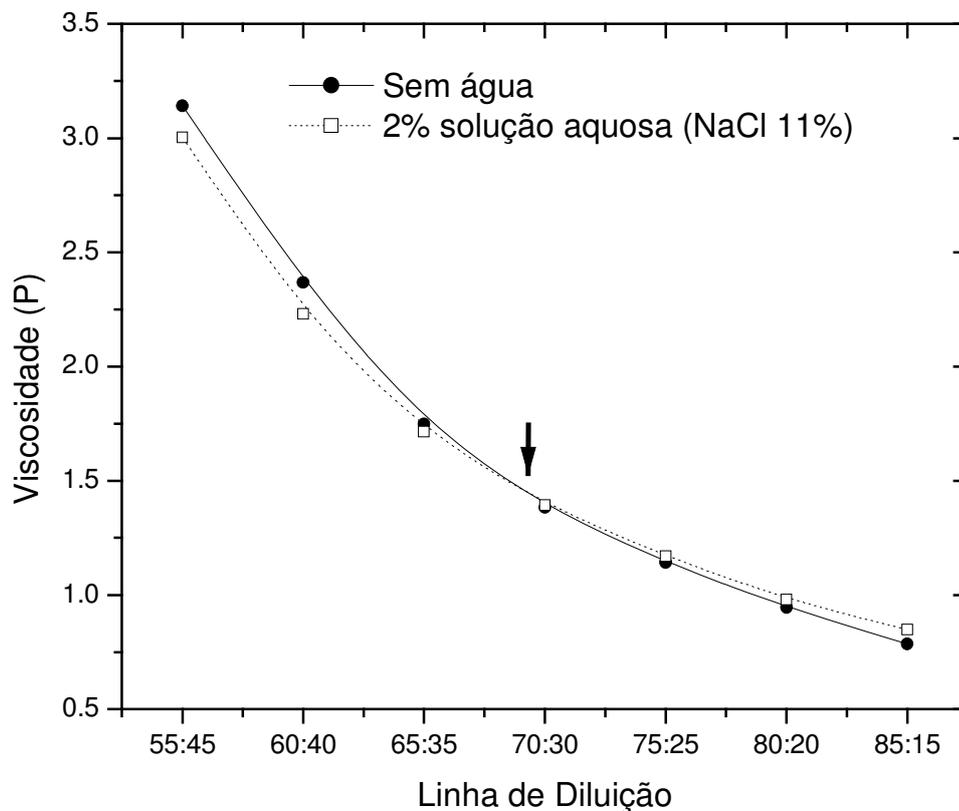


Figura 20: Viscosidade vs linha de diluição (x:y) para o sistema OS/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl (11%), para dois conteúdos aquosos (0 e 2%). A seta indica o ponto de inversão das curvas.

No entanto, para linhas de diluição abaixo da 70:30 a viscosidade diminuiu com o aumento do conteúdo aquoso, o que pode ser notado mais claramente na Figura 21. Uma hipótese é a existência de agregados micelares reversos não esféricos na fase isotrópica. Resultados similares foram encontrados por Fanun et al. (2001). Steytler et al. (1996), através de dados de viscosidade, também reportaram uma transição de agregados não-esféricos (cilíndricos) para agregados esféricos, confirmado por experimentos de SANS. O aumento no conteúdo aquoso hidrata os grupos polares tornando os agregados mais esféricos, diminuindo assim a viscosidade do sistema. O sinal de

espalhamento dinâmico de luz (DLS) para esta parte do diagrama de fases gerou uma correlação ruim, o que é um forte indício de que estes agregados realmente não são esféricos.

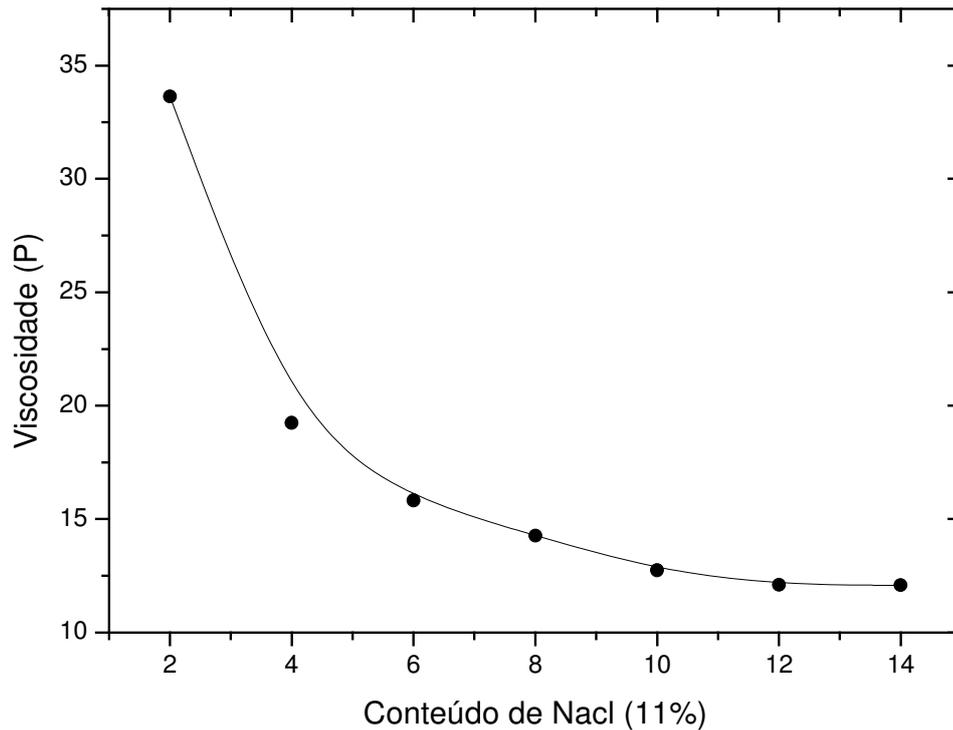


Figura 21: Viscosidade vs conteúdo aquoso para o sistema OS/FC:AOT(1:1)/solução aquosa de NaCl (11%), para a linha de diluição 30:70.

4.2. Sistema óleo de soja (OS)/MO:AOT/água

4.2.1. Diagramas de Fases

No diagrama de fases ternário de óleo/MO/água, Figura 22, foi identificada uma região, monofásica, isotrópica e transparente de MEs, que ocupa uma área de 6,5% da área total do diagrama.

O óleo de soja contém 23,3% de ácido oléico formando triglicerídeos (O'Brien, 1998), o que permite que a MO seja totalmente solúvel neste óleo. Conseqüentemente, a tensão interfacial entre a face hidrofóbica de uma monocamada formada por MO em óleo de soja, é baixa e favorece a formação de MEs.

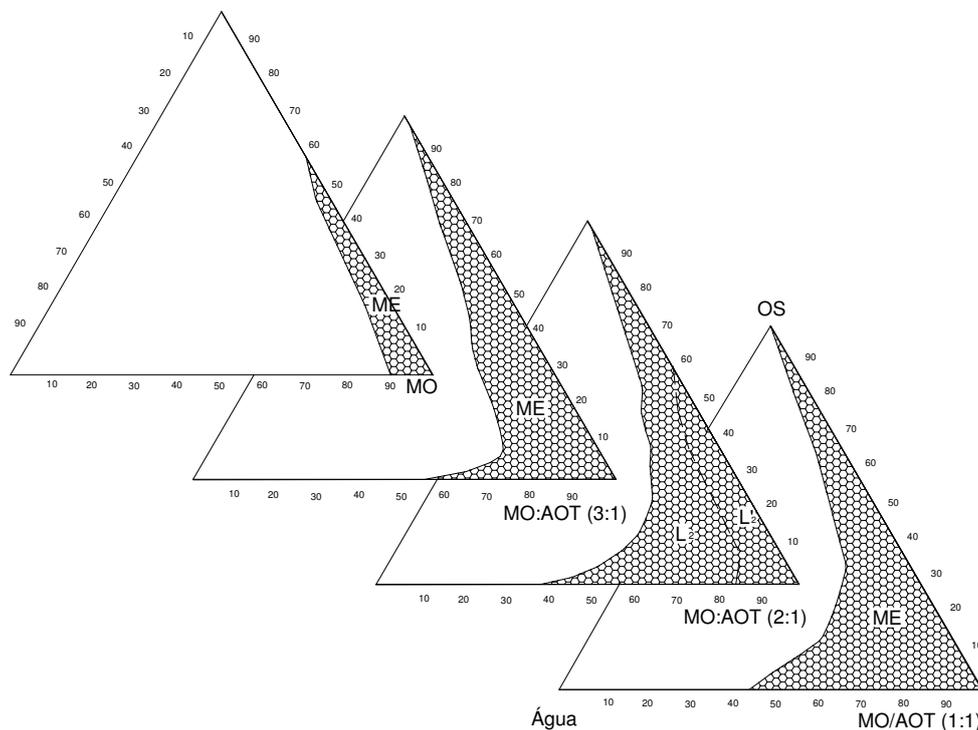


Figura 22: Diagramas de fases ternários e pseudoternários para os sistemas óleo de soja/MO/água e óleo de soja/MO:AOT/água para razões de MO:AOT de 1:1, 2:1 e 3:1. As áreas hachuradas representam as regiões monofásicas de MEs.

A combinação de MO e AOT causou uma diminuição da tensão interfacial entre as fases de óleo de soja e água, suficiente para a formação de MEs em uma vasta gama de composições do sistema. Para este sistema pseudoternário foram construídos três diagramas de fases de

óleo/MO:AOT/água, para as razões de MO:AOT 1:1, 2:1 e 3:1, mostrados na Figura 22. Nesses diagramas, as regiões de MEs ocupam, respectivamente, 30,2, 31,6 e 24,4%, da área total do diagrama.

4.2.2. Reologia

A fase isotrópica e transparente de MEs (na mesma coloração do óleo puro) identificada no diagrama de óleo de soja/MO:AOT/água, com razão de MO:AOT 2:1 (maior região de MEs), foi investigada por experimentos de reologia realizados sistematicamente em amostras sobre as linhas de diluição (que mantêm constante a razão óleo:surfactante, variando a composição da água).

Todas as amostras investigadas tiveram comportamento newtoniano como pode ser confirmado pelo comportamento linear observado no gráfico de tensão de cisalhamento versus taxa de deformação mostrado na Figura 23, para amostra sobre a linha de diluição 100:0 (surfactante:óleo) com uma fração mássica de água de 0,15.

As Figuras 24 e 25 mostram o efeito do conteúdo de água na viscosidade relativa da mistura, para as linhas de diluição de 50:50, 60:40, 70:30, 75:25, 80:20, 85:15, 90:10 e 100:0. Um aumento no conteúdo de água nas MEs ocasiona, inicialmente, uma diminuição da viscosidade relativa até um valor mínimo, a partir do qual o comportamento se inverte e a viscosidade aumenta. Este comportamento sugere a existência de duas regiões isotrópicas e transparentes, onde as MEs se comportam de maneira diferente e a transição de fases ocorre no mínimo de viscosidade. Polinômios de ordem quatro foram ajustados aos dados experimentais de viscosidade e o mínimo de cada gráfico

foi encontrado, e tomado como ponto da fronteira entre essas fases, denominadas L_2 e L'_2 , como indicado na Figura 22.

Transformando as razões água/surfactante da fronteira entre as fases L_2 e L'_2 de mássicas para molares e considerando a impureza da MO, como mostra a equação (21), foi encontrada a razão de aproximadamente $4,7 \pm 0,9$ moléculas de água por molécula de surfactante, na transição entre L_2 e L'_2 . Este valor se aproxima de dados encontrados na literatura do máximo de água ligada por molécula de surfactante (Fioretto et al., 1999).

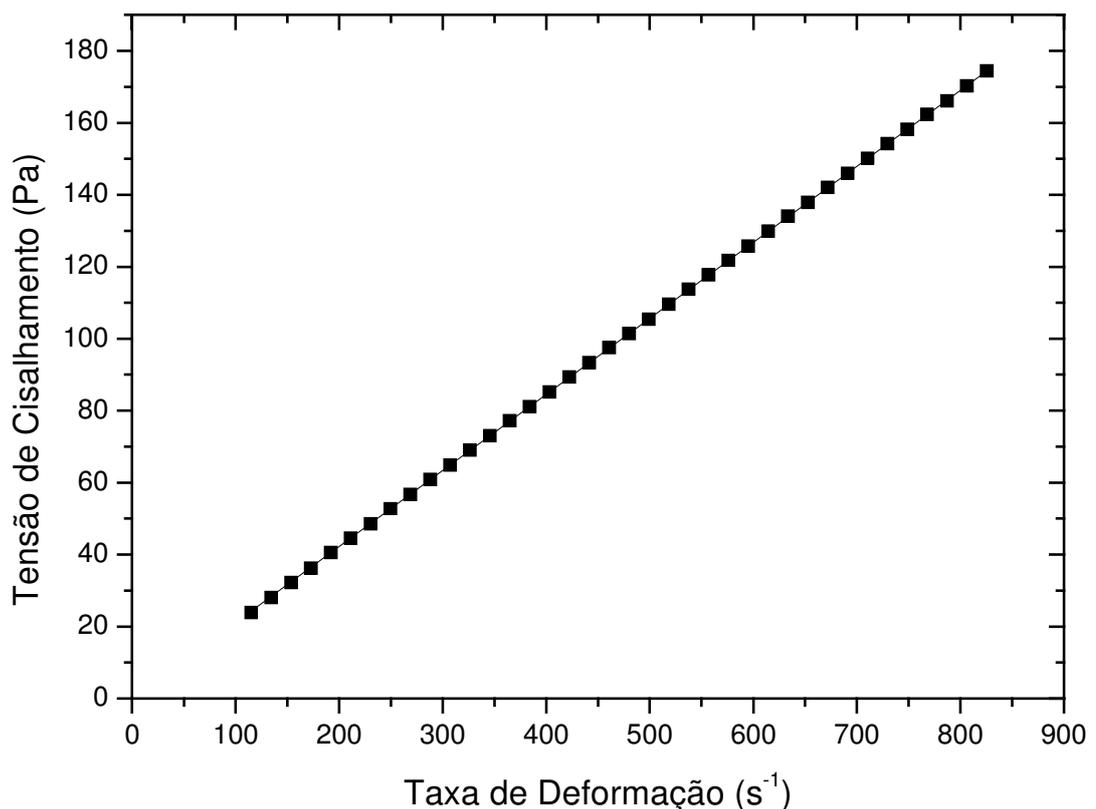


Figura 23: Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para amostra encontrada na linha de diluição 100:0 (surfactante: óleo) com uma fração mássica de água de 0,15 no diagrama com razão MO:AOT 2:1.

$$\frac{m_{H_2O} / MM_{H_2O}}{m_{AOT} / MM_{AOT} + m_{MO} \cdot 0,6 / MM_{MO}} \quad (21)$$

Na fase L_2 o aumento da viscosidade está relacionado ao aumento da fração volumétrica das micelas reversas (fase dispersa), que favorece o aumento do contato e, conseqüentemente, do atrito entre as micelas durante o escoamento, aumentando assim a viscosidade do sistema.

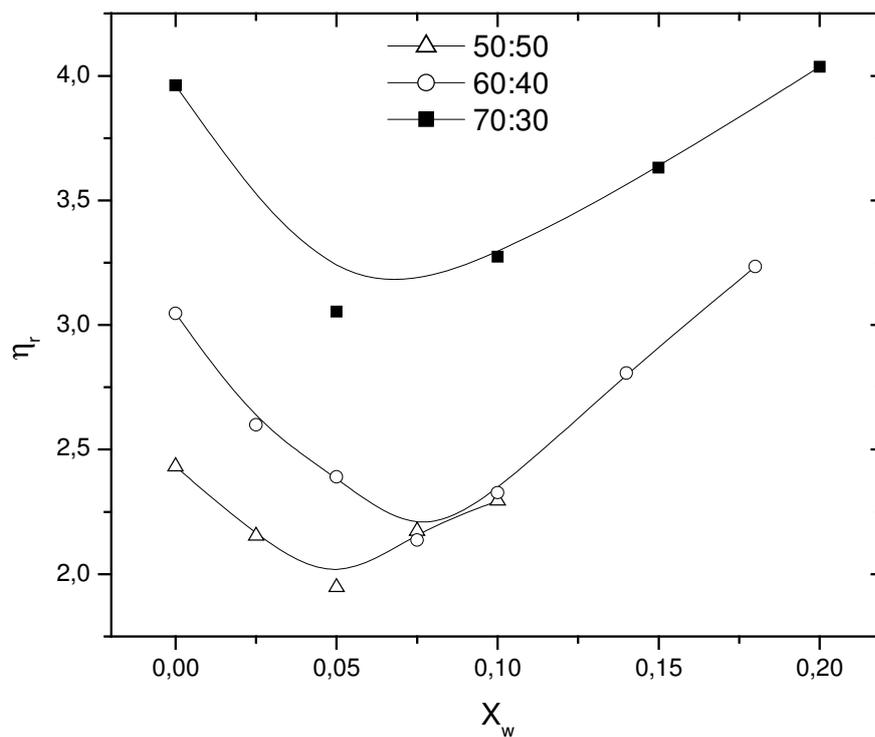


Figura 24: Viscosidade Relativa em função da fração mássica de água para as linhas de diluição 50:50, 60:40 e 70:30 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.

Na Figura 25 nota-se que na região L_2' , na ausência de água, η_r aumenta com o aumento da razão surfactante/óleo. No entanto, este comportamento se inverte para fase L_2 , onde η_r diminui com o aumento da

razão surfactante/óleo, provavelmente devido à redução do tamanho das micelas (confirmado pelos dados de DLS mostrados a seguir) causado pelo aumento da área interfacial específica.

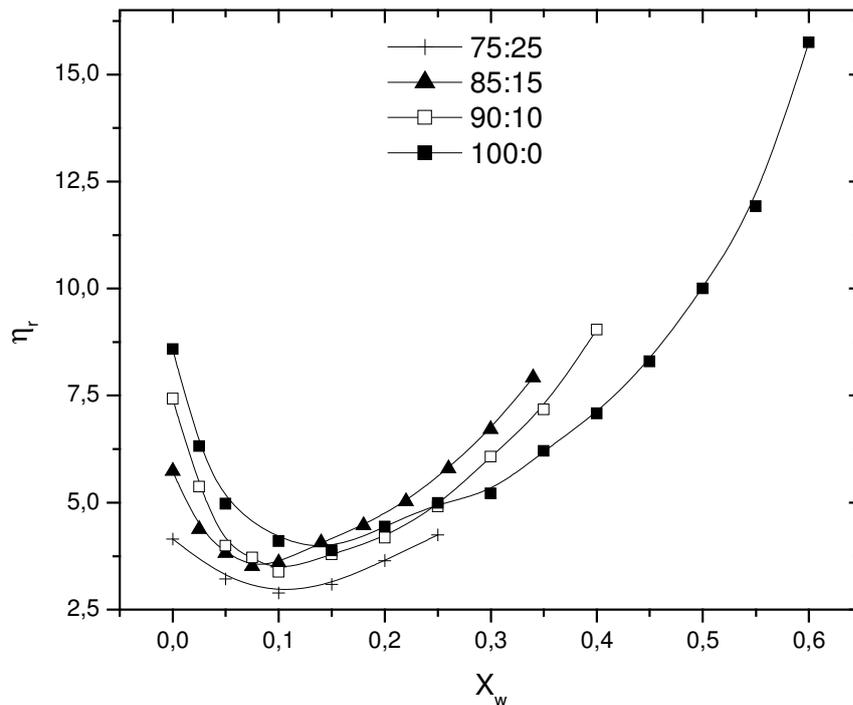


Figure 25: Viscosidade Relativa em função da fração mássica de água para as linhas de diluição 75:25, 85:25, 90:10 e 100:0 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.

Para a fase L_2 de MEs foram construídos gráficos de viscosidade relativa versus fração volumétrica da fase dispersa, mostrado nas Figuras 26-28. As relações de Krieger e Mooney (equações 13 e 14) foram ajustadas a estes resultados. A equação de Money se ajustou melhor aos dados, considerando-se os coeficientes de determinação r^2 . Estes parâmetros estatísticos e os parâmetros obtidos pelo ajuste estão apresentados na Tabela 1.

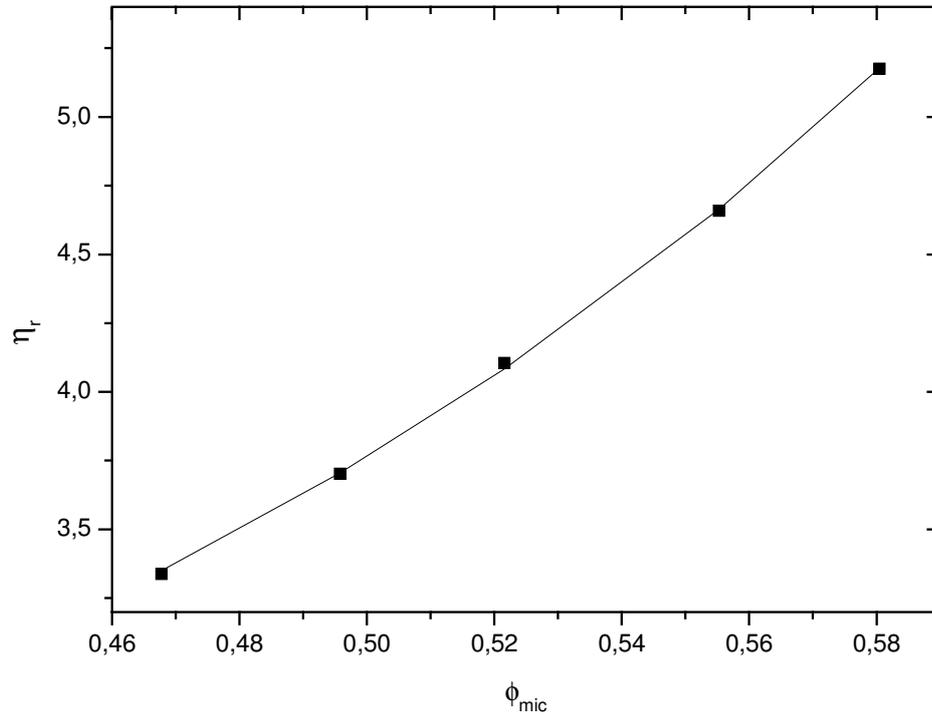


Figura 26: Viscosidade relativa vs. fração volumétrica micelar para a linha de diluição 80:20 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.

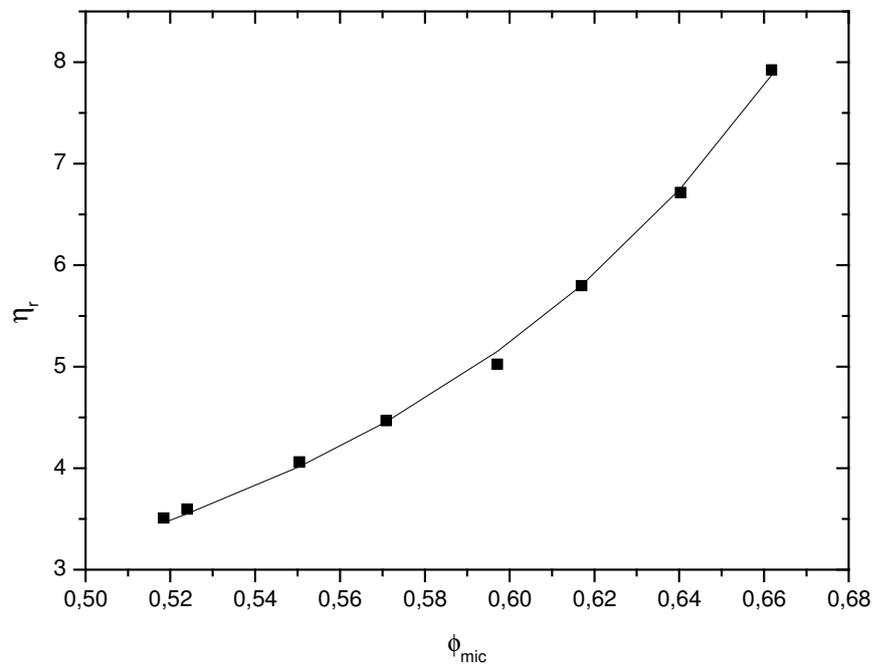


Figura 27: Viscosidade relativa em função da fração volumétrica micelar para a linha de diluição 85:15 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.

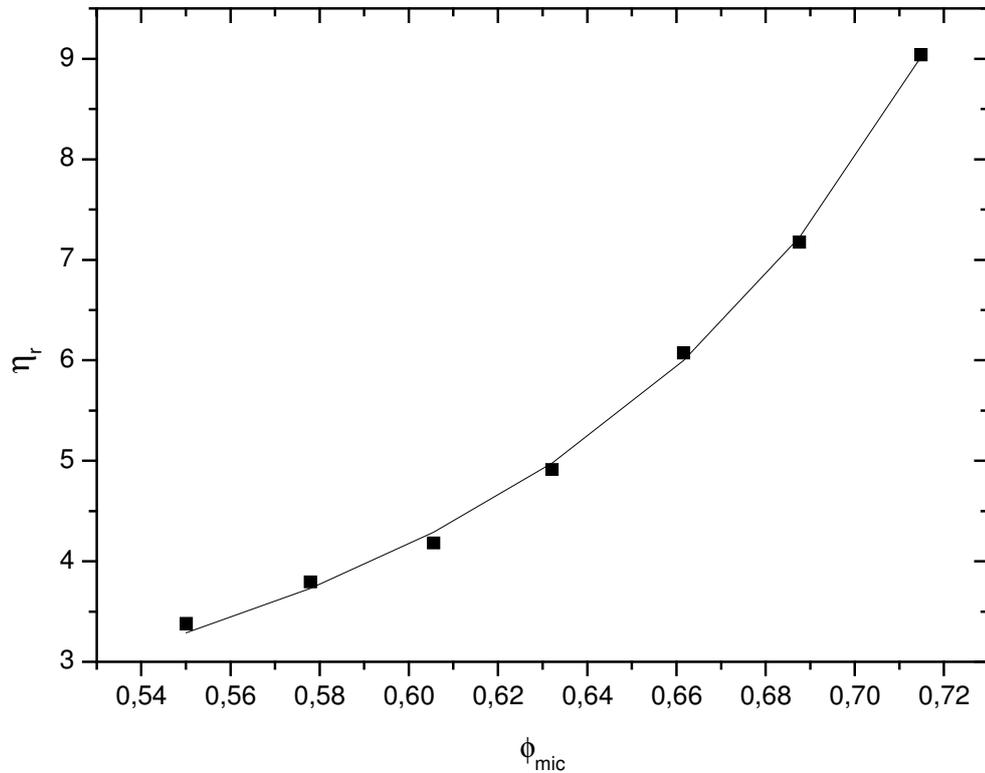


Figura 28: Viscosidade Relativa em função da fração volumétrica micelar para a linha de diluição 90:10 do diagrama com razão MO:AOT 2:1.

Tabela 1: Parâmetros obtidos pelo ajuste da equação de Mooney aos dados de viscosidade relativa em função da fração micelar volumétrica.

Linha de diluição	c	b	r^2
80:20	0,596	1,851	0,9998
85:15	0,878	1,305	0,9985
90:10	0,904	1,088	0,9986

Observa-se que o parâmetro de interação intermicelar c aumenta com o aumento da razão surfactante:óleo (indicado pelas linhas de diluição), ou seja, com o aumento da fração volumétrica da fase dispersa. Além disso, o parâmetro

b , relacionado à viscosidade intrínseca, diminui com o aumento da razão surfactante:óleo, devido à diminuição do raio hidrodinâmico das gotas dispersas (confirmado pelos experimentos de DLS mostrados adiante). Este fato pode ser entendido pelo aumento no conteúdo de surfactantes que possibilita um aumento na área interfacial (água/óleo) por volume, o que leva à formação de micelas menores com grande área interfacial. Os valores do parâmetro de ajuste r^2 estão próximos da unidade, indicando bom ajuste das curvas aos dados experimentais.

A viscosidade na fase L_2' exibe um comportamento oposto ao predito pela equação de Mooney, possivelmente devido a mudanças nas estruturas formadas nesta fase, como discutido adiante.

4.2.3. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Foram realizados experimentos de DLS na região de MEs L_2 e L_2' do diagrama do sistema óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água mostrado na Figura 22. A Figura 29 mostra uma curva típica de DLS para o sistema, na linha de diluição $x:y = 85:15$, e fração mássica de água $X_{\text{Água}} = 0,19$. A curva apresenta um pico único e estreito em torno do diâmetro médio, indicando que a amostra tem baixa polidispersidade. A Tabela 2 mostra o efeito da composição da amostra no diâmetro hidrodinâmico D_H e na polidispersidade das micelas reversas da fase L_2 . Seguindo uma linha de diluição $x:y$, o diâmetro das micelas D_H aumenta com o conteúdo de água, indicando que as MEs são do tipo W/O. Também pode ser notado que o tamanho das micelas diminui com o aumento da razão surfactante:óleo. Estes resultados condizem com os encontrados nos experimentos de reologia, onde o aumento da razão surfactante/óleo diminui a

viscosidade intrínseca das gotas da fase dispersa (micelas reversas).

Para amostras na região L_2' a função correlação não decai a zero e os valores de diâmetro D_L não podem ser estimados, pois não assumem um valor dentro da faixa de valores micelares. Sendo, portanto, este método inadequado para a determinação do tamanho das micelas nesta região.

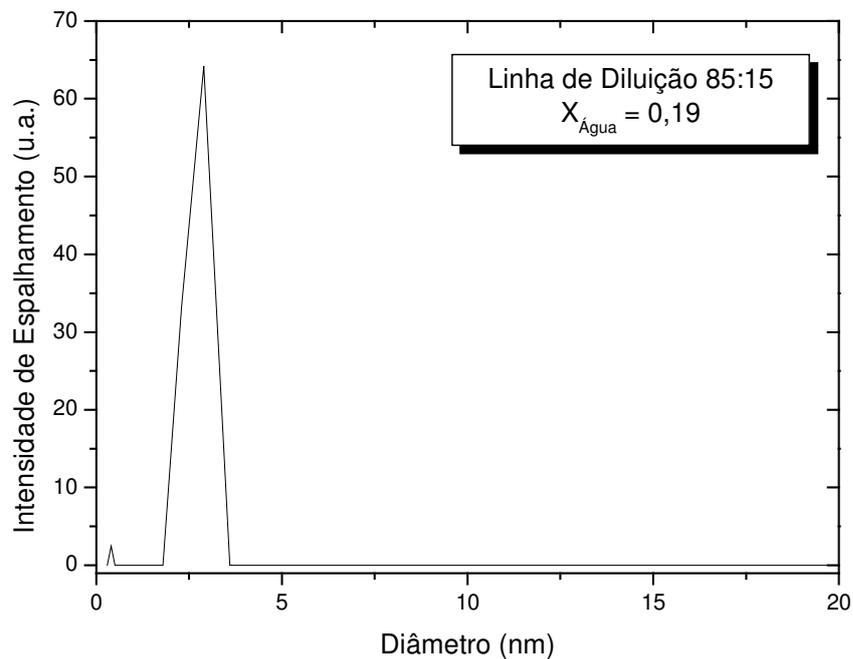


Figura 29: Curva típica de DLS para MEs do sistema óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água, na linha de diluição $x:y = 85:15$, e fração mássica de água $X_{\text{Água}} = 0,19$.

Tabela 2: Diâmetro e polidispersidade das micelas reversas da região de ME W/O do diagrama de óleo/monooleína:AOT (2:1)/água.

Linha de diluição	Conteúdo mássico de água (%)	Diâmetro Médio (nm)	Polidispersidade
75:25	15	4,5	0,70
	20	7,4	0,47
	25	16,5	0,70
85:15	19	3,6	0,58
	22	3,7	0,47
	26	5,4	0,34
20:80	2	13,9	0,28

4.2.4. Espalhamento de Raio-X à Baixo Ângulo (SAXS)

As Figuras 30 e 31 mostram curvas de SAXS para o sistema óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água em razões surfactante:óleo de soja (linhas de diluição x:y) 80:20 e 75:25 e alguns conteúdos de água. As amostras pertencem às fases L_2 ou L_2' , como mostrado nas legendas das figuras. Para comparação também é apresentada a curva para o óleo de soja puro. As curvas exibem um único pico centrado em um valor de q^* , mas com diferentes comportamentos para as fases L_2' e L_2 .

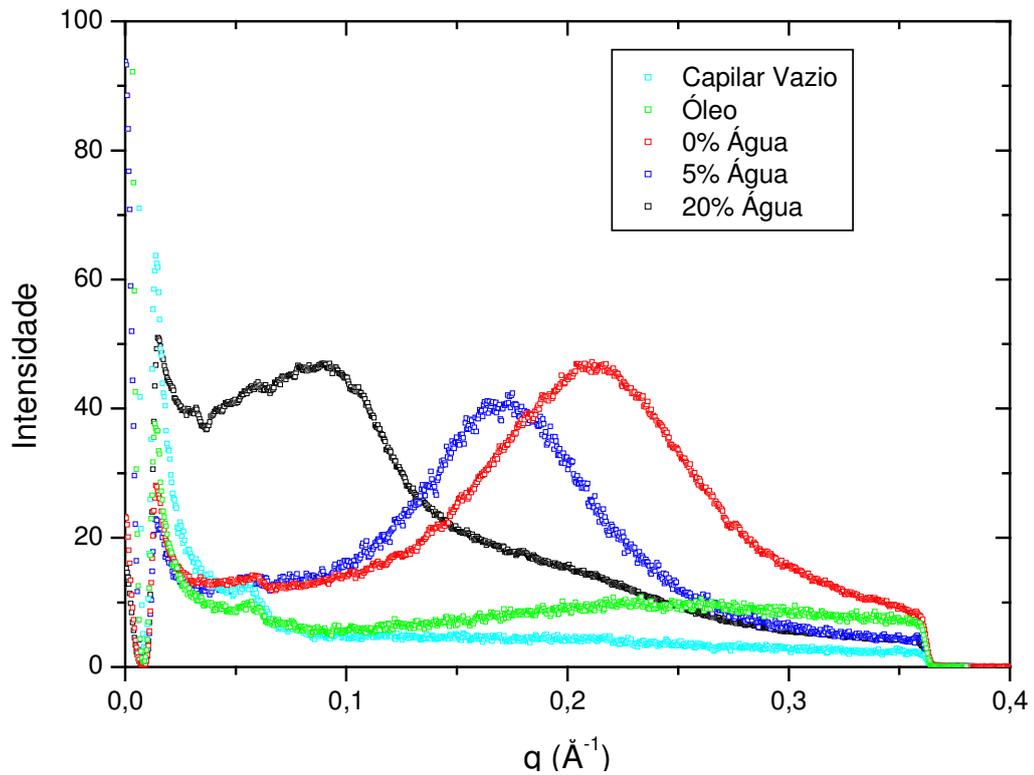


Figura 30: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema pseudoternário óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água. L_2 e L_2' . As curvas referem-se a uma amostra de óleo, ao capilar vazio, e a pontos sobre a linha de diluição 75:25 com 0, 5 e 20% de água (os dois primeiros estão na região de interação intermicelar forte e o terceiro na região de interação menor).

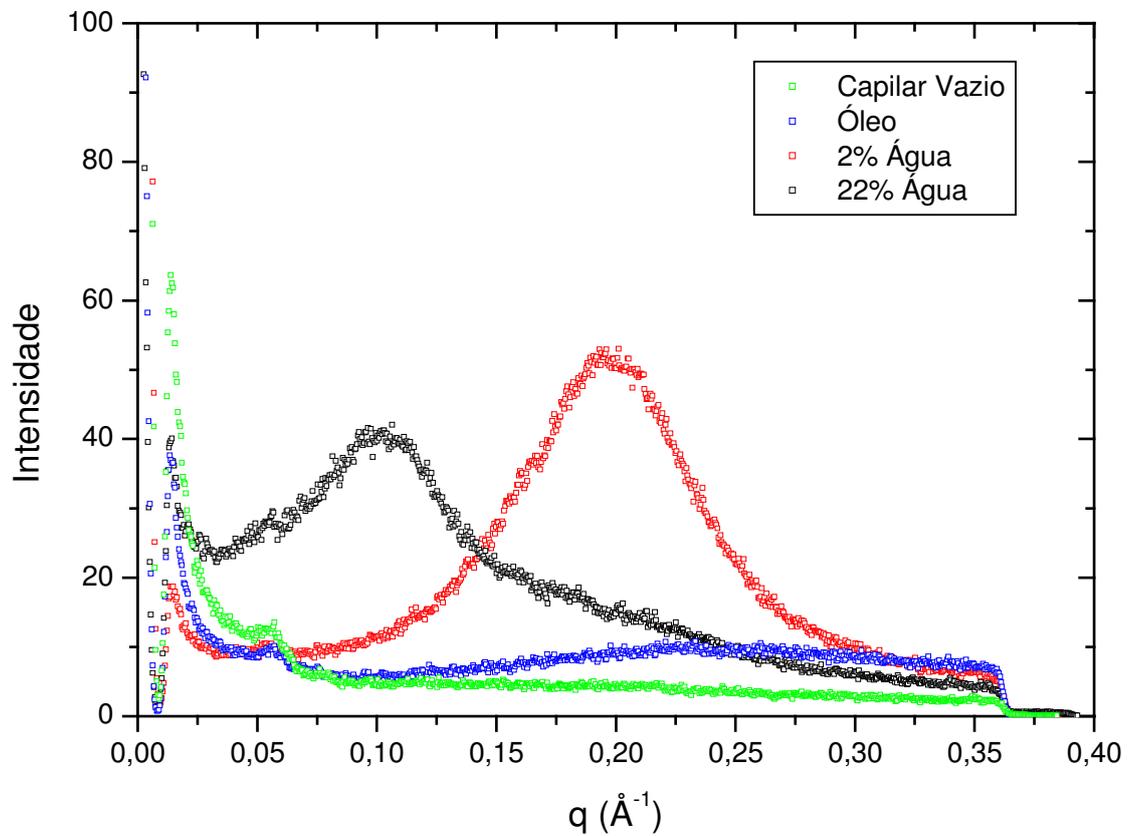


Figura 31: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema pseudoternário óleo de soja/MO:AOT(2:1)/água. L_2 e L_2' . As curvas referem-se a uma amostra de óleo puro, ao capilar vazio, e a pontos sobre a linha de diluição 85:15 com 2 e 22% de água (regiões de interação intermicelar mais e menos fortes respectivamente).

Na fase L_2 os picos em $q^* \approx 0,1 \text{ \AA}^{-1}$ são assimétricos, com altas intensidades em baixos valores de q , para ambos com 20% (p/p) de água na linha surfactante:óleo de soja 75:25 (Figura 30) e com 22% (p/p) de água na linha surfactante:óleo de soja 80:20 (Figura 31). Estas curvas têm um típico

comportamento assimétrico esperado para micelas esféricas, com um pico devido ao contraste entre os grupos polares com a água e a parafina (Itri e Amaral, 1994). Na fase L_2' as curvas, no entanto, são simétricas ao redor do pico em valores de q e podem ser interpretadas em termos de uma correlação de distância característica $d = 2\pi q^{-1}$ na faixa de 29–36 Å. Uma possível origem para este pico é uma estrutura de ME seca, como discutido a seguir.

4.2.5. Região L_2' de MEs Secas

O possível agregado presente na fase L_2' será discutido baseado nos resultados aqui obtidos e os presentes na literatura para sistemas similares. De acordo com diagrama de fases (Figura 7), o sistema binário AOT/água, na presença de pouca água, a seguinte seqüência de fases é observada: lamelar, cúbica, hexagonal reversa (Jönsson et al., 1998; Silber et al., 1999). Estruturas cilíndricas (hexagonal) são formadas por AOT seco (sem água). MO pura, no entanto, forma lamelas acima de 4% (p/p) de água de hidratação, com uma distância entre as bicamadas de 49,3 Å (Qiu e Caffrey, 2000).

O sistema AOT/ciclohexano/água também forma micelas reversas cilíndricas com raio de aproximadamente 7,5 Å (Steytler et al., 1996). O comprimento dos cilindros decresce quando água é adicionada, e as estruturas tornam-se gotas de água/óleo quando há ~5 moléculas de água por molécula de surfactante, em acordo com o valor (4,7) encontrado neste trabalho para transição estrutural do sistema óleo de soja/AOT:MO/água. As gotas esféricas encontradas por Steytler (1996) assemelham-se à fase L_2 do sistema óleo de soja /AOT:MO/água, mas este sistema não apresenta um valor mínimo de

viscosidade, o qual caracteriza a região L_2' encontrada neste trabalho. A insolubilidade de AOT em óleo de soja evidencia que a longa cadeia da molécula de MO é crucial para mediar o empacotamento com as moléculas de triglicerídeos. A distância de repetição vista por SAXS na fase L_2' (29-36 Å) é muito grande para ser associada à distância entre os grupos polares do AOT em um grupamento cilíndrico, e muito pequena para ser associada à distância de repetição entre lamelas formadas por moléculas de cadeia longa como a MO ou os triglicerídeos. Os resultados de SAXS foram obtidos para amostras com aproximadamente 1:1:1 AOT/MO/triglicerídeo, em base molar, (considerando a quantidade de triglicerídeos como a soma dos presentes no óleo de soja e nas impurezas da amostra de MO). De posse de tais resultados, torna-se razoável propor uma estrutura “lamelar local”, mas com monocamadas alternando moléculas de AOT e MO. A Figura 32 mostra um esquema de um modelo sugerido para uma estrutura lamelar seca na fase L_2' , na qual a MO posiciona seu grupamento polar próximo ao do AOT e as cadeias de todas as moléculas são posicionadas para dentro da bicamada. Há compatibilidade entre as distâncias de repetição encontradas por SAXS e a distância calculada entre moléculas de MO de duas monocamadas adjacentes, como mostrado na Figura 32. Esta estrutura apresenta um alto custo entrópico e é a razão do caráter “local” desta estrutura. No entanto, se as cadeias de MO exibem uma distribuição aleatória, as moléculas flexíveis de triglicerídeos podem preencher os espaços vazios. A estrutura “lamelar local” deve ser não plana, levando à não formação de uma fase lamelar líquido cristalina com uma faixa grande. Os grupos polares do AOT e MO podem ser ligados através de uma rede de ligações de hidrogênio.

As estruturas mantêm-se, enquanto as moléculas de água são ligadas aos grupos polares dos surfactantes para formar MEs quase-secas, com água ligada no interior, e como consequência a viscosidade relativa é reduzida. O mínimo de viscosidade deve corresponder à transição de MEs com água ligada para MEs com água livre no interior, iniciando a partir desta quantidade de água a formação de MEs de W/O ordinárias (Figura 33).

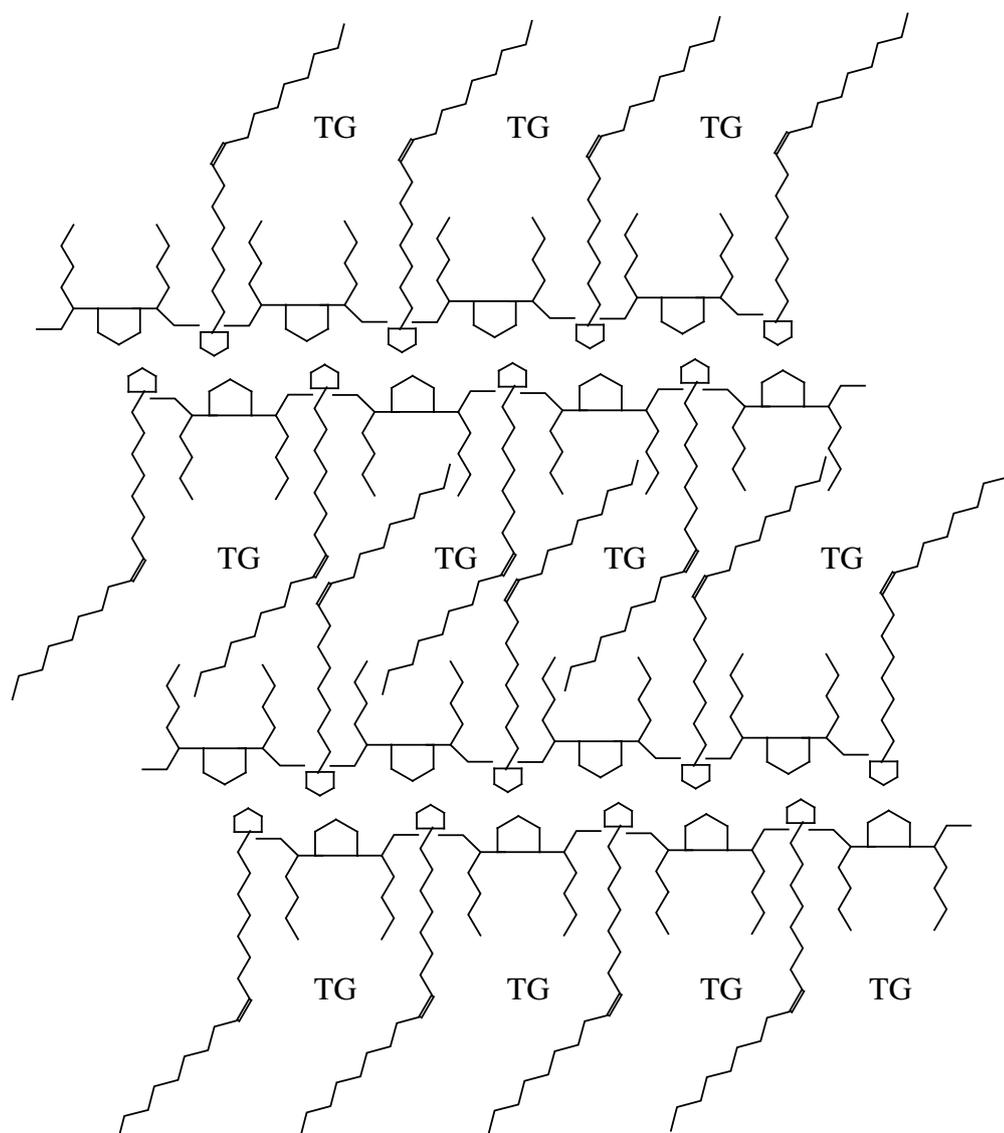


Figura 32: Esquema de um modelo sugerido para uma estrutura lamelar seca na fase L'_2 , formada por monooleína (MO), AOT e triglicerídeos (TG).

O modelo proposto para MEs na região L_2' é compatível com os dados experimentais encontrados.

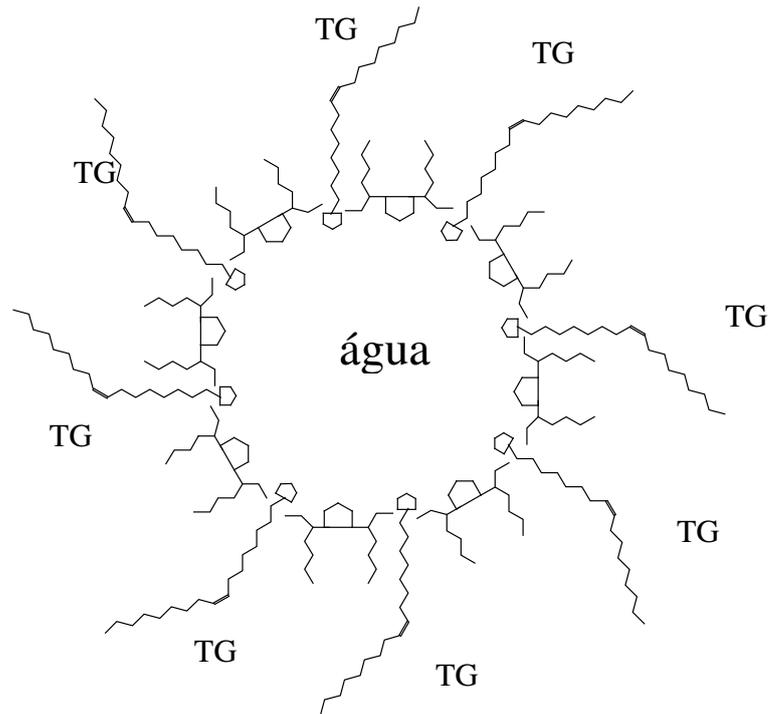


Figure 33: Esquema de um modelo sugerido para as micelas reversas formadas na fase L_2 formada por monooleína (MO), AOT e triglicerídeos TG.

4.3. Sistema AOT/óleo essencial/água

4.3.1. Diagrama de Fases

Foi construído um diagrama de fases ternário para o sistema óleo essencial de laranja (OEL)/AOT/água. Observamos que, na ausência de água,

as moléculas de AOT são totalmente solúveis no óleo essencial de laranja até 85% (p/p), formando uma fase homogênea L_2 . Nessa região a amostra é isotrópica e tem o aspecto muito semelhante ao do óleo essencial puro; muito provavelmente ocorre a formação de micelas reversas “secas” (sem água). Acima de 90% (p/p) de AOT cristais líquidos (L_C) são formados, consistindo de estruturas birrefringentes (detectadas através dos polarizadores cruzados). Nessa região podemos ter tanto estruturas hexagonais como lamelares. Entre 85-90% (p/p) há uma região bifásica, constituída das fases isotrópica e líquido-cristalina. Quando se adiciona água as misturas binárias de AOT/(OEL), essas três regiões, L_2 , L_C e L_2+L_C , se expandem para dentro do triângulo, conforme mostrado na Figura 34. Além dessas fases, observa-se uma outra fase isotrópica homogênea nas proximidades do vértice do triângulo correspondente a 100% (p/p) de água. Essa fase consiste de micelas normais, ou microemulsões de óleo em água (O/W), ou seja, gotículas de óleo em água estabilizada por AOT (não representada no diagrama). Há ainda uma longa região bifásica, como extensão do sistema bifásico OEL/água.

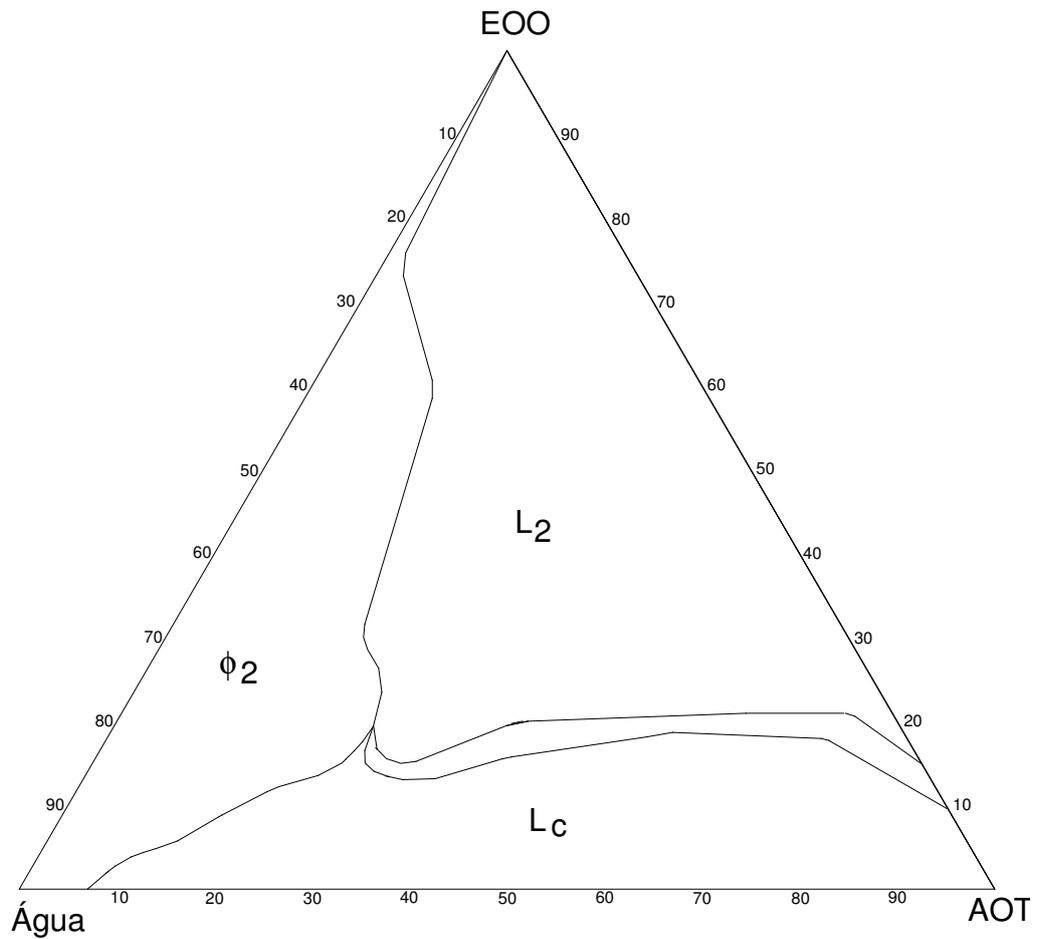


Figura 34: Diagrama ternário de fases do sistema óleo essencial de laranja/AOT/água (L_2 : micelar reversa isotrópica, L_C : Fase líquido-cristalina).

4.3.2. Reologia

Dados de viscosidade da fase L_2 do diagrama da Figura 34 indicam a existência MEs com diferentes estruturas. As Figuras 35 – 37 mostram a viscosidade de mostras da fase L_2 em função do conteúdo de água, para três linhas de diluição OEL:AOT = 60:40, 50:50 e 40:60. Como pode ser notado nessas Figuras, a viscosidade aumenta de uma forma não constante com o

aumento no conteúdo de água. Em baixas concentrações de água, a viscosidade aumenta até atingir um patamar. Após este patamar a viscosidade volta a aumentar até a borda da fase L_2 .

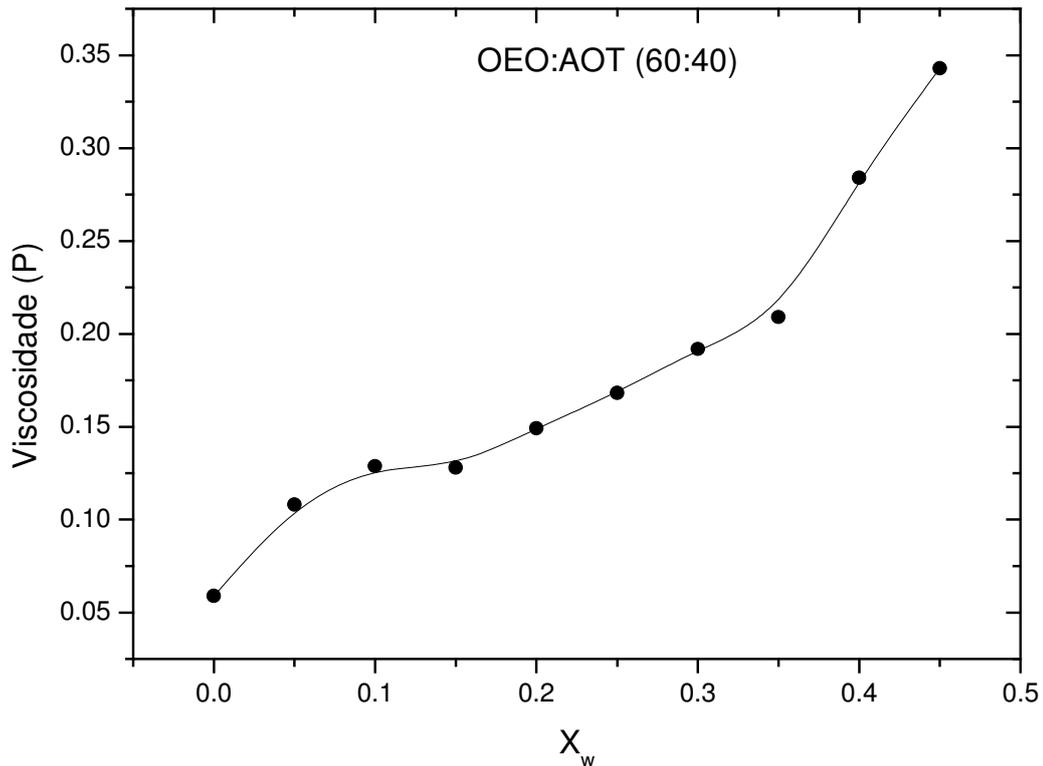


Figura 35: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 60:40.

A viscosidade inicialmente aumenta com o aumento de água até 10% (p/p) para a linha de diluição 60:40, e até 15% (p/p) para as linhas de diluição 50:50 e 40:60. Supõe-se que estas composições correspondem ao início de mudanças estruturais dos agregados formados.

Na região pobre em água estas moléculas encontram-se ligadas aos grupos polares das moléculas de AOT, e estes agregados serão chamados de

agregados “secos”. De acordo com experimentos de SAXS (mostrados a seguir) os agregados “secos” têm uma geometria não esférica. O aumento no conteúdo de água dissocia os contra-íons dos surfactantes, aumentando a repulsão entre os grupos iônicos, e conseqüentemente aumentando o tamanho dos agregados e a viscosidade do sistema (Figuras 35 – 37).

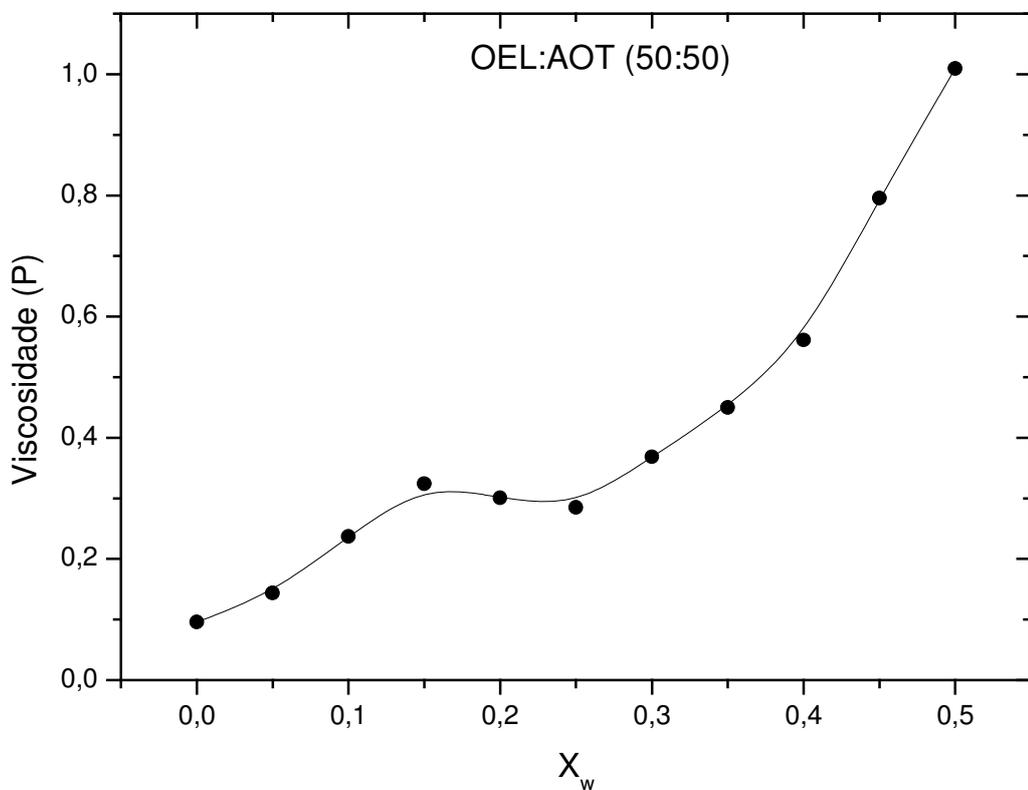


Figura 36: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 50:50.

A região de viscosidade constante (Figuras 35 – 37) provavelmente corresponde à transição entre os agregados “secos” e micelas reversas esféricas (resultados corroborados por dados de SAXS mostrados a seguir), este patamar

de transição se torna maior em linhas de diluição com maiores frações de surfactante.

Nos conteúdos de água maiores, micelas reversas esféricas formadas aumentam de tamanho com o conteúdo de água, e conseqüentemente aumentando a viscosidade do sistema.

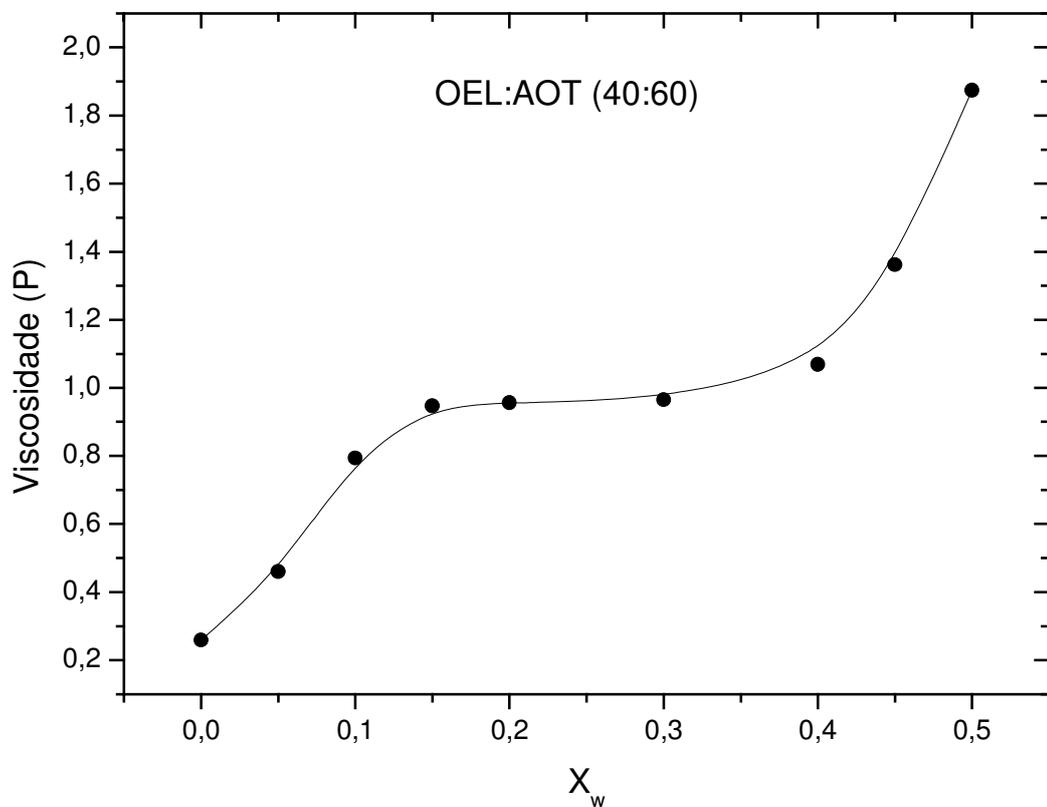


Figura 37: Viscosidade versus conteúdo de água para a linha de diluição (OEL:AOT) 40:60.

4.3.3. Condutividade Elétrica

A Figura 38 mostra a condutividade elétrica em função do conteúdo de água para as linhas de diluição OEL:AOT = 50:50 e 40:60. Em ambos os casos a condutividade inicialmente aumenta até um máximo, então diminui até um mínimo voltando a aumentar novamente.

Mais uma vez, como discutido no tópico anterior, em baixas concentrações as moléculas de água solvatam os grupos polares dos surfactantes que formam agregados não esféricos, sendo assim o aumento da condutividade resultado da dissociação dos contra-íons. O máximo de condutividade deve estar relacionado a mudanças estruturais; próximo a esta região gotas de água livre começam a se formar, e, portanto, micelas reversas esféricas. Inicialmente estas micelas encontram-se distantes umas das outras e a condutividade do sistema cai com a adição de água. Esta hipótese foi proposta por Chittofrati et al. (1992) para MEs de W/O usando óleo de perfluoropolieter (PFPE) e um surfactante com uma cadeia hidrofóbica similar ao PFPE.

Transformando as razões água/AOT mássicas para razões molares, pode ser notado que o máximo em condutividade ocorre nas razões 6,9, 8,0 e 7,8 moléculas de água por molécula de AOT, para as linhas de diluição 60:40; 50:50 e 40:60 respectivamente. Estes resultados são pouco maiores que os encontrados para completa hidratação de AOT reportado por Moulik e Paul (1998). De acordo com estes autores, seis moléculas de água são necessárias para hidratar completamente o grupamento SO_3^- na molécula de AOT. Nossos dados então sugerem que o máximo de condutividade está relacionado a uma mudança estrutural causada pela hidratação completa do grupo polar do AOT e início da formação de gotas de água livre, e, conseqüentemente, MEs de W/O comuns.

A diminuição na condutividade é então causada pelo aumento na quantidade de micelas esféricas reversas, que passam a governar a condutividade do sistema; ao redor do mínimo de condutividade todos os agregados são esféricos e, a partir deste ponto, o aumento do conteúdo de água induz um aumento na condutividade, devido à percolação de íons através das gotas de água. O aumento no tamanho micelar com a adição de água favorece o fenômeno de percolação de íons, como reportado para um sistema similar por Mitra e Paul (2005).

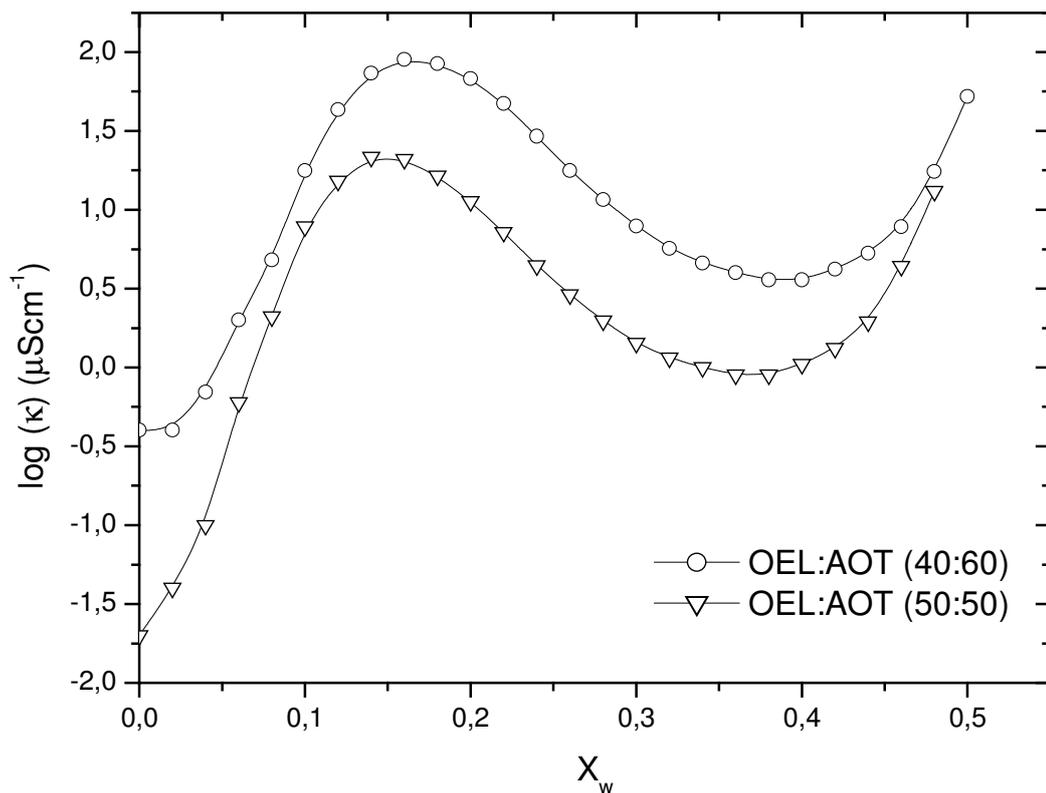


Figura 38: Condutividade versus fração mássica de água para as linhas de diluição (OEL:AOT) 40:60 e 50:50.

4.3.4. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)

Foram realizados experimentos de espalhamento de SAXS em amostras da região L_2 do diagrama de fases mostrado na Figura 34. Nestes experimentos foi notada uma diferença entre os agregados da região com baixa razão água/AOT e os agregados encontrados na região mais rica em água.

As Figuras 39 e 40 mostram curvas de SAXS para MEs encontradas nas linhas de diluição (OEL:AOT) 50:50 e 35:65, respectivamente, para alguns conteúdos de água. O pico corresponde aos agregados formados, e é centrado em q^* , mas com diferentes comportamentos para as regiões com baixa e alta razão de água/AOT, ou seja, para quantidade crescente de água sobre as duas linhas de diluição.

Na região com razão água/AOT maior (linha de diluição 50:50, com 10, 20, 30, 40 e 50% de água e linha de diluição 35:65, com 20, 30, 40 e 50% de água) os picos em q^* são assimétricos. Este comportamento assimétrico é típico de micelas esféricas, com um pico devido ao contraste entre os grupos polares com a água e a parafina (Itri e Amaral, 1994).

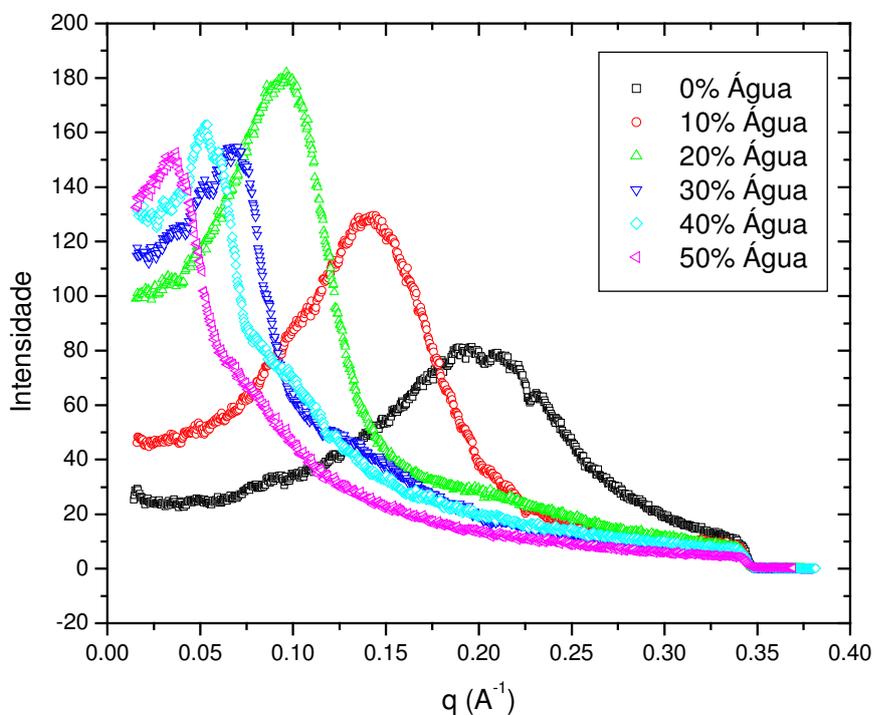


Figura 39: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema ternário OEL/AOT/água. As curvas

referem-se a pontos sobre a linha de diluição 50:50 com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de água.

No entanto, na região com baixa razão água/AOT (linha de diluição 50:50 sem água e linha de diluição 35:65, contendo 0 e 10% de água) as curvas são simétricas ao redor do pico em valores de q e podem ser interpretadas em termos de uma correlação de distância característica $d = 2\pi q^{-1}$ na faixa de 29-39 Å. Uma possível razão para estes picos simétricos é uma estrutura de ME seca com uma geometria não esférica, como encontrado anteriormente neste trabalho para o sistema SOB/MO:AOT/água.

Esta transição entre agregados “secos” e micelas esféricas reforçam os resultados de condutividade elétrica e viscosidade, mostrados anteriormente.

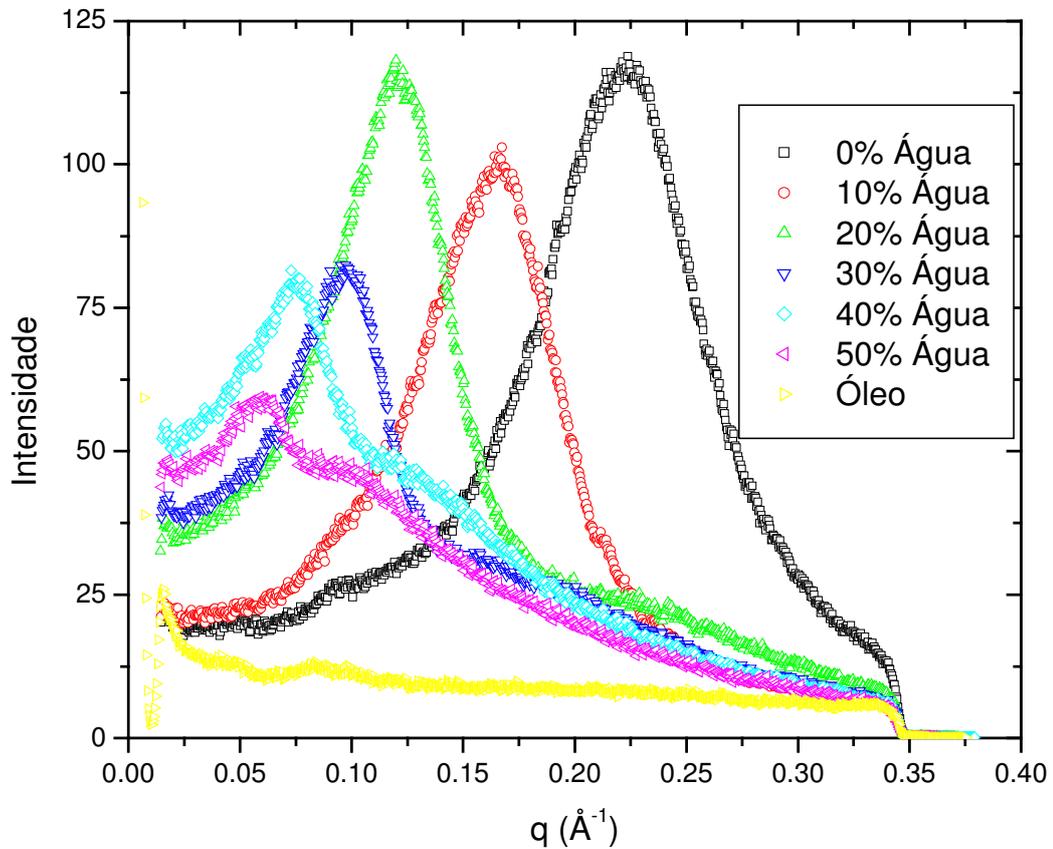


Figura 40: Curvas da intensidade de espalhamento de raios-X em função do vetor de espalhamento q , para o sistema ternário OEL/AOT/água. As curvas referem-se a uma amostra de OEL puro, e a pontos sobre a linha de diluição 35:65 com 0, 10, 20, 30, 40 e 50% de água.

4.4. Propriedades físico-químicas das MEs

4.4.1. Solubilização de Compostos Hidrofílicos nas MEs

Para o estudo de algumas propriedades físico-químicas (viscosidade, estabilidade à temperatura e oxidação) foram escolhidas MEs com baixas concentrações de surfactantes tentando conseguir sistemas com propriedades físico-químicas próximas as do SOB puro, além de se conseguir um sistema com

um custo baixo de preparação. De tal forma as MEs escolhidas são as seguintes:

Sistema A – SOB/FC:AOT/solução aquosa (94,5/2,5:2,5/0,5% p/p).

Sistema B – SOB/monooleína (MO):AOT/solução aquosa (94,5/2,5:2,5/0,5% p/p).

Sistema C – SOB/MO/solução aquosa (49,75/49,75/0,5% w/w). Esta composição foi escolhida por não conter AOT (surfactante de grau alimentício, porém de uso em quantidades restritas).

Os componentes hidrofílicos, antes de serem adicionados nas MEs, foram solubilizados em tampões para aumentar a estabilidade (ácido ascórbico) e solubilidade (ácido fólico e sulfato ferroso). Inicialmente foram usados os tampões Tris-HCl pH 4,0 (para o ácido ascórbico e sulfato ferroso) e citrato de sódio pH 8,0 (para ácido fólico).

Estes compostos foram totalmente solubilizados nas três MEs. Porém as MEs do sistema A enriquecidas mostraram-se instáveis à altas temperatura, ocorrendo separação de fases após a exposição do sistema por menos de uma hora à 100 °C. Este efeito provavelmente é devido à degradação da FC, catalisada por algum componente dos tampões. Esta conclusão se deve as seguintes observações: os sistemas B e C, que não contêm FC, apresentaram-se estáveis; e o sistema A puro, sem os tampões, também se apresentou estável à temperatura. Portanto somente as MEs que continham FC e algum tipo de tampão foi instável.

Desta maneira outros tampões foram usados para solubilizar os componentes hidrofílicos. As soluções definitivas dos componentes hidrofílicos estão descritas a seguir:

Ácido ascórbico a 20% em tampão acetato de sódio, pH 4,0;

Ácido fólico a 5% em tampão fosfato de sódio, pH 8,0;

Sulfato ferroso a 5% em tampão acetato de sódio, pH 4,0;

Cloreto de sódio a 11% em solução aquosa.

Os quatro aditivos hidrofílicos foram adicionados às MEs A, B e C.

Todos os componentes hidrofílicos testados foram solubilizados nas três MEs e estes sistemas permanecem por meses sem alterações visuais, como separação de fases ou mudança de cor.

4.4.2. Viscosidade

As MEs dos sistemas escolhidos para solubilizar os aditivos polares apresentaram os valores de viscosidade mostrados na Tabela 3. Como pode ser notado, as viscosidades das MEs variaram entre 10 e 17% em relação à viscosidade do óleo.

Tabela 3: Viscosidade do óleo de soja comercial e de MEs de alguns sistemas

Sistema	Viscosidade (cP)
Óleo de soja comercial	50,1
ME A	56,2
ME B	55,0
ME C	58,4

4.4.3. Estabilidade à Temperatura

Todas as MEs enriquecidas foram mantidas a 100°C por 6 h e nenhuma alteração visual foi observada.

4.4.4. Estabilidade Oxidativa

A Tabela 4 mostra os resultados de tempo de indução para o óleo de soja comercial puro e as MEs enriquecidas. As três MEs contendo FeSO_4 tiveram uma considerável redução no tempo de indução, comparadas às MEs puras. Este resultado se deve ao fato do ferro ser um catalisador da oxidação de triglicerídeos do óleo de soja (OS) (O'Brien, 1998). Este resultado também mostra que os compostos hidrofílicos não estão totalmente protegidos do ambiente externo (fase contínua de OS). O contato entre a fase dispersa (interior das micelas reversas) e a fase contínua pode se dar devido a processos dinâmicos de troca de componentes entre as micelas. Este fenômeno de troca de componentes em MEs é descrito por Moulik e Paul (1998).

As três MEs contendo NaCl apresentaram uma ligeira redução do tempo de indução (no máximo 9,3%), quando comparadas às MEs puras.

A solução de ácido ascórbico (AA) aumentou o tempo de indução das MEs em até seis vezes. O efeito anti-oxidante desta vitamina retardou consideravelmente a oxidação dos triglicerídeos, mostrando mais uma vez que o componente contido no interior das micelas reversas interage com a fase contínua. Estes resultados mostram a possibilidade do uso de AA incorporado à

MEs como um antioxidante do óleo de soja.

As MEs contendo ácido fólico (AF) não apresentaram um comportamento típico, e o tempo de indução diminuiu para os sistemas A e B e aumentou para o sistema C.

Comparada ao OS puro a ME do sistema B puro manteve o tempo de indução praticamente inalterado. Em contrapartida a ME do sistema C aumentou o tempo de indução em mais de 40%. A ME do sistema A teve um tempo de indução de aproximadamente três vezes maior do que o OS puro. A alta estabilidade do sistema A pode ser atribuída ao efeito anti-oxidante da FC, presente neste sistema.

Tabela 4: Tempo de indução do óleo de soja comercial e das MEs enriquecidas.

Sistema	SOB Comercial	MEs enriquecidas (Sistema A)					MEs enriquecidas (Sistema B)					MEs enriquecidas (Sistema C)				
		Pura	AA	AF	FeSO ₄	NaCl	Pura	AA	AF	FeSO ₄	NaCl	Pura	AA	AF	FeSO ₄	NaCl
Tempo de Indução (h)	10,48	29,53	86,06	19,04	2,33	26,78	10,20	60,68	9,90	0,45	9,95	14,82	68,08	16,36	1,11	13,50

5. CONCLUSÕES

No presente trabalho podem-se enumerar as seguintes conclusões:

- Foram identificadas regiões de MEs em diagramas de fases do sistema OS/MO:AOT/água. O tamanho destas regiões MEs são dependentes da razão MO:AOT, sendo que para a razão 2:1 foi obtida a maior área de MEs (31,6% da área total do diagrama). Esta região de ME foi investigada por reologia, DLS e SAXS e identificada duas estruturas isotrópicas diferentes (L_2 e L_2') dentro da mesma região isotrópica. Uma das regiões forma MEs de W/O de micelas esféricas (L_2), enquanto a outra região apresenta um comportamento distinto, em que a viscosidade varia em função do conteúdo de água com o comportamento inverso ao esperado para MEs de W/O (L_2'). As curvas de SAXS apresentaram picos simétricos, diferentes dos encontrados para as micelas (picos assimétricos). Todos os resultados experimentais levaram à proposta de um modelo para a ME formada, em que há uma estrutura lamelar local mostrado na Figura 32, diferente da estrutura clássica de micela reversa (Figura 33)

- Para o sistema óleo de soja/FC:AOT/água foram identificadas regiões de MEs dependentes da razão FC:AOT, sendo que a razão 1:1 forneceu a maior área de MEs (2,1% da área total do diagrama). Foram então construídos diagramas de fases com esta razão de FC:AOT com diferentes conteúdos de NaCl na fase aquosa. Os íons deste sal blindaram os grupos carregados dos surfactantes, reduzindo a área ocupada por estes grupamentos, e levando a uma mudança de estruturas birrefringentes para micelas reversas, o que gerou aumento na região de MEs. Esta área é aumentada com o conteúdo de NaCl na fase aquosa até a fração mássica de NaCl de 0,11, mantendo-se praticamente

constante depois deste valor. Este limite está ligado à saturação das cabeças dos surfactantes pelos íons, sendo que acima desta saturação não ocorre mais alteração na área de ocorrência de MEs. Experimentos de DLS e reologia sugeriram a existência de dois agregados micelares diferentes na região L_2 , micelas reversas esféricas e agregados “secos” não esféricos.

- Para o sistema OEL/AOT/água foi construído um diagrama de fases ternário completo. Neste diagrama foi identificada uma região de MEs de W/O, uma região birrefringente (provavelmente uma fase lamelar ou hexagonal), além de uma grande região bifásica como extensão do sistema bifásico óleo essencial de laranja/água (Figura 34). Resultados de reologia, condutividade elétrica e SAXS, no entanto, sugeriram a existência, na região isotrópica, de dois agregados distintos. Na região com maiores razões de água/AOT há MEs W/O ordinária (micelas reversas esféricas). No entanto, na região com razão de água/AOT menor há a formação de agregados reversos não esféricos. Testes de incorporação de vitamina C indicaram que estas MEs podem abrigar este componente, o que é de interesse para indústria de cosméticos.

- Algumas MEs de óleo de soja foram usadas para incorporar aditivos alimentares. Estas MEs apresentaram viscosidades próximas às do óleo de soja puro. Além disso, estas MEs também mostraram ter estabilidade oxidativa, em alguns casos próxima e em outros até oito vezes superior à do óleo de soja puro, com exceção para as MEs enriquecidas com ferro (conhecido catalisador da oxidação do óleo). Tais resultados indicam que as MEs enriquecidas com nutrientes apresentam grande potencial para aplicação como um produto alternativo que incorpora componentes polares em óleos apolares. Além disso, concluir-se que o ácido ascórbico incorporado as MEs pode atuar

como um antioxidante do óleo de soja.

Com este trabalho espera-se ter contribuído para o desenvolvimento de óleos vegetais enriquecidos com sais minerais e vitaminas. Testes definitivos do efeito desses aditivos alimentícios nas propriedades do óleo de soja devem ser realizados, a fim de tornar viável o uso desses óleos enriquecidos na indústria alimentícia. O potencial oxidativo do ferro no óleo de soja é bem conhecido e, de acordo com o este trabalho, não pode ser evitado mesmo através do uso das microemulsões. Como proposta de pesquisa sugerida por este trabalho, deve-se testar outros tensoativos comestíveis, como por exemplo, os ésteres de sacarose e outras regiões do diagrama de fases contendo microemulsões, a fim de identificar composições com grande potencial de aplicação desses óleos na indústria de alimentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboofazeli, R.; Patel, N.; Thomas, M.; Lawrence, M. J. - Investigations into the formation and characterization of phospholipid microemulsions. IV. Pseudo-ternary phase diagrams of systems containing water-lecithin-alcohol and oil; The influence of oil. *International Journal of Pharmaceutics*. 125: 107-116, 1995.
- Aburto, L. C.; Tavares, D. Q.; Martucci, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. *Ciência Tecnologia de Alimentos*. 18(1), 1998.
- Amar, I.; Aserin, A.; Garti, N. Microstructure transitions derived from solubilization of lutein and lutein esters in food microemulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 33: 143–150, 2004.
- Banville, C.; Vuillermard, J. C.; Lacroix, C. Comparison of different methods for fortifying Cheddar cheese with vitamin D. *International Dairy Journal*.10: 375 – 382, 2000.
- Bender, J.; Ericson, M. B.; Merclin, N.; Iani, V.; Rosén, A.; Engström, S.; Moan, J. Lipid cubic phases for improved topical drug delivery in photodynamic therapy. *Journal of Controlled Release*. 106: 350 – 360, 2005.
- Blasi, F.; Cossignani, L.; Simonetti, M.S.; Brutti, M.; Ventura, F.; Damiani P. Enzymatic deacylation of 1,2-diacyl-*sn*-glycero-3-phosphocholines to *sn*-glycerol-3-phosphocholine. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006 in press.
- Briggs, J.; Chung, H.; Caffrey, M. The Temperature-Composition Phase Diagram and Mesophase Structure Characterization of the Monoolein/Water System.

- Journal of Physics II*. 6: 723-751, 1996.
- Brown, W. (Ed.) Dynamic Light Scattering. The Method and Some Applications. Clarendon Press: Oxford, 1993.
- Campo, L.; Yagmur, A.; Garti, N.; Leser, M. E.; Folmer, B.; Glatter, O. *Journal of Colloid Interface Science*. 274: 251 -267, 2004.
- Chittofrati, A.; Sanguineti, A.; Visca, M.; Kallay, N. Perfluoropolyether microemulsions: Conductivity behavior of three-component W/O systems. *Colloids and Surfaces*. 63: 219-233, 1992.
- Chiu, Y. C.; Yang, W. L. Preparation of vitamin E microemulsion possessing high resistance to oxidation in air. *Colloids Surfaces*. 63: 311-322, 1992.
- Cortez, E. V.; Pessoa Jr. A.; Felipe, M. G. A.; Roberto, I. C.; Vitolo, M.; Liquid-liquid extraction of xylitol dehydrogenase from *Cândida guilliermondii* homogenate by reversed micelles. *Journal of Chromatography B*. 807: 55-60, 2004.
- Dantas, T.N. C.; Dantas Neto, A.A.; Moura, M.C.P.A.; Barros Neto, E.L.; Forte, K.R. ; Leite, R.H.L. Heavy metals extraction by microemulsions. *Water Research*. 37: 2709-2717. 2004
- Djordjevic, L.; Primorac, M.; Stupar, M.; Krajisnik. Characterization of caprylocaproyl macroglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphiphilic drug. *International Journal of Pharmaceutics*. 271: 11-19, 2004.
- Engstrom, L. Aggregation and structural-changes in the l2-phase in the system water soybean oil sunflower oil monoglycerides. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 11: 479-152, 1990.
- Evans, D. F.; Wennerström, H. The Colloidal Domain. Where Physics, Chemistry, Biology and Technology Meet. 2^a ed. Willey-VCH: Nova Iorque, 1999.

- Fanun, M.; Wachtel, E.; Antalek, B.; Aserin, A.; Garti, N. A study of the microstructure of four-component sucrose ester microemulsions by SAXS and NMR. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 180: 173–186, 2001.
- Fennema, O. R. Food Chemistry. Marcel Dekker: Nova Iorque, 1996.
- Fioretto, D.; Freda, M.; Onori, G.; Santucci, A. Effect of counterion substitution on AOT-Based micellar system: Dielectric study of Cu(AOT)₂ Reverse micelles in CCl₄, *Journal of Physical Chemistry. B*. 103: 8216-8220, 1999.
- Garti, N. Microemulsions as microreactors for food applications. *Colloid and Interface Science*. 8: 197–211, 2003.
- Garti, N.; Avrahami, M.; Aserin, A. Improved solubilization of Celecoxib in U-type nonionic microemulsions and their structural transitions with progressive aqueous dilution. *Journal of Colloid and Interface Science*. 299: 352–365, 2006.
- Garti, N.; Yaghmur, A.; Aserin, A.; Spornath, A.; Elfakess, R.; Ezrahi, S. Solubilization of active molecules in microemulsions for improved environmental protection. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*. 230: 183–190, 2004.
- Garti, N.; Yaghmur, A.; Leser, M.E.; Clement, V.; Watzke, H.J. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 49: 2552-2562, 2001.
- Hasenhuettl, G. L.; Hartel, R. W. Food Emulsifiers and Their Applications. Chapman & Hall: Nova Iorque, 1997.
- He, D.; Yang, C.; Ma, M.; Zhuang, L.; Chen, X.; Chen, S. Studies of the chemical properties of tri-*n*-octylamine–secondary octanol–kerosene–HCl–H₂O microemulsions and its extraction characteristics for cadmium(II). *Colloids*

- and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 232: 39–47, 2004.
- Holmberg, K. in: C. Solans, H. Kunieda (Eds.). *Industrial Applications of Microemulsions*, Surfactant Science Series, vol. 66, Marcel Dekker, New York, 1997.
- Itri, R.; Amaral, L. Q. SAXS of Systems with inhomogeneous particles, *Journal of Applied Crystallography* 27: 20-24, 1994
- Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kronberg, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. John Wiley & Sons: Chichester, 1998.
- Lif, A.; Holmberg, K. Chemical and Enzymatic Ester Hydrolysis in a Winsor I System. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 129-130, 1997.
- Mitra, R. K.; Paul, B. K. Investigation on percolation in conductance of mixed reverse micelles. *Colloids and Interface Science A: Physical Chemistry and Engineering Aspects*. 252: 243 – 259, 2005.
- Moulik, S. P.; Paul, B. K. Structure, dynamics and transport properties of Microemulsions. *Advance in Colloid Interface Science*. 78: 99-195 1998.
- Note, C.; Koetz, J.; Kosmella, S. Structural changes in poly(ethyleneimine) modified microemulsion. *Journal of Colloid and Interface Science*. 302: 662–668, 2006.
- O'Brien R. D. *Fats and oils. Formulating and Processing for Applications*. Technomic Publishing CO., Inc. Lancaster, 1998.
- Pessoa Jr, A.; Vitolo, M. Recovery of inulinase using BDBAC reversed micelles. *Process Biochemistry*. 33: 291-297, 1998.
- Polizelli, M.A.; Telis, V.R.N.; Amaral, L.Q.; Feitosa, E. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions, *Colloids*

- and Interface Science A: Physical Chemistry and Engineering Aspects*, 281: 230 – 236, 2006.
- Qiu, H.; Caffrey, M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects. *Biomaterials*. 21: 223-234, 2000.
- Ramos, A. C. S.; Dantas Neto, A. A.; Dantas, T. N. C. Application of an experimental methodology in the optimization of a tungsten concentration process by microemulsions. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 14(2). ISSN 0104-6632, 1997.
- Rao, M. A. Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications. Aspen Publishers, Inc: Gaithersburg, 1999.
- Rodrigues, E.M.G.; Milagres, A.M.F.; Pessoa Jr, A. Xylanase recovery: effect of extraction conditions on the AOT-reversed micellar systems using experimental design. *Process Biochemistry*. 34: 121–125, 1999.
- Silber, J. J.; Biasutti, A.; Abuin, E.; Lissi, E. Interactions of small molecules with reverse micelles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 82: 189-252, 1999.
- Sintov, A. C.; Shapiro, L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. *Journal of Controlled Release*. 95: 173-183, 2004.
- Sjöblom, J.; Lindberg, R.; Friberg, S. E. Microemulsion – phase equilibria characterization, structures, applications and chemical reactions. *Advances in Colloid and Interface Science*. 95: 125-287, 1996.
- Steluti, R.; De Rosa, F. S.; Collett, J.; Tedesco A. C.; Bentley, M. V. L. B. Topical glycerol monooleate/propylene glycol formulations enhance 5-aminolevulinic acid in vitro skin delivery and in vivo protoporphyrin IX

- accumulation in hairless mouse skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 60: 439-444, 2005.
- Steytler, D. C.; Sargeant, D. L.; Welsh, G. E.; Robinson, B. H. Ammonium bis(ethylhexyl) phosphate: A new surfactant for microemulsions, *Langmuir*, 12: 5312-5318, 1996.
- Trotta, M.; Cavalli, R.; Ugazio, E; Gasco, M. R. Phase behavior of microemulsion systems containing lecithin and lysolecithin as surfactants. *Internatinal Journal of Pharmaceutics*. 143: 67-73, 1996.
- Vieira de Melo, S.A.B.; Uller, A.M.C.; Pessoa, Fernando L.P. Análise termodinâmica da desterpenação do óleo da casca de laranja com CO₂ supercrítico a partir de uma mistura sintética. *Ciência e Tecnologia Alimentos*. 17: 467-474, 1997.
- Watarai, H. Microemulsions in separation sciences. *Journal of Chromatography*. A. 780: 93-102, 1997.
- Yaghmur, A.; Aserin, A.; Antalek, B.; Garti, N. Microstructure Considerations of New Five-Component Winsor IV Food-Grade Microemulsions Studied by Pulsed Gradient Spin-Echo NMR, Conductivity, and Viscosity. *Langmuir*, 19 (4): 1063 –1068, 2003.