



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José do Rio Preto

Diana Maria Cano Higuira

Avaliação de surfactantes de grau alimentício na formação de
microemulsões W/O para posterior encapsulação de betalaina
por coacervação complexa

São José do Rio Preto

2017

Diana Maria Cano Higuita

Avaliação de surfactantes de grau alimentício na formação de
microemulsões W/O para posterior encapsulação de betalaina
por coacervação complexa

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Tecnologia de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Processo 2013/14371-0

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis

São José do Rio Preto

2017

Higuita, Diana Maria Cano.

Avaliação de surfactantes de grau alimentício na formação de microemulsões W/O para posterior encapsulação de betalaina por coacervação complexa / Diana Maria Cano Higuita. -- São José do Rio Preto, 2017
190 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Vânia Regina Nicoletti Telis.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Surfactantes. 3. Emulsões. 4. Betaína. 5. Condutividade elétrica. I. Telis, Vânia Regina Nicoletti. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 661.18

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Campus de São José do Rio Preto

Diana Maria Cano Higuira

Avaliação de surfactantes de grau alimentício na formação de microemulsões W/O para posterior encapsulação de betalaina por coacervação complexa

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Processo 2013/14371-0

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro
UNESP – São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Poliana Moser
UNESP – São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Audirene Amorim Santana
UFMA – São Luis - MA

Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Marques Pedro
UNILAGO – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto

2017

Dedico este trabalho para minha mãe Olga em Colômbia, meu filho Gustavo e meu esposo Harvey são a força que me move todos os dias e minha inspiração para continuar com meu projeto de vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos na minha vida, saúde, estudo e amor.

Agradeço a Santa Rita de Cassia por todas as bênçãos na minha vida.

A minha querida mãe Olga Maria Higuita e meu irmão Martin Eduardo Espinosa Higuita, pelo amor e apoio incondicional aos meus estudos.

A meu filho Gustavo porque cada dia me ensina coisas que não se aprendem em nenhum lugar e permitem que me torne uma melhor mãe. Te amo.

À família Higuita, pela ajuda em todos esses anos de minha vida.

Aos meus amigos Pepe, Angélica, Erick, Carolina, Luz Dary, Miriam Estevez, Dona Neuza, Kelly Tafari Catelam, Monique, Thiago, Marcia e Alder, Apolonia sempre tenho vocês presentes, por toda ajuda, pelos conselhos e por compartilhar momentos especiais comigo.

Aos técnicos, Luiz, Ginaldo, Jesuino pelo apoio no projeto.

Ao Francisco Jose Conceição pela força e amizade na etapa final deste projeto.

À minha orientadora Vânia Regina Nicoletti Telis, pela assessoria, formação acadêmica, paciência e amizade.

À UNESP, ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, aos professores/as José Francisco Lopes Filho, Maria Aparecida Mauro, João Claudio, Roger Darros, por suas contribuições durante as disciplinas de estudos.

À doutora Miriam Dupas Hubinger e a técnica do laboratório Vanessa pela ajuda com as análises no laboratório na Unicamp.

À doutora Samantha C Pinho pelas sugestões no exame de qualificação e pelo conhecimento transmitido em diversas ocasiões.

Ao doutor Cristiano Luis Pinto de Oliveira e ao estudante de doutorado Pedro Leonidas Oseleiro Filho pela colaboração nas análises das amostras no laboratório da USP.

À aluna de iniciação científica Caroline Gregoli Fuzetti pela ajuda, paciência, tolerância e cumplicidade

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo, FAPESP, pelo financiamento do projeto através do processo 2013/14371-0.

Em especial à pessoa que sempre me impulsiona a continuar Harvey Alexander Villa Vélez, pela amizade, carinho, cumplicidade, apoio e amor.

RESUMO

As microemulsões (MEs) são misturas isotrópicas e termodinamicamente estáveis de dois solventes imiscíveis estabilizados por surfactantes, com múltiplas aplicações em indústrias químicas, farmacêuticas e alimentares. O objetivo deste trabalho foi a avaliação de dois surfactantes de grau alimentar - monooleato de sorbitano (Span 80) e polissorbatato 80 (Tween 80) - na formação de MEs com adição de propilenoglicol como co-tensioativo e a caracterização do sistema resultante. O estudo priorizou a fase isotrópica formada por MEs, cujas propriedades foram investigadas por condutividade elétrica, reologia, calorimetria de varredura diferencial e calor específico. Sete sistemas detectados foram identificados como MEs ao longo do surfactante para proporções de óleo 9: 1 e 8: 2 linhas de diluição, até 20% de água. Os sistemas obtidos mostraram uma condutividade baixa, comportamento newtoniano típico de sistemas microemulsionados e, por meio de análises qualitativas foram identificadas como sistemas óleo em água (O/W). As análises de SAXS serviram para determinar o tamanho o qual está numa faixa que varia entre $\approx 70 \text{ \AA}$ e $\approx 90 \text{ \AA}$, com forma definida como globular achatada e/ou em forma de *core-shell*. Foram incorporados diferentes conteúdos de extrato de betalaina na fase aquosa da microemulsão, que se mostrou estável e foi utilizada para produzir microcápsulas liofilizadas. A distribuição de tamanho de partícula, morfologia, retenção de betalaina e parâmetros de cor foram medidos, além de um teste de estabilidade de armazenamento para avaliar a degradação do corante em condições controladas de temperatura e umidade relativa. Após 48 dias, observou-se uma retenção de betalaina de 62%, com ligeiras alterações de cor.

Palavras chaves: Microemulsão, condutividade elétrica, distribuição de tamanho de partícula, SAXS.

ABSTRACT

The microemulsions (MEs) are isotropic and thermodynamically stable mixtures between two immiscible solvents stabilized by surfactants with multiple applications in chemical, pharmaceutical and food industries. This work aims to evaluate two food grade surfactants – sorbitan monooleate (Span 80) and polysorbate 80 (Tween 80) – on formation of MEs, with addition of propylene glycol as cosurfactant and posterior characterization of the resulting system. The study prioritized the isotropic phase formed in the MEs, since their properties investigated by electric conductivity, differential scanning calorimetric and specific heat. Seven systems were obtained and identified as MEs along the dilution lines from surfactant:oil ratios of 9:1 and 8:2, up 20% of water. The systems obtained showed low conductivity, Newtonian behavior of typical microemulsion and, system oil in water (O/W) from a qualitative analysis. Analyses of SAXS shows a size ranging from ≈ 70 Å to ≈ 90 Å, with a shape defined as flattened globular and/or core-shell form. Once obtained and characterized the MEs, different contents of betalaine extract were incorporated into the aqueous phase of the microemulsion until the stabilization and mixture with wall materials to produce microcapsules by lyophilized process. Particle size distribution, morphology, betalain retention and color analyses were determined in the betalain microcapsules. In addition, a storage stability test to evaluate the degradation of the dye under controlled conditions of temperature and relative humidity, observing after 48 days, retention values of 62% with slight color changes.

Keywords: Microemulsion, electric conductivity, particle size distribution, SAXS.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
SUMÁRIO	iii
ÍNDICE DE TABELAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1.1 DISPERSÕES COLOIDAIIS.....	11
1.2 MICROEMULSÕES.....	11
1.3 NANOEMULSÕES.....	13
1.4 SIMILITUDES E DIFERENÇAS ENTRE NANO E MICROEMULSÕES.....	13
1.4.1. Composição.....	13
1.4.2. Dimensão das partículas.....	14
1.4.3. Estrutura da partícula.....	15
1.4.4. Método de fabricação.....	15
1.4.5 Estabilidade a longo prazo.....	16
1.5 SURFACTANTES.....	17
1.6 CLASSIFICAÇÃO GERAL DE SURFACTANTES.....	20
1.6.1 Surfactantes aniônicos.....	20
1.6.2. Surfactantes catiônicos.....	20
1.6.3. Surfactante anfotéricos (zwitteriônicos).....	21
1.6.3.1 <i>Lecitina</i>	21
1.6.4 Surfactantes não-iônicos.....	22
1.6.4.1 <i>Ésteres de sorbitano e seus derivados etoxilados (Spans e Tweens)</i>	22
1.6.4.2 <i>Monooleato de Sorbitan (Span 80)</i>	22
1.6.4.3 <i>Polissorbato 80 (Tween-80)</i>	23
1.6.4.4 <i>Poliglicerol–poliricinoleato (PGPR)</i>	24
1.7 COSURFACTANTE.....	24
1.7.1. Propilenoglicol (PG).....	25
1.8 ÓLEO DE SOJA.....	25
1.9 TEORIAS DA FORMAÇÃO DA MICROEMULSÃO E ESTABILIZAÇÃO.....	26
1.10 TIPOS DE MICROEMULSÕES.....	28
1.10.1 Microemulsões W/O.....	28
1.10.2. Microemulsões O/W.....	29
1.10.3. Fase bicontínua.....	30
1.11 FENÔMENOS DE PERCOLAÇÃO.....	31
1.12 CLASSIFICAÇÃO DE WINSOR PARA SISTEMAS MICROEMULSIONADOS.....	32
1.13 CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES.....	33
1.13.1 Ressonância magnética nuclear (RMN).....	34
1.13.2 Espalhamento de raios-X a baixos ângulos.....	35
1.14 MICROENCAPSULAÇÃO.....	35
1.14.1 Microencapsulação por coacervação complexa.....	36
1.14.2 Agentes encapsulantes.....	37
1.14.2.1 <i>Goma Arábica</i>	37
1.14.2.2 <i>Gelatina</i>	38
1.15 BETALAÍNA.....	39

1.16 REFERÊNCIAS.....	41
CAPITULO 2. Microemulsão de grau alimentar à base de tween 80 + span 80 + propileno glicol / óleo de soja / água: condutividade eléctrica, propriedades térmicas e reológicas.....	59
ABSTRACT.....	60
2.1 INTRODUCTION.....	61
2.2. MATERIAL AND METHODS.....	62
2.2.1 Raw materials.....	62
2.2.2 Phase diagram construction.....	63
2.2.3 Characterization by chemical diffusion.....	63
2.2.4 Characterization by electrical conductivity.....	63
2.2.5 Thermal characterization.....	64
2.2.5.1 <i>Determination of free, interfacial, bound, and unfreezable water contents</i>	64
2.2.5.2 <i>Determination of the specific heat</i>	65
2.2.6 Rheological characterization.....	65
2.2.7 Statistical analysis.....	66
2.3. RESULTS AND DISCUSSION.....	66
2.3.1 Pseudo-ternary phase diagram.....	66
2.3.2 Chemical characterization.....	68
2.3.3 Electrical conductivity	69
2.3.4 Thermal results.....	71
2.3.4.1 <i>Free, interfacial, bound, and unfreezable water contents</i>	71
2.3.4.2 <i>Specific heat of the MEs</i>	74
2.3.5 Rheological characterization.....	75
2.4. CONCLUSIONS.....	77
2.5 ACKNOWLEDGEMENTS.....	78
2.6 REFERENCES.....	78
CAPITULO 3. Medidas de SAXS e análise de dados das microemulsões.....	84
3.1 INTRODUÇÃO.....	85
3.2 MÉTODO EXPERIMENTAL.....	85
3.3 MATERIAIS.....	86
3.4 PROCEDIMENTOS PARA ANÁLISE DOS DADOS.....	87
3.4.1 Informações iniciais.....	87
3.4.2 Análise dos dados de SAXS de microemulsão.....	91
3.5 RESULTADOS.....	92
3.6 CONCLUSÕES.....	103
3.7 REFERÊNCIAS.....	103
CAPITULO 4. Incorporação de extrato de betalaina em uma microemulsão e subsequente encapsulação por coacervação complexa.....	106
ABSTRACT.....	107
4.1.INTRODUCTION.....	108
4.2 MATERIAL AND METHODS.....	110
4.2.1 Materials.....	110
4.2.2 Preparation of microemulsions.....	110
4.2.3 Microencapsulation by complex coacervation.....	111
4.2.4 Characterization of the microcapsules.....	112
4.2.4.1 <i>Color measurements</i>	112
4.2.4.2 <i>Particle size distribution</i>	112
4.2.4.3 <i>Scanning electron microscopy (SEM)</i>	112

4.2.4.4 <i>Quantification of total betalains in the microcapsules</i>	113
4.2.4.5 <i>Powder storage</i>	114
4.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	114
4.3.1 Color measurements.....	114
4.3.2 Particle size distribution.....	116
4.3.3 Particle morphology.....	117
4.3.4 Betalain retention during storage of microcapsules.....	118
4.4 CONCLUSIONS	122
4.5 ACKNOWLEDGEMENTS.....	122
4.6 REFERENCES.....	122
5.0 CONCLUSÃO GERAL.....	127
APÊNDICE I.....	128
APÊNDICE II.....	142
APÊNDICE III.....	152

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Estruturas que podem ser formadas no auto empacotamento do surfactante.....	19
Figura 1.2. Formula química do Span 80.....	23
Figura 1.3. Formula química do Tween 80: polioxietileno (20) sorbitan mono oleato.....	23
Figura 1.4. (a) Fórmula química do PGPR, na qual R é um hidrogênio, ácido ricinoleico ou ácido polyricinoleico (b) Fórmula química do ácido ricinoleico.....	24
Figura 1.5 Formula química do Propilenoglicol.....	25
Figura 1.6 Microemulsão W/O.....	29
Figura 1.7 Microemulsões O/W consistem de micelas de surfactante com moléculas de óleo incorporados dentro deles. (a) Moléculas de óleo incorporadas na cauda do surfactante, (b) Moléculas de óleo incorporadas como núcleo hidrofóbico.....	30
Figura 1.8. Fase bicontínua.....	30
Figura 1.9. Sistema de classificação de Winsor mostra as possíveis fases óleo e água em sistemas de microemulsões.....	32
Figura 1.10. Diagrama de fases ternário da mistura de água e óleo-surfactante representando a classificação de Winsor e estruturas internas prováveis.....	33
Figura 1.11. Formula química (a) Betacianinas e (b) Betaxantinas.....	39
Figure 2.1. Pseudo-ternary phase diagram of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil/water system. PS: Phase separation; ME: Microemulsion.....	67
Figure 2.2. Thermograms of the MEs at the surfactant to oil ratio of 9:1 (a), and 8:2 (b), with water contents of 5 to 20 %, and mixtures of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil without water (c).....	71
Figure 2.3. Specific heat capacity of the MEs at surfactant to oil ratio of 9:1 (a) and 8:2 (b) as a function of the temperature and water content.....	74
Figure 2.4. Experimental rheograms of the MEs at surfactant to oil ratio of 8:2 at different water contents, 5 % (a), 10 % (b), 15 % (c), 20% (d) and ratio of 9:1 at different water contents, 5 % (e), 10 % (f), 15 % (g), temperatures of 25 °C (*), 30 °C (○), 40 °C (Δ), 50 °C (□) and 60 °C (+).....	76
Figura 3.1 Equipamento usado na realização dos experimentos de SAXS. O feixe de raios X é produzido na fonte, é colimado e incide na amostra, que está colocada em vácuo. O espalhamento do feixe pela amostra é coletado pelo detector.....	86
Figura 3.2 A) Espalhamento da água medido em várias temperaturas. No intervalo de q utilizado, a água não apresenta auto-organização. B) Espalhamento do óleo medido em diferentes temperaturas. O óleo apresenta um pico de correlação em $q \cong 0,28 \text{ \AA}^{-1}$ indicando auto-organização. C) Espalhamento do Tween 80 medido em diferentes temperaturas. O Tween 80 apresenta um pico de correlação em $q \cong 0,12 \text{ \AA}^{-1}$ indicando auto-organização.....	87
Figura 3.3 Feixe de raios X espalhado por uma partícula, fixa no espaço, formando um ângulo 2θ em relação ao feixe incidente.	88
Figura 3.4 Cada estrutura mostrada à direita (esfera, cilindro, prisma...) possui um único perfil de intensidade assim como um único perfil de p(r).....	90
Figura 3.5 –Contribuição dos fatores de forma e estrutura para diferentes sistemas.....	91

Figura 3.6 Exemplo de análise dos dados usando o programa WGIFT. A) Dado ajustado. B) Função $p(r)$ obtida pela Transformada Indireta de Fourier (IFT) do fator de forma $P(q)$	92
Figura 3.7 Dados experimentais de SAXS obtidos para todas as séries estudadas com variação de temperatura.....	93
Figura 3.8 Série 821. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	94
Figura 3.9 Série 822. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	94
Figura 3.10 Série 823. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	95
Figura 3.11 Série 824. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	95
Figura 3.12 Série 911. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	96
Figura 3.13 Série 912. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	96
Figura 3.14 Série 913. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$	97
Figura 3.15 Valores do parâmetro R_{HS} (raio de interação) em função da temperatura para todas as séries de microemulsão estudadas.....	98
Figura 3.16 Valores do parâmetro ϕ (fração de volume ocupado pelas partículas) em função da temperatura para todas as séries de microemulsão estudadas.....	99
Figura 3.17 Valores calculados para a densidade de partículas, $\frac{N_p}{\mu m^3}$, a partir dos parâmetros de ajuste R_{HS} e ϕ	102
Figure 4.1. Images of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (a) 10 %; (b) 20 %; (c) 30 %; (d) 40 %; (e) 50 %.....	115
Figure 4.2- Particle size distribution of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (●) 10%; (Δ) 20%; (□) 30%; (*) 40%; (+) 50%.....	117
Figure 4.3 Micrographs (500x magnification) of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (a) 10 %; (b) 20 %; (c) 30 %; (d) 40 %; (e) 50 %.....	118
Figure 4.4. Total betalain retention in freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation of microemulsion containing 30 % betalain extract and stored at 25 °C and 33 % relative humidity.....	119

ÍNDICE DE TABELAS

Table 2.1. Electrical conductivity, at 25 °C and viscosity values at 25°C, 30°C, 40°C, 50°C and 60°C for Tween 80+Span 80+PG/soybean oil/water MEs at the surfactant to oil ratios 9:1 and 8:2 with water contents between 5 and 20 %.....	70
Table 2.2. Thermal behavior of MEs and mass fractions of free water, interfacial water, bound water and non-freezable water at the surfactant to oil ratios 9:1 and 8:2, at different water contents measured by DSC.....	73
Tabela 3.1 Descrição das amostras usadas nos experimentos.....	86
Tabela 3.2 Valores do parâmetro R_{HS} (raio de interação) usado na modelagem dos dados de SAXS.....	98
Tabela 3.3 Valores do parâmetro σ (tem relação com a polidispersidade de tamanho de partícula) usado na modelagem dos dados de SAXS.....	99
Tabela 3.4 Valores do parâmetro ϕ (fração de volume ocupado pelas partículas) usado na modelagem dos dados de SAXS.....	100
Tabela 3.5 Valores do parâmetro $\frac{N_p}{\mu m^3}$ calculado a partir dos parâmetros R_{HS} e ϕ	102
Table 4.1. Mean diameter $D[4,3]$ and color parameters of the freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase.....	115
Table 4.2. Color parameters, moisture content and total betalain retention in freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation of microemulsion containing 30 % betalain extract and stored at 25 °C and 33 % relative humidity.....	120

INTRODUÇÃO GERAL

As microemulsões (MEs) são sistemas termodinamicamente estáveis que consistem tipicamente de óleo, surfactante (às vezes co-surfactante/co-solvente) e água (GARTI et al., 2001; RAO; MCCLEMENTS, 2011). Esses sistemas podem ser classificados como do tipo água em óleo (W/O), fase bicontínua ou óleo em água (O/W) em função da sua microestrutura, que é influenciada pelas propriedades físico-químicas de seus ingredientes. As MEs são caracterizadas por ultra baixa tensão interfacial entre as fases imiscíveis e oferecem a vantagem de formação espontânea, estabilidade termodinâmica, simplicidade de fabricação, capacidade de solubilização de solutos lipofílicos, hidrofílicos e anfifílicos, grande área de transferência de massa por unidade de volume, e potencial de aumento de permeação (BURGUERA; BURGUERA, 2012; FANUN, 2012).

As características das MEs têm atraído uma atenção considerável, principalmente devido a sua capacidade para solubilizar grandes quantidades de aditivos hidrofílicos ou lipofílicos, para aumentar a eficiência e para permitir reações químicas como as reações de preparação de partículas inorgânicas ou polimerização de monômeros orgânicos. No entanto, os ingredientes e a composição do sistema são extremamente importantes na formação de microemulsão e da sua funcionalidade (FASOLIN et al., 2012).

A capacidade de aumentar a solubilidade das vitaminas hidrofílicas, sabor e outros aditivos em MEs W/O são de grande interesse tecnológico, uma vez que estas podem fornecer radicais estabilizados pela incorporação desses ingredientes e protegê-los de reações de degradação. Por outro lado, pouco se conhece sobre a formação de MEs utilizando apenas materiais de grau alimentício, caso em que essas gotículas poderiam ser utilizadas, por exemplo, para solubilizar aditivos polares hidrofóbicos ou hidrofílicos típicos de produtos alimentícios (POLIZELLI et al., 2006; RAO; MCCLEMENTS, 2011).

A escolha do surfactante é crítica para a formulação de MEs. O equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) do surfactante pode ser ajustado por um álcool de cadeia curta, ou seja, adicionando um surfactante não-iônico para a preparação de microemulsão estável (LIN et al., 2009).

O crescente interesse em MEs como veículos para formulações de alimentos decorre, principalmente, das vantagens de suas propriedades físico-químicas. No entanto, a maioria

dos estudos sobre MEs W/O e O/W têm se concentrado em hidrocarbonetos e sistemas surfactantes iônicos, e poucos trabalhos têm sido relacionados com a formação de MEs com materiais de grau alimentar, sendo que a escolha adequada de surfactantes para a formação de MEs de grau alimentício W/O é bastante limitada (FENG et al., 2009). Assim, um estudo para compreender as interações entre água, óleo e emulsificante na interface e os fatores que afetam a estabilidade da emulsão permitiria a produção de emulsões estáveis W/O e, portanto, incentivaria o desenvolvimento de novos produtos e aplicações (USHIKUBO; CUNHA, 2012).

Devido à sua capacidade para solubilizar os aditivos do núcleo, as microemulsões são usadas como um agente solubilizante em aplicações tais como (MITTAL; SHAH, 2002):

- Dispersar aditivos solúveis em óleo em alimentos e bebidas à base de água;
- Dispersar aditivos solúveis em água, em alimentos à base de óleo;
- Veiculação de sabores e aromas;
- Aumentar a eficiência de antioxidantes;
- Melhorar a cor dourada e a crocância durante o cozimento em micro-ondas;
- Microemulsões para descongelamento rápido de um alimento congelado em um forno de micro-ondas;
- Microemulsão de cera como uma barreira à umidade.

Uma dessas aplicações seria como estrutura protetora de corantes naturais que sofrem altas taxas de degradação e oxidação. A cor é um dos atributos mais importantes dos alimentos, sendo considerado como um indicador de qualidade que determina frequentemente a sua aceitação. Em muitos alimentos coloridos naturalmente, tais como produtos à base de frutas, ocorrem perdas de cor durante o processamento, requerendo a utilização de corantes para restaurar a sua cor (RAVICHANDRAN et al., 2013).

A natureza produz uma variedade de compostos adequados para a coloração de alimentos, tais como as antocianinas, betalaínas, ácido carmínico solúvel em água, bem como os carotenoides e alguns derivados das clorofilas solúveis em óleo. A maioria dos estudos de pigmentos naturais têm se centrado especialmente em carotenoides e antocianinas, cujas propriedades antioxidantes têm sido extensivamente estudadas devido a sua facilidade de obtenção na natureza. Já as betalaínas, devido à sua escassez, não foram muito exploradas como compostos bioativos, mas alguns estudos têm indicado o seu potencial como pigmentos

e antioxidantes (SPÓRNA-KUCAB et al., 2013; RAVICHANDRAN et al., 2014; VERGARA et al., 2014). Esses estudos têm ajudado a motivar a utilização de betalaínas como corantes alimentícios (AZEREDO, 2009).

Apesar das antocianinas serem mais aplicadas para cobrir uma ampla gama de cores de roxo até vermelho, as betalaínas são mais estáveis ao pH, e portanto podem ser adequadas para alimentos com baixa acidez, onde o uso de antocianinas usualmente não é possível. Para a faixa de cor do amarelo ao alaranjado, os carotenos são os pigmentos naturais mais usados, mas devido à baixa solubilidade em água, a betaxantina poderia ser utilizada em alimentos com o mesmo propósito (RAVICHANDRAN et al., 2013).

Por outro lado, os pigmentos naturais são sensíveis às condições ambientais e aos processos tecnológicos, tais como temperatura, pH, presença de oxigênio, atividade da água, luz, ultravioleta e radiação gama, presença de certos íons metálicos e enzimas redox (JANISZEWSKA, 2014). Tais dificuldades podem ser superadas pela microencapsulação.

A microencapsulação pode ser definida como um processo no qual uma matriz envolve pequenas partículas de sólido, líquido ou gás com o objetivo de proteger o material das condições adversas do meio, tais como luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos, estabilizando o produto, aumentando a vida útil e promovendo a liberação controlada do encapsulado em condições pré-estabelecidas (SANTOS et al., 2005).

Vários métodos são utilizados na produção de microcápsulas. Na indústria de alimentos, entre os métodos mais comuns utilizados encontram-se a secagem por *spray-drying*, recobrimento em leitos fluidizados, co-cristalização, emulsificação e coacervação complexa. O processo de coacervação complexa é particularmente adequado quando o objetivo é controlar a liberação do agente, produzindo uma cápsula verdadeira, que protege completamente o material ativo no interior do material de parede.

A microencapsulação por coacervação complexa baseia-se na interação associativa que pode ocorrer como resultado da mistura de soluções de biopolímeros com cargas opostas. Em tal circunstância, a complexação entre biopolímeros tem lugar e conduz a uma separação agregativa de fases, em que as fases coexistentes apresentam a seguinte composição: uma fase rica em solvente com uma concentração muito pequena de biopolímeros e uma fase de precipitado rica em biopolímeros chamado de coacervado (DOUBLIER et al., 2000; DICKINSON, 2003; SANTOS et al., 2015).

A finalidade desta tecnologia é a estabilização de partículas, a proteção e/ou o isolamento do material do núcleo ativo do ambiente, permitindo que os materiais sejam manuseados com maior facilidade (BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014).

A incorporação da betalaína numa microemulsão W/O e sua posterior encapsulação por coacervação complexa visa à conservação das propriedades da betalaína, prolongando assim a vida de prateleira e as propriedades do corante.

ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO EM CAPÍTULOS

O presente trabalho encontra-se estruturado da seguinte forma:

Capítulo 1: Revisão bibliográfica: São apresentados os principais fundamentos teóricos que abrangem este estudo, incluindo informações referentes às definições de microemulsão e nanoemulsão, diferenças e similitudes entre os dois sistemas, definição de surfactantes, co-surfactantes, óleo de soja, teoria de formação de microemulsões, tipos de microemulsões, caracterização de microemulsões, agentes encapsulantes e aspectos gerais da betalaína.

Capítulo 2: Microemulsão de grau alimentar à base de tween 80 + span 80 + propileno glicol / óleo de soja / água: condutividade eléctrica, propriedades térmicas e reológicas: Nesse capítulo estão descritas as metodologias de obtenção das microemulsões, assim como as análises de caracterização dos sistemas obtidos e os resultados e conclusões que fazem parte desse capítulo.

Capítulo 3: Medidas de SAXS e análise de dados das microemulsões. Materiais, método experimental, desenvolvimento matemático através do método GIFT. Resultados e conclusão do capítulo.

Capítulo 4. Incorporação de extrato de betalaina em uma microemulsão e subsequente encapsulação por coacervação complexa. Caracterização das microcápsulas por distribuição de tamanho, morfologia, cor, retenção e estabilidade das betalaínas. Resultados e conclusões do capítulo.

Apêndices I, II e III. São mostrados os testes preliminares com várias misturas de surfactante até a obtenção da mistura que deu origem a formação da microemulsão que foi estudada no Capítulo 2, onde podem ser encontradas também imagens de cada um dos testes feitos e a descrição das características, diagramas de fases e gráficos de índice de cremeação das diversas misturas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

- Estudar a formação de microemulsão W/O utilizando misturas de óleo de soja/surfactante e, se necessário, um co-surfactante, bem como a incorporação de extrato de betalaína à microemulsão para posterior encapsulação por coacervação complexa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar fases isotrópicas de microemulsão W/O a partir da construção de diagramas de fases ternários e pseudoternários de misturas água, surfactante:co-surfactante e óleo de soja comercial;
- Investigar as estruturas formadas e tamanho das partículas por espalhamento de raios-X a baixos ângulos (SAXS);
- Estudar a reologia das fases isotrópicas formadas por MEs W/O;
- Estudar a incorporação de extrato de betalaína nas MEs W/O e seu efeito sobre a estrutura e estabilidade do sistema;
- Estudar a formação de microcápsulas de betalaína incorporada nas MEs W/O pela metodologia de coacervação complexa em matrizes de gelatina/goma arábica;
- Avaliar as microcápsulas obtidas, analisando sua morfologia, distribuição de tamanho, parâmetros de cor e estabilidade quanto à oxidação.

REFERÊNCIAS

AZEREDO, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 2365-2376, 2009.

BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Analytical applications of emulsions and microemulsions. **Talanta**, v. 96, p. 11-20, 2012.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 608-616, 2014.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25-39, 2003.

DOUBLIER, J. L.; GARNIER, C.; RENARD, D.; SANCHEZ, C. Protein–polysaccharide interactions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, n. 3–4, p. 202-214, 2000.

FANUN, M. Microemulsions as delivery systems. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, p. 306-313, 2012.

FASOLIN, L. H.; SANTANA, R. C.; CUNHA, R. L. Microemulsions and liquid crystalline formulated with triacylglycerols: Effect of ethanol and oil unsaturation. **Colloids and Surfaces A: Physicochem.Eng.Aspects**, v. 415, p. 31-40, 2012.

FENG, J. L.; WANG, Z. W.; ZHANG, J.; WANG, Z. N.; LIU, F. Study on food-grade vitamin E microemulsions based on nonionic emulsifiers. **Colloids and Surfaces A: Physicochem.Eng.Aspects**, v. 339, p. 1-6, 2009.

GARTI, N.; YAGHMUR, A.; LESER, M. E.; CLEMENT, V.; WATZKE, H. J. Improved oil solubilization in oil/water food grade microemulsions in the presence of polyols and ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2552-2562, 2001.

JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190-196, 2014.

LIN, C.-C.; LIN, H. Y.; CHEN, H. C.; YU, M. W.; LEE, M. H. Stability and characterisation of phospholipid based curcumin encapsulated microemulsions. **Food Chemistry**, v. 116, p. 923-928, 2009.

MITTAL, K. L.; SHAH, D. O. **Adsorption and Aggregation of Surfactants in Solution**. CRC Press, 2002.

POLIZELLI, M. A.; TELIS, N. V. R.; AMARAL, L. Q.; FEITOSA, E. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochem.Eng.Aspects**, v. 281, p. 230-236, 2006.

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate and lemon oil. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1413-1423, 2011.

RAVICHANDRAN, K.; PALANIRAJ, R.; SAW, N. M.; GABR, A. M.; AHMED, A. R.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **J Food Sci Technol**, v. 51, n. 9, p. 2216-21, 2014.

RAVICHANDRAN, K.; SAW, N. M. M. T.; MOHDALY, A. A. A.; GABR, A. M. M.; KASTELL, A.; RIEDEL, H.; CAI, Z.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Impact of processing

of red beet on betalain content and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 670-675, 2013.

SANTOS, A. B.; TRINDADE, F. C. S.; GROSSO, F. C. R. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.

SANTOS, M. G.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 171, p. 32-39, 2015.

SPÓRNA-KUCAB, A.; IGNATOVA, S.; GARRARD, I.; WYBRANIEC, S. Versatile solvent systems for the separation of betalains from processed *Beta vulgaris* L. juice using counter-current chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 941, p. 54-61, 2013.

USHIKUBO, F. Y.; CUNHA, R. L. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, p. 1-9, 2012.

VERGARA, C.; SAAVEDRA, J.; SÁENZ, C.; GARCÍA, P.; ROBERT, P. Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. **Food Chemistry**, v. 157, p. 246-251, 2014.

CAPÍTULO 1:

Revisão Bibliográfica

1.1 DISPERSÕES COLOIDAIS

As dispersões coloidais consistem geralmente de uma suspensão de partículas pequenas distribuídas dentro de um meio líquido. Para certas aplicações, é desejável utilizar dispersões coloidais contendo partículas muito pequenas, uma vez que estas apresentam diversas vantagens potenciais em relação aos sistemas que contêm partículas maiores (MCCLEMENTS, 2012). Entre essas vantagens está a de maior estabilidade em relação à agregação das partículas e separação gravitacional (TADROS et al., 2004), conter partículas que apenas dispersam as ondas de luz (adequados para incorporação em produtos que necessitam ser opticamente transparentes, ou apenas ligeiramente turvos) (MASON et al., 2006), apresentar propriedades reológicas diferenciadas como, por exemplo, alta viscosidade ou características de gel (SONNEVILLE-AUBRUN et al., 2004) e, poder aumentar a biodisponibilidade de certos tipos de substâncias bioativas encapsuladas no interior das partículas (ACOSTA, 2009).

As dispersões coloidais podem ser fabricadas a partir de óleo, água, surfactantes e co-surfactantes que são amplamente utilizados como sistemas de veiculação em diferentes indústrias. Os dois tipos mais comuns de dispersões coloidais que podem ser criados a partir desses componentes são microemulsões e nanoemulsões. Existem muitas semelhanças estruturais entre esses dois tipos de dispersões coloidais, mas também existem algumas diferenças importantes. No entanto, existe uma grande confusão sobre a natureza precisa desses sistemas, assim como erros generalizados na classificação das dispersões coloidais relatados na literatura científica (MCCLEMENTS, 2012).

1.2 MICROEMULSÕES

O conceito de microemulsão (ME) foi introduzido no início dos anos de 1940 por Hoar e Schulman que geraram uma solução monofásica translúcida titulando uma emulsão leitosa com hexanol (HOAR; SCHULMAN, 1943).

As microemulsões são sistemas de dois líquidos imiscíveis, usualmente água e óleo, estabilizados por um filme interfacial de surfactantes localizados na interface óleo/água. A formulação de MEs geralmente envolve a combinação de três a cinco componentes: óleo, água, surfactante, co-surfactante ou co-solvente e eletrólito (PAUL; MOULIK, 1997; FLANAGAN; SINGH, 2006).

Em um nível microscópico, diversas microestruturas, tais como gotículas de óleo dispersas numa fase contínua de água (O/W), fases bicontínuas, micelas e gotículas de água dispersas na fase contínua de óleo (W/O) podem ser formados, dependendo de vários fatores, tais como a natureza química do óleo e dos agentes surfactantes, a sua concentração e as condições físicas (temperatura, pressão, pH, força iônica, etc.). A água nas MEs pode ser substituída por outros solventes polares. A formação espontânea de domínios com dimensões nanométricas facilitou a sua utilização como nanoreatores para a produção de nanopartículas, devido à facilidade e baixo custo do processo de preparação (SOLANS; GARCÍA-CELMA, 1997; LÓPEZ-QUINTELA, 2003).

Devido à natureza dinâmica desses sistemas, as MEs não devem ser consideradas como molduras rígidas que podem governar estritamente a forma e o tamanho das partículas sintetizadas. Devido ao movimento Browniano, as gotas das MEs nanométricas colidem constantemente e a troca de fase interna ocorre de forma contínua. Vários parâmetros, tais como a elasticidade da película de surfactante, a temperatura, a fração de volume da fase interna, etc., governam este processo de fissão-fusão. Portanto, a previsão do resultado do processo de formação de partículas é muito desafiadora e, muitas vezes, é baseada apenas no conhecimento experimental (LÓPEZ-QUINTELA et al., 2004; GRADZIELSKI, 2008).

Hoar e Schulman em 1943 concluíram que a fase dispersa da ME consiste em gotas esféricas quase uniformes com diâmetros variando entre 8 e 80 nm, as quais foram determinadas através de raios-X de baixo ângulo, espalhamento de luz, ultracentrifugação, microscopia eletrônica e medidas de viscosidade. Estudos recentes realizados por Pramanik et al. (2011), Zhang et al. (2012), Bardhan et al. (2013), Kundu e Paul (2013) e Bardhan et al. (2014) também reportam MEs na faixa de tamanhos descritos por esses autores. Por essa razão, as MEs são relativamente translúcidas, ou seja, opticamente límpidas, o que se justifica pelo fato do diâmetro médio das gotículas ser menor do que o comprimento de onda da luz

incidente ($\lambda = 390 - 750 \text{ nm}$), evitando o espalhamento da luz (KAWAKAMI et al., 2002; DAMASCENO et al., 2011; RAO; MCCLEMENTS, 2011).

1.3 NANOEMULSÕES

Uma nanoemulsão pode ser considerada como uma emulsão convencional que contém partículas muito pequenas. Nanoemulsão pode ser do tipo óleo em água (O/W) ou água em óleo (W/O), dependendo se o óleo é disperso como gotículas em água, ou vice-versa.

Uma nanoemulsão de óleo em água é definida como uma dispersão coloidal termodinamicamente instável que consiste de dois líquidos imiscíveis, com um dos líquidos a ser disperso como pequenas gotas esféricas ($r < 100 \text{ nm}$) no outro líquido. Em princípio, uma nanoemulsão poderia ser formada a partir de óleo e de água sem o uso de um surfactante, no entanto, este sistema seria altamente instável e as gotas sofreriam coalescência, sendo necessário empregar um agente surfactante para facilitar a formação desta e para garantir a sua estabilidade cinética durante o armazenamento (MCCLEMENTS, 2015).

Uma nanoemulsão é, portanto, geralmente preparada usando os mesmos componentes de uma microemulsão: óleo, água, surfactante e possivelmente um co-surfactante. A estrutura das partículas em uma nanoemulsão O/W também é muito similar à encontrada numa microemulsão: as caudas não polares das moléculas tensoativas orientam-se para o núcleo hidrofóbico formado pela fase óleo, enquanto que os grupos de cabeça polar das moléculas do surfactante se orientam para a fase aquosa envolvente.

1.4 SIMILITUDES E DIFERENÇAS ENTRE NANO E MICROEMULSÕES

1.4.1 Composição

Os constituintes das nano e microemulsões são similares, incluindo a fase oleosa, fase aquosa, agente surfactante e possivelmente um agente co-surfactante, porém, em proporções

diferentes. Na preparação de uma microemulsão é necessária uma proporção maior de surfactante:óleo do que na preparação de uma nanoemulsão.

A quantidade máxima de óleo que pode ser incorporada nas micelas de surfactantes depende das características das moléculas de óleo (por exemplo, o volume molar, geometria, polaridade), as características das moléculas de surfactante (por exemplo, grupo de cabeça, grupo da cauda), e as condições ambientais (temperatura, pH, força iônica). A quantidade máxima de óleo que pode ser incorporada numa dada massa de surfactante pode ser caracterizada por uma concentração de saturação (C_{sat}), que é a massa de óleo solubilizada por unidade de massa de agente surfactante sob condições ambientais específicas. Acima da concentração micelar crítica (CMC) de um agente surfactante, a quantidade máxima de óleo que pode ser incorporada nas micelas (C_{sat}) varia de modo aproximadamente linear em função da concentração total de surfactante Eq.(1.1). Se a quantidade total de óleo presente no sistema está abaixo desse valor, então todas as moléculas de óleo serão solubilizadas e a microemulsão formada consistirá de micelas inchadas dispersas em água. Por outro lado, se a quantidade total de óleo presente no sistema é superior a esse valor, então ele não pode ser solubilizado por todas as micelas e qualquer gotícula de óleo adicional no sistema permanecerá intacta. No entanto, o tamanho das gotas pode mudar durante o armazenamento devido à floculação, coalescência e/ou fenômenos de maturação de Ostwald (MCCLEMENTS, 2012).

$$C_{Tot} = C_{sat} \times (C_{Tot} - CMC) \quad (1.1)$$

1.4.2 Dimensão das partículas

Em relação à classificação das microemulsões e nanoemulsões, incongruências se devem principalmente ao prefixo usado para denota-las. O termo "micro" normalmente significa 10^{-6} , enquanto o termo "nano" normalmente significa 10^{-9} , o que implicaria que nanoemulsões contêm partículas menores do que aquelas em microemulsões.

A razão para essa terminologia confusa é resultado do desenvolvimento histórico no campo da ciência dos coloides. Através de uma busca realizada na literatura on-line usando "Web of Knowledge" (Thomson Reuters) em outubro de 2011, descobriu que o primeiro artigo onde é utilizado o termo "microemulsão" foi publicado em 1961 (SCHULMAN;

MONTAGNE, 1961), enquanto que o primeiro artigo usando o termo "nanoemulsão" apareceu em 1996 (CALVO et al., 1996).

1.4.3 Estrutura da partícula

As partículas em nanoemulsões tendem a ser esféricas, porque a tensão interfacial (γ) é relativamente elevada e o raio da partícula (r) é relativamente baixo, existindo assim uma pressão de Laplace ($\Delta P_L = 2\gamma/r$) relativamente grande a favor de uma redução da área interfacial: uma esfera tem a menor área interfacial para um dado volume de material (VAN OSS, 1992).

Por outro lado, as partículas em microemulsões podem ser esféricas e não esféricas, dependendo da curvatura ótima da monocamada de agente surfactante e da quantidade de óleo incorporado no sistema (BIRDI, 2015). Isto porque a tensão interfacial da monocamada de surfactante é relativamente baixa para os sistemas de microemulsão. Assim, microemulsões O/W podem conter partículas que são esféricas ou em forma de minhoca, uma vez que isso permite que as moléculas de surfactante adotem sua configuração ideal. Portanto, é possível distinguir entre microemulsões e nanoemulsões avaliando a forma das partículas presentes, utilizando métodos de microscopia e espalhamento de luz (MCCLEMENTS, 2012).

1.4.4 Método de fabricação

Na formulação de nanoemulsões é muito importante a ordem de adição dos compostos: nanoemulsões são formadas somente se os surfactantes são misturados primeiro com a fase oleosa; se estes são misturados primeiro com a fase aquosa antes de adicionar a fase oleosa, apenas uma emulsão macroscópica será gerada. As microemulsões, por outro lado, serão estritamente idênticas qualquer que seja a ordem em que os compostos são misturados (após o tempo de equilíbrio). Este ponto é muito importante e constitui um teste preliminar para caracterizar a natureza da dispersão obtida (ANTON; VANDAMME, 2010).

Além disso, o método normalmente utilizado para caracterizar nano-sistemas também pode afetar fortemente as propriedades estruturais das amostras. O espalhamento de luz dinâmica (DLS) proporciona a distribuição do tamanho das dispersões, e muitas vezes requer

uma diluição da amostra antes da medição, sendo que esta diluição, no caso de microemulsões, resulta numa modificação do tamanho das micelas inchadas, que simplesmente invalida a caracterização e pode até mesmo conduzir à destruição das micelas. No caso de nanoemulsões, tal diluição não tem influência sobre o tamanho das gotículas e a distribuição de tamanho (ANTON; VANDAMME, 2010).

Para alguns sistemas de agentes surfactantes, óleo e água, existem grandes semelhanças entre os métodos de fabricação que podem ser utilizados para produzir microemulsões e nanoemulsões. No método de emulsificação espontânea, uma dispersão coloidal opticamente transparente é formada quando uma mistura de surfactante e de óleo é adicionada a uma solução aquosa com agitação suave. Do mesmo modo, no método da temperatura de inversão de fase (TIP), uma dispersão coloidal opticamente transparente é formada quando uma mistura de agente surfactante, óleo e água é aquecida perto da temperatura de inversão de fase, e em seguida, o sistema é resfriado com agitação contínua.

As dispersões coloidais formadas usando essas duas abordagens podem ser ou não microemulsões e nanoemulsões, dependendo da proporção de óleo e surfactante, onde a maior proporção dos dois dará origem a uma microemulsão e em uma baixa proporção será formada uma nanoemulsão.

1.4.5 Estabilidade a longo prazo

Uma microemulsão é termodinamicamente estável em determinadas condições e, portanto, deve permanecer estável indefinidamente, desde que essas condições iniciais não sejam alteradas. O conhecimento sobre a influência da composição do sistema e da temperatura sobre o comportamento da fase dos sistemas surfactante-óleo-água é crucial para o desenvolvimento de sistemas bem sucedidos. Assim, as microemulsões têm uma energia livre menor (ΔG) do que o estado de fases separadas, enquanto nanoemulsões têm uma energia livre superior. Os dois estados são separados por uma energia de ativação (E_a). O nível dessa diferença de energias é determinado principalmente por fenômenos físico-químicos que impedem a aproximação das gotículas no sistema, através da repulsão hidrodinâmica e coloidal (por exemplo, estérica e eletrostática) e interações entre gotículas. A taxa à qual uma nanoemulsão reverte para as fases separadas também é determinada pela

frequência com que as gotículas de óleo entram em contato umas com as outras, o que depende do mecanismo principal responsável pelos contatos entre partículas (tais como o movimento Browniano ou forças gravitacionais) (MCCLEMENTS, 2012).

1.5 SURFACTANTES

Os agentes de superfície (geralmente referidos como surfactantes) são moléculas anfipáticas que consistem de uma porção hidrófoba não polar, geralmente um hidrocarboneto ou fluorocarboneto de cadeia linear ou ramificada contendo entre 8 – 18 átomos de carbono, ligados a uma porção polar ou iônica (hidrofílica). A porção hidrofílica pode, por conseguinte, ser não-iônica, iônica ou zwitteriônica, acompanhada de contra-íons nos últimos dois casos. A cadeia de hidrocarboneto interage fracamente com as moléculas de água em um meio aquoso, enquanto que o grupo de cabeça polar ou iônico interage fortemente com as moléculas de água através de interações dipolo ou íon-dipolo. É esta forte interação com as moléculas de água que torna os agentes surfactantes solúveis em água. No entanto, a ação cooperativa de dispersão e de ligação de hidrogênio entre as moléculas de água tende a apertar a cadeia de hidrocarboneto para fora da água e, portanto, essas cadeias são referidas como hidrofóbicas (TADROS, 2005).

Um surfactante é definido como uma substância que reduz a tensão superficial entre óleo-água ou ar-água, aumentando assim a emulsificação e a estabilidade da emulsão. Muitos lipídeos polares nativos e proteínas identificam-se com esta definição. Surfactantes alimentícios, por outro lado, não afetam o processo de emulsificação de forma significativa, mas têm outras funções relacionadas com as propriedades interfaciais que afetam a estabilidade da emulsão. Além disso, os emulsionantes alimentícios têm outras funções em alimentos, tais como a modificação de cristalização de gordura, interações com os componentes de hidratos de carbono, ou agir como substâncias de formação de película, controlando oxigênio ou transporte da umidade, sendo que essas propriedades não estão relacionadas com a definição clássica de um surfactante (FLEMMING VANG; NIELS, 2003).

Alguns surfactantes naturais como a lecitina da gema do ovo e várias proteínas do leite são usados para a preparação de muitos produtos alimentícios como maionese, cremes, molhos para saladas, sobremesas, etc. Além desses materiais, os lipídeos polares como monoglicerídeos foram introduzidos como agentes emulsionantes nas matrizes alimentícias. Dessa forma, o estudo da formação das emulsões, suas estruturas e propriedades são essenciais para sua aplicação em alimentos (KRALOVA; SJOBLÖM, 2009).

O valor de Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) de um surfactante dá uma indicação útil da sua solubilidade nas fases de óleo e/ou água e pode ser utilizado para prever o tipo de emulsão que irá ser formada (DAVIS, 1994). Um surfactante com baixo EHL, entre 3 – 6, é predominantemente solúvel em óleo, estabiliza emulsões W/O e forma micelas reversas em óleo. Um surfactante com alto EHL, entre 8 – 18, é hidrofílico, dissolve preferencialmente em água, estabiliza emulsões O/W e pode formar micelas em água. Um surfactante com um EHL intermediário, entre 6 – 8, não tem preferência por água ou óleo (BECHER, 1977; WALSTRA, 2005).

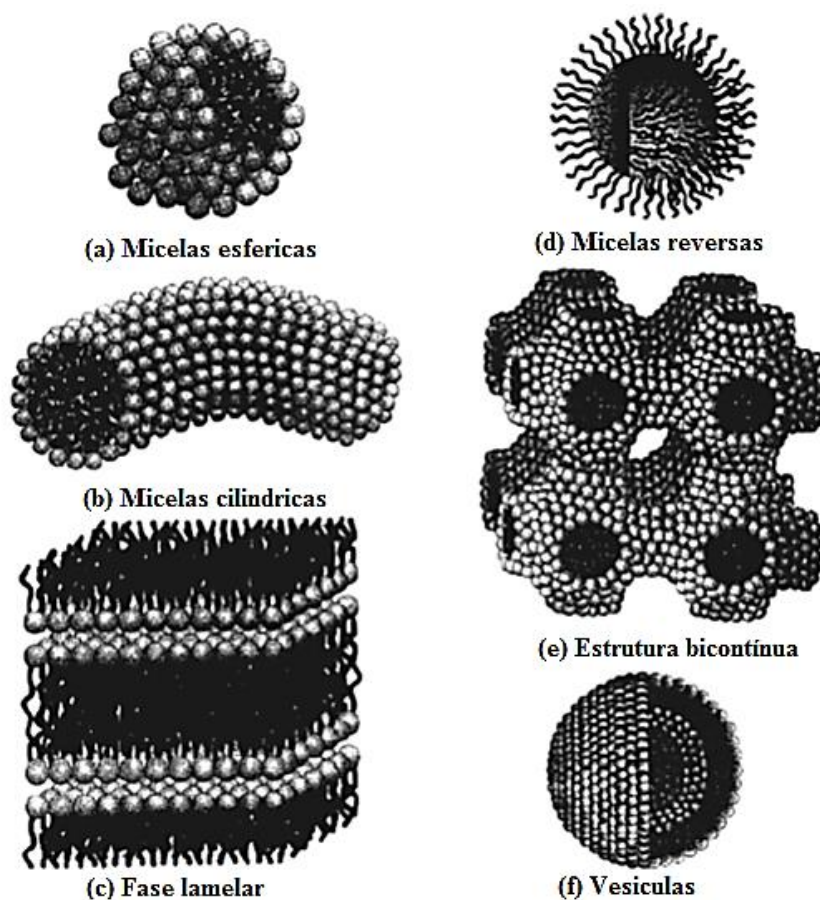
Portanto, para a formação de uma ME, o surfactante escolhido deve:

- Levar a tensão interfacial para um valor muito pequeno para auxiliar no processo de dispersão durante a preparação da microemulsão;
- Proporcionar uma película flexível, que pode facilmente deformar-se ao redor das pequenas gotículas;
- Ter o caráter hidrofílico-lipofílico apropriado para proporcionar a curvatura correta para a região interfacial do tipo desejado de microemulsão: O/W, W/O ou bicontínua.

Essas condições são alcançadas de várias formas, por exemplo, usando uma combinação de um surfactante aniônico ou catiônico de elevado EHL com um agente co-surfactante de baixo EHL ou um surfactante com ligações duplas de composição molecular apropriada (SURABHI et al., 2010).

O auto empacotamento do surfactante leva à formação de uma gama de estruturas diferentes, das quais algumas são mostrados na Figura 1.1.

Figura 1.1 – Estruturas que podem ser formadas no auto empacotamento do surfactante.



Fonte: Holmberg et al. (2003).

Na Figura 1.1, cada tipo de forma descreve:

- (a) Micelas esféricas com um interior composto de cadeias de hidrocarboneto e superfície de grupos de cabeça polar de frente para a água. As micelas esféricas são caracterizadas por quantidades baixas de surfactante (parâmetro crítico de empacotamento) e uma curvatura espontânea fortemente positiva. O núcleo de hidrocarboneto tem um raio perto do comprimento da cadeia de alquilo estendida;
- (b) Micelas cilíndricas com um interior composto de cadeias de hidrocarboneto e superfície de grupos de cabeça polar de frente para a água. A seção transversal do núcleo de hidrocarboneto é similar às micelas esféricas. O comprimento micelar é altamente variável de modo que essas micelas são polidispersas;

- (c) Bicamadas de surfactante que formam cristais líquidos lamelares para sistemas surfactante-água de um núcleo de hidrocarboneto com uma espessura de 80% do comprimento de duas cadeias de hidrocarboneto estendidas;
- (d) Micelas reversas ou invertidas que têm um núcleo de água cercado por grupos de cabeça polar do surfactante. As cadeias acila, juntamente com um solvente não polar formam o meio contínuo. Como micelas "normais", eles podem crescer em cilindros;
- (e) Uma estrutura bicontínua com as moléculas de agente surfactante agregados em filmes ligados, caracterizadas por duas curvaturas de sinal oposto. A curvatura média é pequena (zero para uma estrutura de superfície mínima);
- (f) As vesículas são construídas a partir de camadas duplas semelhantes às da fase lamelar e caracterizam-se por dois compartimentos distintos de água, com uma formação do núcleo e um meio externo.

1.6 CLASSIFICAÇÃO GERAL DE SURFACTANTES

1.6.1 Surfactantes aniônicos

Formam a classe de surfactantes mais amplamente utilizados em aplicações industriais, devido a seu baixo custo de fabricação, sendo utilizados em praticamente todo tipo de detergente. Para uma ótima detergência da cadeia hidrofóbica, um grupo alquila linear deve estar contido na faixa de 12 a 16 dos átomos de carbono da cadeia. Os grupos hidrofílicos utilizados mais comumente são carboxilas, sulfatos, sulfonatos e fosfatos (TADROS, 2005).

1.6.2 Surfactantes catiônicos

Os surfactantes catiônicos mais comuns são os compostos de amônio quaternário (JUNGERMAN, 1970; RUBINGH, 1991), com a fórmula geral $R_4N^+X^-$, onde X^- normalmente é de íons cloreto e R representa grupos alquila. Eles geralmente são compatíveis

com a maioria dos íons inorgânicos e água dura, mas são incompatíveis com metassilicatos e fosfatos altamente condensados. Eles também são incompatíveis com materiais proteicos semelhantes. Catiônicos são geralmente estáveis a mudanças de pH, tanto ácida como alcalina. São incompatíveis com a maioria dos agentes surfactantes aniônicos, mas são compatíveis com os não-iônicos. Os surfactantes catiônicos são insolúveis em óleos de hidrocarbonetos (TADROS, 2005).

1.6.3 Surfactante anfotérico (zwiteriônicos)

Estes são agentes surfactantes que contêm tanto grupos catiônicos quanto aniônicos (BUESTEIN; HILITON, 1982). A característica principal dos surfactantes anfotéricos é a sua dependência do pH da solução em que são dissolvidos. Em soluções de pH ácido, a molécula adquire uma carga positiva e comporta-se como um agente surfactante catiônico, ao passo que em meio alcalino, as soluções de pH tornam-se negativamente carregadas e se comportam como um surfactante aniônico. Um pH específico pode ser definido em que ambos os grupos iônicos mostram igual ionização (o ponto isoelétrico da molécula). Anfotéricos são muitas vezes referidos como moléculas zwiteriônicas. Eles são solúveis em água, mas a solubilidade mostra um mínimo no ponto isoelétrico. Anfóteros mostram uma excelente compatibilidade com outros agentes surfactantes, formando micelas mistas. Eles são quimicamente estáveis tanto em ácidos quanto em álcalis (TADROS, 2005).

1.6.3.1 Lecitina

A lecitina é um surfactante zwiteriônico, muito usado como emulsificante em alimentos (HASENHUETTL; HARTEL, 1997). É solúvel em óleos minerais, mas insolúvel em óleos vegetais não aquecidos. É também altamente insolúvel, mas dispersível em água (USHIKUBO; CUNHA, 2014).

As lecitinas são constituídas por fosfolípidos e esfingolípidos (esfingosina e fitoesfingosina) e são extraídas de produtos como soja, trigo, aveia, ovos, entre outros (KRALOVA; SJOBLUM, 2009). Essa mistura de lipídios confere à lecitina características como temperatura de transição do estado gel para o líquido cristalino, nas bicamadas de lecitina, ao redor de -5 °C. A adição de óleo em lecitina/água tende a desestabilizar a fase lamelar, favorecendo a formação de emulsões (LIN et al., 2009).

1.6.4 Surfactantes não-iônicos

Os surfactantes não iônicos mais comuns são os baseados em óxido de etileno, referindo-se como surfactantes etoxilados. Vários tipos podem ser distinguidos: álcool etoxilado, alquil fenol etoxilado, ácidos graxos etoxilados, ésteres graxos de sorbitano, aminas etoxiladas e copolímeros de óxido de etileno e de óxido de propileno (por vezes referidos como surfactantes poliméricos), etc. (SCHICK, 1966; SCHONFELDT, 1970; SCHICK, 1987).

1.6.4.1 Ésteres de sorbitano e seus derivados etoxilados (*Spans e Tweens*)

Ésteres de ácidos graxos de sorbitano, conhecidos comercialmente como Spans, e seus derivados etoxilados, conhecidos como Tweens, são talvez os surfactantes não-iônicos mais usados. Os ésteres de sorbitano são produzidos fazendo reagir o sorbitol com um ácido graxo a uma temperatura elevada ($> 200^{\circ}\text{C}$). O sorbitol desidrata a 1,4-sorbitano e, em seguida, a esterificação ocorre. Se um mol de ácido graxo se faz reagir com um mol de sorbitol, obtém-se um monoéster (alguns diésteres também são produzidos como subprodutos).

Os derivados etoxilados de Spans (Tweens) são produzidos pela reação de óxido de etileno em qualquer grupo hidroxilo restante do grupo de éster de sorbitano. Alternativamente, o sorbitol é etoxilado, seguido de esterificação. No entanto, o produto final tem propriedades tensoativas diferentes para os Tweens.

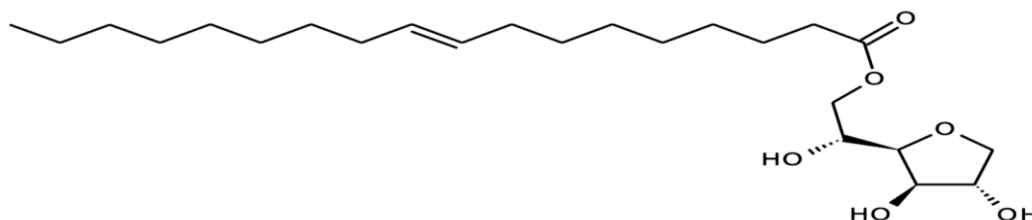
Os ésteres de sorbitano são insolúveis em água, mas solúveis na maior parte dos solventes orgânicos (baixo EHL). Os produtos etoxilados são geralmente solúveis em água e têm números de EHL relativamente elevados. Uma das principais vantagens dos ésteres de sorbitano etoxilados e seus derivados é seu uso como aditivos alimentares. Eles também são amplamente utilizados em alguns cosméticos e preparações farmacêuticas.

1.6.4.2 Monooleato de Sorbitano (*Span 80*)

O monooleato de sorbitano (EHL: 4,3) é uma mistura de ésteres parciais de sorbitol mono e dianidridos de ácido oleico (Figura 1.2) como constituinte principal e 1,4- monooleato de sorbitano, sorbitano dioleato e sorbitano trioleato em menor quantidade (FAO, 2013).

Os surfactantes Span são eficazes na redução da tensão interfacial, sendo que pesquisas realizadas nos derivados 80 e 83 indicaram que possuem características de viscoelasticidade interfacial apreciável (OPAWALE; BURGESS, 1998).

Figura 1.2 – Fórmula química do Span 80.

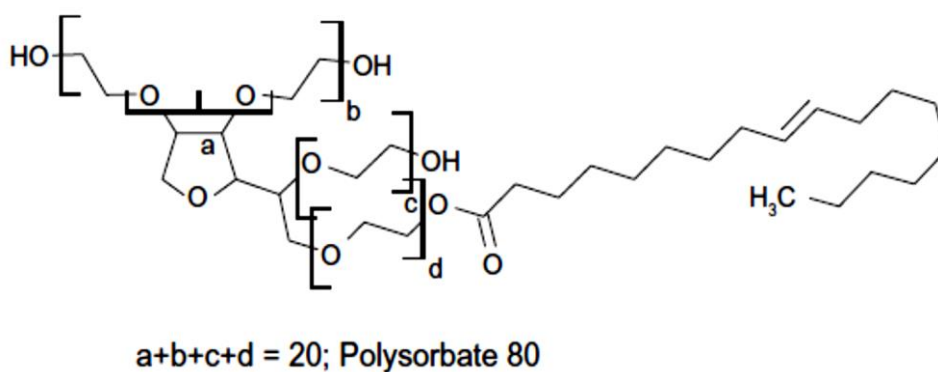


Fonte: Ushikubo e Cunha (2014).

1.6.4.3 Polissorbato 80 (Tween-80)

O Polissorbato 80 (EHL: 15), mostrado na Figura 1.3 é um surfactante estável, não-iônico hidrofílico. Geralmente, é empregado para obter emulsões do tipo óleo em água (O/W), atuando com melhores resultados em associação com dois ou mais surfactantes (MADHI et al., 2011).

Figura 1.3 – Fórmula química do Tween 80: polioxietileno (20) sorbitano mono oleato.

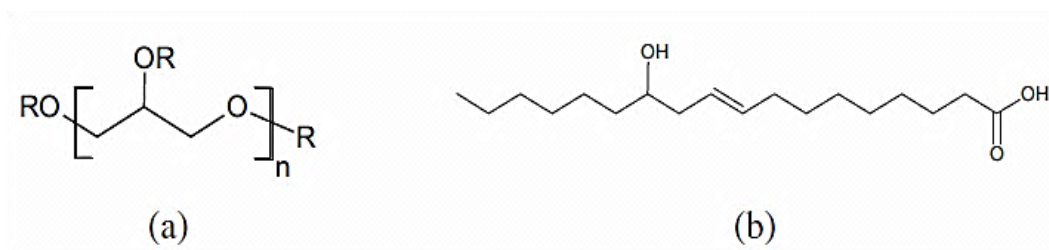


Fonte: Madhi et al. (2011).

1.6.4.4 Poliglicerol–poliricinoleato (PGPR)

O poliricinoleato de poliglicerol (PGPR) (EHL: 1,5 – 2,0) é um surfactante oligomérico e não-iônico (Figura 1.4a) produzido por esterificação de ácidos graxos de óleo de rícino (Figura 1.4b) com poliglicerol (USHIKUBO; CUNHA, 2014). O PGPR é um agente surfactante água em óleo. A adição de quatro partes de PGPR para 30 partes de óleo vegetal permite que 70 partes de água sejam dispersas no óleo. Devido à presença da cadeia hidrofílica longa de poliglicerol com a sua excelente capacidade de ligação de água, o PGPR é um dos mais poderosos surfactantes de emulsões água em óleo disponível para utilização em alimentos. Produz emulsões estáveis de água em óleo, mesmo em conteúdos muito elevados de água, tais como 80% (WILSON et al., 1998).

Figura 1.4 – (a) Fórmula química do PGPR, na qual R é um hidrogênio, ácido ricinoleico ou ácido polyricinoleico (b) Fórmula química do ácido ricinoleico.



Fonte: Ushikubo e Cunha (2014).

1.7 CO-SURFACTANTE

Um co-surfactante é uma molécula anfifílica que se acumula substancialmente com o surfactante na camada interfacial. Normalmente, um surfactante de EHL muito baixo é usado com um surfactante de EHL elevado para modificar o EHL global do sistema. Ao contrário do surfactante, o co-surfactante pode não ser capaz de formar estruturas auto associadas como micelas por conta própria. Vários tipos de moléculas, incluindo agentes surfactantes não iônicos e álcoois podem funcionar como co-surfactante em um determinado sistema. A quantidade de um co-surfactante em um sistema é geralmente menor do que a do surfactante

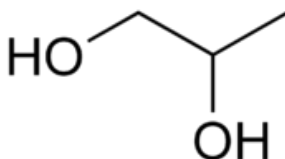
e, muitas vezes, serve para modificar o valor de EHL global do sistema (NARANG et al., 2007).

Em adição ao seu efeito sobre a fluidez interfacial, o co-surfactante também influencia o empacotamento geométrico do surfactante e, conseqüentemente, altera a curvatura das películas interfaciais. Assim, a seleção do surfactante e do co-surfactante é crítica para a formação da ME, assim como também para a solubilização das MEs. Outras variáveis, tais como a natureza química do óleo, salinidade e temperatura também influenciam na curvatura da película interfacial, fluidificando a região do hidrocarboneto da película interfacial (SURABHI et al., 2010).

1.7.1 Propilenoglicol (PG)

Propilenoglicol (Figura 1.5) é um diol da classe dos glicóis, com origem sintética para uso em alimentos, bebidas, cosméticos, produtos farmacêuticos e outras áreas. O propilenoglicol é um dos co-surfactantes mais populares utilizados em emulsões (LAWRENCE; REES, 2000), funcionando como um álcool de cadeia curta, reduzindo a temperatura de percolação (KALE; ALLEN, 1989; VAN BOMMEL et al., 2005).

Figura 1.5 – Fórmula química do propilenoglicol.



1.8 ÓLEO DE SOJA

Os óleos vegetais se caracterizam por ter propriedades únicas (por ser biodegradáveis e renováveis) e são amplamente utilizados como matérias-primas nas indústrias de alimentos, medicina, cosmética e de biocombustíveis (LATHI; MATTIASSON, 2007). Devido à crise

energética e às questões ambientais, é significativo buscar abordagens alternativas para utilização de óleos vegetais. Óleos vegetais tradicionais com função de lubrificação, tais como óleo de rícino, pinhão manso e soja, foram estudados por ser capazes de produzir microemulsões isotrópicas com líquidos iônicos, bem como o comportamento da fase de óleos vegetais em microemulsões líquidas iônicas têm sido relatado (WANG et al., 2014).

Os óleos vegetais em geral são compostos principalmente por triglicerídeos, 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 palmitoleico (traços) e o oleico (18,0 – 34,0%), e ácidos graxos poli-insaturados, como o linoleico (45,0 – 60,0%) e o linolênico (3,5 – 8,0%) (MALACRIDA; JORGE, 2003).

1.9 TEORIAS DA FORMAÇÃO DA MICROEMULSÃO E ESTABILIZAÇÃO

Para a formação de uma ME, é necessário que exista a mistura de dois líquidos imiscíveis. Inicialmente, quando esses líquidos são agitados mecanicamente, um deles é disperso no interior do outro (fase contínua). Se um surfactante for adicionado ao sistema, o mesmo tende a se estabilizar, formando um sistema homogêneo com a formação de uma fase interna, dispersa ou descontínua. Sem a adição do surfactante, o sistema tende a sofrer separação de fases e será possível visualizar novamente os dois líquidos separados. Sob o aspecto físico-químico, a formação de uma ME é um pouco diferente das emulsões, pois, além desses sistemas serem transparentes e termodinamicamente estáveis, apresentam um tamanho de gotículas nanométrico (DAMASCENO et al., 2011).

A teoria da solubilização considera MEs como sistemas de micelas inchadas, ou seja, soluções com água solubilizada ou hidrocarbonetos solubilizados em sistemas de uma fase. A teoria termodinâmica propõe que a energia livre de formação de microemulsão, ΔG_m , consiste de diferentes termos, como a energia livre interfacial, energia de interação entre as gotas, e um termo entrópico. Quando ΔG_m atinge um valor de zero ou ligeiramente negativo, a

formação da ME pode ser facilitada. Independentemente do mecanismo de estabilização, a redução da energia livre interfacial a um valor muito baixo é crítico no sentido de facilitar a formação da ME (FLANAGAN; SINGH, 2006).

A energia livre de superfície pode ser definida pela Equação 1.2 a temperatura, volume e número de moles constantes. Essa equação mostra que ΔG varia diretamente com a área interfacial e que se a tensão interfacial entre as fases aquosa e oleosa, γ_i , for negativa, ΔG será < 0 e a emulsificação espontânea será possível (OLIVEIRA et al., 2004).

$$\Delta G = G_2 - G_1 = \gamma_i \times \Delta S \quad (1.2)$$

Quando aumenta o número de moléculas por unidade de área, elas começam a se comprimir, umas ao lado das outras, desenvolvendo uma pressão lateral bidimensional (π). A análise do filme mostra que a tensão de superficial (γ_i) na interface diminui proporcionalmente com o aumento da pressão. Esse fenômeno pode ser expresso pela Equação 1.3, a qual mostra que quando a repulsão entre as espécies do filme (pressão π) exceder γ_0/A , γ_i será negativa:

$$\gamma_i = \frac{\gamma_0}{A} - \pi \quad (1.3)$$

Desse modo, a variação da energia ($\gamma_i \times \Delta S$) torna-se favorável à expansão espontânea da interface. A pressão do filme (π_G) fica, então, compensada por uma tensão muito menor (γ_ϕ), descrita pela Equação 1.4:

$$\gamma_\phi = \left(\frac{\gamma_0}{A} \right)_a - \pi_G \quad (1.4)$$

onde, $(\gamma_0/A)_a$ e π_G , representam a tensão interfacial original entre óleo e água após o potencial químico do surfactante em cada fase ter sido equalizado por partição, e a pressão no filme antes da curvatura, respectivamente.

Essa sequência de fatos leva a um mecanismo de curvatura do filme que é aplicável não somente para a formação de microemulsões O/W e W/O, mas também para a magnitude da curvatura do filme. A pressão total no filme é igual à soma das pressões de cada lado. Assim, π_G representa a pressão transiente inicial, resultante da pressão gradiente devido a π_o e π_A através do filme e π é a soma de π_o e π_A (OLIVEIRA et al., 2004).

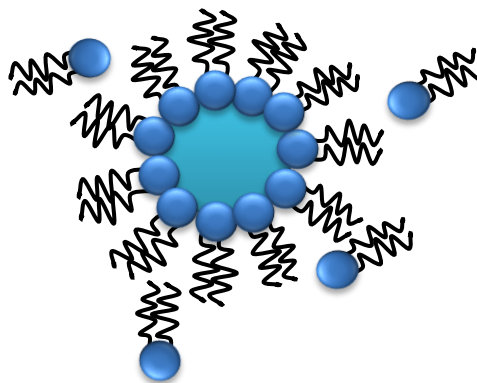
Consequentemente, com o aumento da área interfacial por um aumento de π , a γ_i se aproxima de zero, favorecendo a dispersão de uma fase na outra. Esse resultado indica que os surfactantes de caráter muito hidrofílicos ou lipofílicos são inapropriados para a formulação de MEs; mesmo com ajuda de co-surfactantes, a tensão interfacial não diminuirá suficientemente para a formação de um sistema microemulsionado (HO et al., 1996).

1.10 TIPOS DE MICROEMULSÕES

A mistura dos componentes da fase aquosa, fase oleosa, surfactante e co-surfactante, na região da ME em um diagrama de fases, é capaz de formar diferentes estruturas internas. A estrutura formada é influenciada pelas propriedades físico-químicas dos componentes utilizados e da razão entre os componentes. Apenas em MEs muito diluídas é possível a formação de uma estrutura de micela intumescida (de água ou óleo) regular (O/W) ou reversa (W/O).

1.10.1 Microemulsões W/O

A microemulsão W/O (Figura 1.6) é formada quando se dispersa água em uma fase contínua de hidrocarboneto, sendo normalmente situada em direção da região rica em óleo. Nesta região são gerados agregados conhecidos como micelas esféricas reversas ou invertidas, as quais minimizam a energia de superfície, sendo esta a forma mais comum (EKWALL et al., 1971; CONSTANTINIDES; YIV, 1995; MALIK et al., 2012).

Figura 1.6 – Microemulsão W/O.

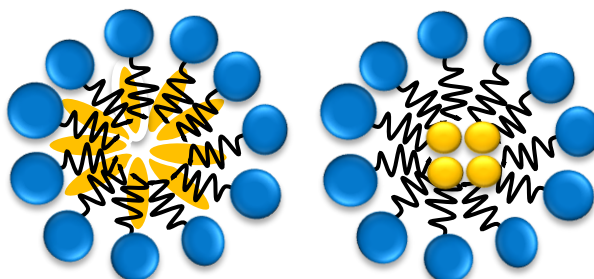
Fonte: Malik et al. (2012).

1.10.2 Microemulsões O/W

Uma microemulsão de óleo em água é uma dispersão coloidal, termodinamicamente estável, que consiste em partículas esferoides pequenas (composta de óleo, surfactante, e possivelmente co-surfactante) dispersos num meio aquoso.

As moléculas de surfactante numa microemulsão de óleo em água estão organizadas de modo que suas caudas não polares se associam umas com outras formando um núcleo hidrofóbico, uma vez que este reduz a área de contato termodinamicamente desfavorável entre os grupos não polares e a água. Os grupos de cabeça hidrófilos das moléculas de surfactante sobressaem na fase aquosa envolvente. A molécula de óleo pode ser incorporada no interior hidrofóbico das micelas com um núcleo separado ou entre as caudas do surfactante (Figura 1.7 a, b). Se as moléculas de óleo têm alguns grupos polares, então elas podem ser incorporadas nas micelas de tal forma que interagem com os grupos polares da cabeça polar do surfactante ou sobressair a uma certa distância na água (CONSTANTINIDES; YIV, 1995; MALIK et al., 2012).

Figura 1.7 – Microemulsões O/W: (a) moléculas de óleo incorporadas na cauda do surfactante; (b) moléculas de óleo incorporadas como núcleo hidrofóbico.

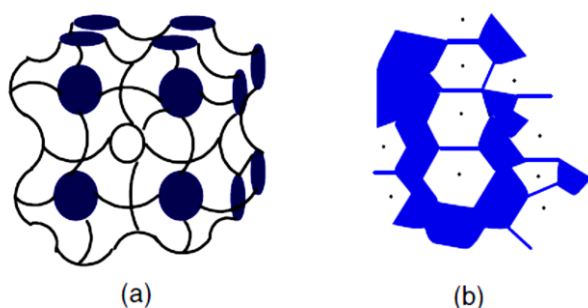


Fonte: McClements (2012).

1.10.3 Fase bicontínua

A fase bicontínua ou esponja é uma estrutura bastante complexa. Como o próprio nome sugere, nessa estrutura a água e o óleo são fases contínuas. Estruturas bicontínuas são talvez mais frequentemente observadas do que os agregados micelares discretos. Eles são encontrados em microemulsões, em mesofases e, até mesmo em soluções relativamente diluídas de surfactantes. De acordo com a Figura 1.8 pode ser observado que não há gotas isoladas, mas sim um arranjo bicontínuo de canais de óleo e água. A maior parte das microemulsões que são bicontínuas contém quantidades comparáveis de água e de óleo, e há sistemas bicontínuos que são estabilizados por apenas uma pequena quantidade de surfactante (KRESGE et al., 1992; KREILGAARD, 2002).

Figura 1.8 – a) Fase bicontínua, b) corte transversal.



Fonte: Malik et al. (2012).

1.11 FENÔMENO DE PERCOLAÇÃO

A integridade da monocamada é frequentemente influenciada por eventos que ocorrem mediante as colisões entre gotas de microemulsão. Esperam-se alterações das várias propriedades das microemulsões, quando a fração de volume da fase dispersa (φ) é aumentada. Especialmente a condutividade elétrica é sensível à agregação das gotículas. Esse fato tem sido reportado em vários estudos em microemulsões aquosas (WEI et al., 2012; ŁUCZAK; HUPKA, 2014). O artigo publicado por Lagües et al. (1978) foi o primeiro a interpretar o aumento dramático da condutividade com a fração de volume de gotículas de uma microemulsão W/O em termos de um modelo de percolação e denominou essa situação física como percolação agitada, referindo-se ao movimento Browniano do meio. De acordo com o modelo teórico mais amplamente utilizado, é baseado na natureza dinâmica das microemulsões que consiste em duas pseudofases: uma em que a carga é transportada pela difusão da microemulsão e outra na qual a alteração dos glóbulos da fase é realizada por difusão do próprio transportador de carga no interior dos aglomerados de micelas invertidas. De acordo com essa teoria, duas abordagens (estáticas e dinâmicas) foram propostas para o mecanismo que leva à percolação (LAGOURETTE et al., 1979).

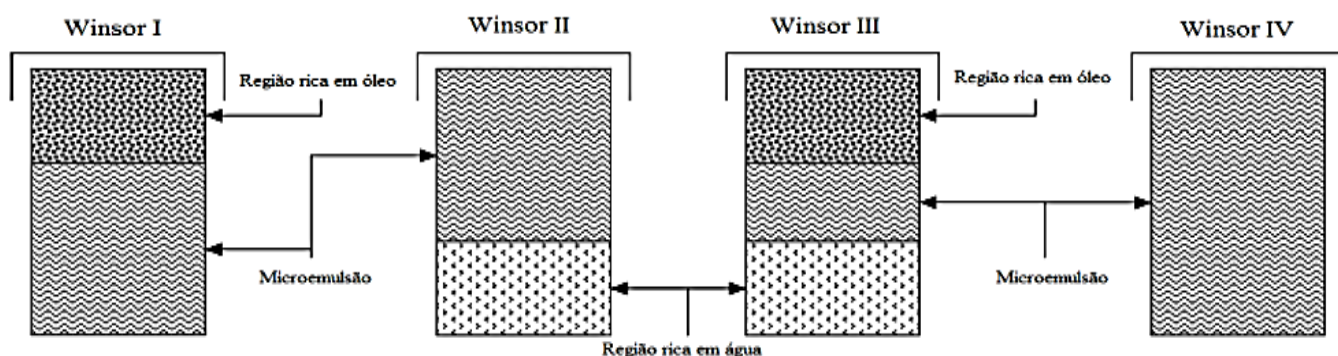
A percolação estática está relacionada com o aparecimento de fases bicontínuas, onde o forte aumento na condutividade é devido a contra-íons e, em menor medida, aos íons dos surfactantes, o que pode ser justificado por um caminho de água ligado no sistema. A percolação dinâmica está relacionada com o rápido processo de fissão-fusão entre as gotículas. Canais transitórios de água se formam quando a interface de surfactante se decompõe durante colisões ou através da fusão de gotículas. Neste último caso, a condutividade é principalmente devida ao movimento de contra-íons ao longo dos canais de água. Para o modelo dinâmico de percolação, o processo global envolve a abordagem de difusão de duas gotas, o que leva a um encontro par (CAZABAT; LANGEVIN, 1981).

1.12. CLASSIFICAÇÃO DE WINSOR PARA SISTEMAS MICROEMULSIONADOS

Winsor em 1948 criou um parâmetro semiquantitativo para mensurar o equilíbrio entre as características hidrofílicas e lipofílicas do surfactante em um sistema particular que é um tanto similar ao EHL (equilíbrio hidrofílico-lipofílico). Esse parâmetro, denominado Razão de Winsor (RW), pode ser modificado pela mudança na estrutura do surfactante, por ajustes na temperatura do sistema, ou pela adição de co-surfactante. Desse modo, os sistemas podem ser classificados em quatro tipos: Winsor I, II, III e IV. Esses tipos são baseados na quantidade de fases formadas em virtude da quantidade de óleo e/ou água em excesso (Figuras 1.9 e 1.10) (WINSOR, 1948; 1950).

O sistema tipo Winsor I ocorre quando uma pequena porção da fase oleosa está em equilíbrio com o sistema microemulsionado, apresentando um excesso de óleo na porção superior do sistema, formando um sistema bifásico. No tipo Winsor II, também bifásico, uma pequena porção da fase aquosa está em equilíbrio com o sistema microemulsionado, apresentando um excesso de água na porção inferior do sistema. No tipo Winsor III, o sistema homogêneo está em equilíbrio com excesso tanto de óleo quanto de água, formando um sistema trifásico e, finalmente, o tipo Winsor IV ocorre quando não há excesso de fase aquosa ou oleosa, formando um sistema homogêneo e monofásico.

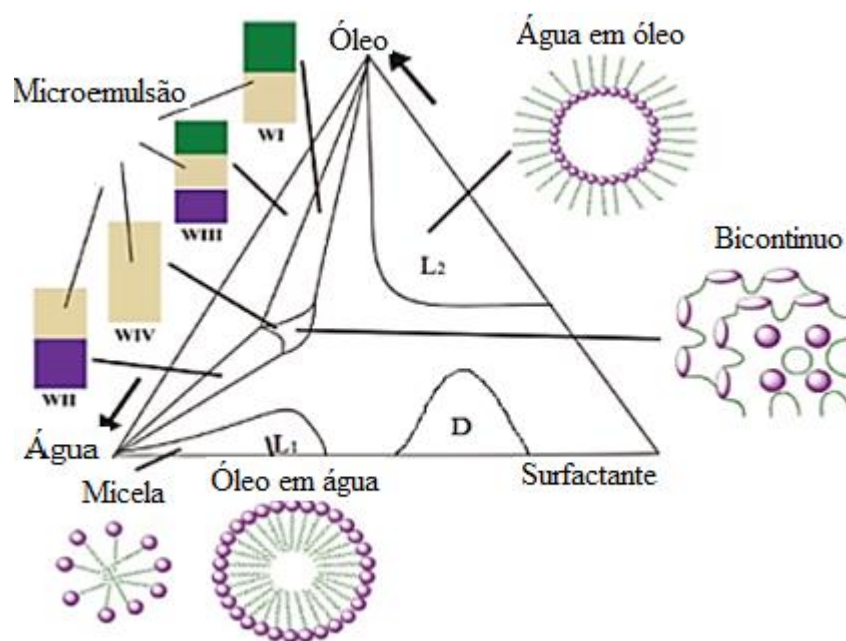
Figura 1.9 – Sistema de classificação de Winsor mostra as possíveis fases óleo e água em sistemas de microemulsões.



Fonte: Flanagan e Singh (2006).

O sistema tipo Winsor IV é o foco principal durante a preparação de um sistema microemulsionado, pois a adição de co-surfactantes além de diminuir o valor do EHL (ou aumentar a RW) dos surfactantes empregados, também ajusta a conformação geométrica do surfactante na interface para facilitar a formação da ME (TAN et al., 2011).

Figura 1.10 – Diagrama de fases ternário da mistura de água e óleo-surfactante representando a classificação de Winsor e estruturas internas prováveis.



Fonte: Metha e Kaur (2011).

1.13. CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a caracterização das MEs. A literatura postula que técnicas experimentais diferentes podem ser usadas para obter informações sobre a dinâmica e estrutura desses sistemas (KAHLWEIT et al., 1987).

A caracterização de microemulsões pode ser dividida em duas áreas principais, caracterização macroscópica e caracterização microscópica. Viscosidade, condutividade e medidas dielétricas fornecem informações úteis em nível macroscópico. A presença de micelas inversas (MACKEBEN et al., 2001) e a transição entre estruturas (AMAR et al., 2004) implica uma mudança na viscosidade (FLANAGAN; SINGH, 2006). As medidas de condutividade podem dizer se há ME contínua em óleo ou contínua em água, assim como determinar fenômenos de percolação (WEI et al., 2012; CHEN; ZHAO, 2014).

Dentre as técnicas mais difundidas em nível microscópico, tem-se a microscopia de luz polarizada para verificar a isotropia do sistema; o espalhamento de raios-X (FANUN, 2011) em baixos ângulos e de nêutrons para determinar o diâmetro da gotícula ou da fase dispersa; além dos métodos espectroscópicos, como ressonância magnética nuclear (HATHOUT; WOODMAN, 2012), para determinar a estrutura.

1.13.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear (RMN) permite elucidar a organização da estrutura de uma ME a partir de medidas de autodifusão de todos os componentes. Dentro de uma micela, o movimento molecular das caudas de hidrocarbonetos (de translação, reorientação e a flexibilidade da cadeia) é quase tão rápido como em um hidrocarboneto líquido. Em uma micela inversa, as moléculas de água e os contra-íons são também altamente móveis. Para muitos sistemas surfactante-água, há uma separação espacial distinta entre os domínios hidrofóbicos e hidrofílicos. A passagem de espécies entre diferentes regiões é um evento improvável e ocorre muito lentamente. Portanto, o estudo da auto-difusão em distâncias macroscópicas deveria revelar se o processo é rápido ou lento, dependendo das propriedades geométricas da estrutura interna. Por exemplo, uma amostra que é contínua em água e descontínua em óleo deverá exibir rápida difusão dos componentes hidrofílicos, enquanto que os componentes hidrofóbicos difundirão lentamente. Em uma estrutura bicontínua se esperaria uma rápida difusão de todos os componentes (TADROS, 2005).

1.13.2 Espalhamento de raios-X a baixos ângulos

As técnicas de espalhamento de raios-X e de nêutrons são baseadas na análise do espalhamento da radiação produzida por uma fonte como raios-X ou nêutrons ao interagir com partículas presentes numa amostra. Essas ferramentas permitem obter informação sobre o tamanho, a forma e a orientação de componentes no sistema que não precisam ser de longo alcance ou de ordem cristalino. Em experimentos de espalhamento, a radiação dispersa pela amostra de interesse é tipicamente medida sobre um detector bidimensional; no caso de dispersores isotrópicos, depois de ser calculada a média radial, a intensidade é plotada contra a magnitude de espalhamento do vetor q , que descreve a relação entre o incidente e os vetores de onda dispersos e é definida como na Equação 1.5:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \quad (1.5)$$

Em que θ é a metade do ângulo através do qual a radiação é dispersa e λ é o comprimento de onda da radiação incidente (MARTÍNEZ-SANZ et al., 2015).

1.14 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é a tecnologia utilizada na indústria alimentar por mais de 60 anos como um meio de oferecer uma barreira efetiva a ingredientes sólidos e líquidos contra interações ambientais e/ou químicas até sua liberação desejada (REINECCIUS, 1994). Quase todos os materiais que necessitam ser protegidos, isolados, liberados lentamente ao longo do tempo, ou liberados em um determinado momento, podem ser encapsulados. Esses ingredientes alimentares que podem beneficiar-se do encapsulamento incluem aromas, ácidos, álcalis, tampões, lipídeos, enzimas, microrganismos, adoçantes artificiais, vitaminas, minerais, conservantes, antioxidantes, agentes de reticulação, agentes de fermentação, corantes e nutrientes (REINECCIUS, 1994; RISCH, 1995). Tais microcápsulas podem apresentar dimensões que variam desde frações de micron até vários milímetros, em diferentes formas, dependendo dos materiais e métodos utilizados em sua preparação (SHAHIDI; HAN, 1993; AZEREDO, 2005; SANTOS et al., 2005; MADENE et al., 2006).

1.14.1 Microencapsulação por coacervação complexa

O termo coacervação vem do latim “co” e “acervus” significando “união” e “agregação” de partículas e foi usado primeiramente por Bungenberg de Jong e Kruyt em (1928) para descrever o fenômeno de separação espontânea de fases que ocorre quando polieletrólitos são misturados em um meio aquoso (VANDERGAER, 1973; TOLSTOGUZOV, 1991; THIES, 1995; MENDER et al., 2000; DUCCEL et al., 2004; STRAUSS; GIBSON, 2004).

A coacervação é um fenômeno de interação baseado na complexação que ocorre como resultado da mistura de soluções de biopolímeros com cargas opostas, formando complexos que, por repulsão do solvente precipitam, formando duas fases, sendo uma delas chamada de “rica em polímeros” contendo o coacervado precipitado e outra chamada “pobre em polímeros”, na qual permanece o solvente da solução (TOLSTOGUZOV, 1991; REMUNAN-LOPEZ; BODMEIER, 1996; SCHMITT et al., 1998; WANG et al., 1999; WANG et al., 2000).

O processo baseia-se na formação de uma emulsão (quando a fase dispersa é um líquido) ou dispersão (quando a fase dispersa é um sólido) do recheio na solução da mistura polimérica. Com a alteração das condições do meio para promover a coacervação (pH, força iônica, temperatura) ocorre a deposição do complexo ao redor dessas estruturas, formando um filme ou matriz sólidos, responsáveis pela retenção, proteção e liberação controlada do recheio (BACHTSI; KIPARISSIDES, 1996).

Os biopolímeros ideais para serem empregados na coacervação complexa são aqueles que apresentam propriedades coloidais hidrofílicas, densidades de cargas adequadas e cadeias lineares. Alguns exemplos de biopolímeros passíveis de serem utilizados são: gelatinas, alginatos, albuminas, caseína, ágar, gomas e pectinas (VANDERGAER, 1973; THIES, 1995). Diversos sistemas de materiais de parede já foram avaliados no processo de coacervação complexa, mas o mais estudado e compreendido é o sistema gelatina/goma arábica (GOUIN, 2004).

A coacervação complexa utilizando o par gelatina/goma arábica só é possível em pH abaixo do ponto isoelétrico da gelatina. É nesse pH que a gelatina se torna positivamente carregada, enquanto a goma arábica continua negativamente carregada. O material a ser

encapsulado é emulsionado na gelatina e então a goma é adicionada ao sistema. O pH é ajustado para que se forme o coacervado e a temperatura é reduzida para que as paredes da microcápsula se formem e ocorra separação de fase, após o que as partículas podem ser separadas e manuseadas. Por fim, as microcápsulas são coletadas e secas (SCHERI et al., 2003).

As micropartículas coacervadas são frequentemente desidratadas, para que se estenda o tempo de estocagem das mesmas e para que se torne viável seu uso em produtos desidratados (BURGESS; PONSART, 1998). Vários autores têm usado a encapsulação de princípios ativos de grau alimentício por coacervação complexa com o propósito de manter ou melhorar as características próprias destes. Nori et al. (2011) encapsularam por coacervação extrato de própolis usando pectina Genu tipo 800 e isolado de proteína de soja e liofilizado mantendo sua atividade antioxidante e antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Comunian et al. (2013) encapsularam ácido ascórbico usando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes e obtiveram cápsulas esféricas ligeiramente solúveis, com uma eficiência aproximada de 98%; a coacervação permitiu proteger e deixar mais estável o ácido ascórbico que em solução, o que possibilitou a sua liberação controlada sob condições específicas e, ao mesmo tempo, ajudou a mascarar o sabor ácido.

1.14.2 Agentes encapsulantes

1.14.2.1 Goma Arábica

A goma arábica é um biopolímero obtido do exsudado da árvore acácia, da família *Leguminosae*, originária do Egito e de uso milenar. A estrutura química da goma arábica corresponde a um complexo polissacarídeo que contém pequenas quantidades de material nitrogenado. O polissacarídeo é uma cadeia ramificada, com massa molar que pode variar de 47.000 a 3.000.000 g/mol. Dessa forma, a goma arábica é denominada como um complexo proteico-arabinogalactano (KAUSHIK; ROOS, 2007; LOPERA et al., 2009).

A goma arábica possui características estruturais que lhe permitem ser adsorvida em superfícies lipofílicas, atuar como coloide protetor e, ainda, como um bom agente formador de películas; adicionalmente, apresenta baixa viscosidade e comportamento newtoniano em concentrações inferiores a 35 %. A goma arábica é um dos materiais formadores de película

mais efetivos para microencapsulação. Esse material de parede é considerado ideal para a encapsulação de gotículas de lipídios, uma vez que satisfaz os papéis tanto de agente surfactante e de matriz de secagem (IZYDOREZYK et al., 2005; TONON et al., 2011).

1.14.2.2 *Gelatina*

A gelatina é uma proteína solúvel em água que é amplamente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica. É derivado por degradação hidrolítica de colágeno, o componente principal do tecido conjuntivo fibroso. As gelatinas comerciais são geralmente obtidas a partir da pele e dos ossos de vacas e porcos (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015). A dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno forma o produto conhecido como gelatina. O colágeno insolúvel é convertido em gelatina solúvel por tratamentos hidrolíticos. A principal propriedade da gelatina é sua capacidade de formar géis estáveis em temperaturas menores que 40 °C, desde que a concentração de gelatina na solução seja no mínimo de 1 %; em certos casos, essa transição sol-gel é reversível (NEKLYUDOV, 2003). Dois tipos de gelatina são obtidos, de acordo com o procedimento de pré-tratamento e são conhecidos comercialmente como gelatina tipo A (ponto isoelétrico em pH ~ 8-9) e gelatina tipo B (ponto isoelétrico em pH ~ 4-5) obtidas sob condições de pré-tratamento ácido ou alcalino respectivamente (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

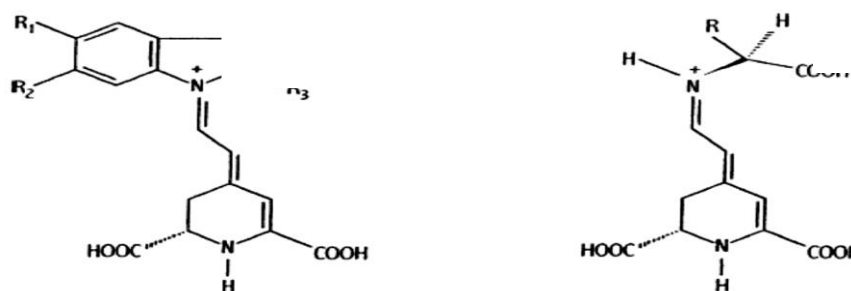
A gelatina derivada da pele de porco é normalmente referida como do tipo A e derivados de gelatina de pele de bovinos é referido como a gelatina tipo B. A consistência do gel e viscosidade são as propriedades físicas mais importantes da gelatina. A consistência do gel, também conhecido como valor Bloom, é uma medida da resistência e da rigidez da gelatina, refletindo o peso molecular médio dos seus constituintes, e é geralmente entre 30 e 300 bloom (< 150 é considerado como sendo um baixo Bloom, 150 – 220 Bloom médio e um 220 – 300 Bloom alto). Bloom de valores mais altos indica que a gelatina tem uma maior força. A gelatina é produzida na forma de pó ou granulado, é insípida e inodora. Ela pode ser usada como agente de ligação de água, espessante, gelificante, para formação de espuma, emulsionantes e agente de formação de película. A gelatina é higroscópica e consequentemente, absorve água, dependendo da humidade relativa na qual é armazenada (NUR HANANI et al., 2014).

1.15 BETALAÍNA

Nos últimos anos, o interesse em corantes naturais aumentou consideravelmente, principalmente pela toxicidade quase nula e por serem ecologicamente corretos. Corantes naturais são antioxidantes nutricionais e sua presença na dieta pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares, câncer e doenças associadas ao envelhecimento (CHETHANA et al., 2007).

Quimicamente, as betalaínas são compostos nitrogenados presentes na beterraba, apresentando reconhecida atividade antioxidante. São classificadas em betacianinas, que conferem a cor vermelho-violeta à beterraba e em betaxantinas, um corante vermelho-alaranjado também presente na beterraba, porém em menor proporção que as betacianinas (Figura 1.11) (CAI; CORKE, 2000). A estabilidade das betalaínas é fortemente influenciada pela presença de açúcar, luz, oxigênio, atividade de água e temperatura (CASTELLAR et al., 2003; HERBACH et al., 2004; HERBACH et al., 2006; AZEREDO et al., 2007; AZEREDO, 2009). A estabilidade térmica máxima de suco de beterraba vermelho foi observado em pH de 5,8 (SAGUY, 1979). Todos os pigmentos das betalaínas são solúveis em água, uma propriedade muito explorada na extração do pigmento, assim como, sua atividade de eliminação de radicais livres que foram descritos para os extratos de plantas purificados e pigmentos (ESCRIBANO et al., 1998; CAI et al., 2003; GLISZCZYNSKA-SWIGLO et al., 2006; CHETANA et al., 2007). Betalaínas foram referidas como inibidoras na formação de tumores em camungongos *in vivo*, com concentrações muito baixas de pigmentos, demonstrando assim um forte potencial de proteção da saúde (KAPADIA et al., 2003; LU et al., 2009; LECHNER et al., 2010).

Figura 1.11 – Fórmula química das Betacianinas (esquerda) e Betaxantinas (direita).



Fonte: Castellar et al. (2003).

O corante vermelho de beterraba é disponível como extrato produzido pela evaporação do suco de beterraba sob vácuo até um teor de sólidos total de 40 – 60%, ou na forma de pó, obtido pela secagem por pulverização do concentrado. Os produtos em pó são mais estáveis devido à menor taxa de degradação dos pigmentos. A estabilidade térmica das betalaínas depende de algumas condições físicas, onde o de aquecimento é o fator mais importante (NEMZER et al., 2011).

As betalaínas são estáveis ao longo de um intervalo de pH de 3,0 – 7,0 conferindo-lhes uma vantagem sobre as antocianinas, porém, possuem baixa estabilidade térmica (KANNER et al., 2001; GLISZCZYNSKA-SWIGLO et al., 2006).

Algumas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de reduzir o uso de corantes sintéticos em alimentos, dando lugar ao uso de corantes de fontes naturais, como a betalaína, sendo a encapsulação por spray-drying a tecnologia mais usada (AZEREDO et al., 2007; GANDÍA-HERRERO et al., 2010; PITALUA et al., 2010; GANDÍA-HERRERO et al., 2013; RAVICHANDRAN et al., 2014). Nesses estudos, agentes de encapsulação, tais como goma arábica, amido e maltodextrina, com diferentes equivalentes de dextrose e inulina, têm sido utilizados. Esses estudos estabeleceram que a natureza e as propriedades do biopolímero utilizado como um agente de encapsulação (capacidade de película, de permeabilidade ao oxigênio, e higroscopicidade, entre outros) têm um papel importante na estabilidade das micropartículas de betalaina (CAI; CORKE, 2000; SERRIS; BILIADERIS, 2001).

Corantes naturais têm algumas desvantagens em relação aos artificiais. Tipicamente, os custos são mais elevados e, dependendo do corante específico exibem estabilidade mais baixa nas condições de processamento e armazenamento (CARDOSO-UGARTE et al., 2014). A microencapsulação tem sido proposta como uma estratégia bem sucedida para melhorar a estabilização da betalaína, para tornar mais fácil o seu manuseio durante o processamento, e para assegurar a sua biodisponibilidade quando eles são utilizados como corantes alimentícios (DESAI; PARK, 2005).

1.16 REFERÊNCIAS

ACOSTA, E. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 14, n. 1, p. 3-15, 2009.

AMAR, I.; ASERIN, A.; GARTI, N. Microstructure transitions derived from solubilization of lutein and lutein esters in food microemulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 33, n. 3-4, p. 143-150, 2004.

ANTON, N.; VANDAMME, T. F. Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 5, p. 978-985, 2010.

AZEREDO, H. M.; SANTOS, A. N.; SOUZA, A. C.; MENDES, K. C.; ANDRADE, M. I. R. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. **American Journal of Food Technology**, v. 2, n. 4, p. 307-312, 2007.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

AZEREDO, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 2365-2376, 2009.

BACHTSI, A. R.; KIPARISSIDES, C. Synthesis and release studies of oil containing poly(vinyl alcohol) microcapsules prepared by coacervation. **Journal of Controlled Release**, v. 38, p. 49-58, 1996.

BARDHAN, S.; KUNDU, K.; PAUL, B. K.; SAHA, S. K. Interfacial composition and characterization of a quaternary water-in-oil mixed surfactant (cationic of different alkyl chain

lengths + polyoxyethylene type nonionic) microemulsions in absence and presence of inorganic salts. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 433, p. 219-229, 2013.

BARDHAN, S.; KUNDU, K.; SAHA, S. K.; PAUL, B. K. Effects of water content and oil on physicochemical and microenvironmental properties of mixed surfactant microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 450, p. 130-140, 2014.

BECHER, P. **Emulsions: theory and practice**. R. E. Krieger Pub. Co., 1977.

BIRDI, K. S. **Handbook of Surface and Colloid Chemistry, Fourth Edition**. CRC Press, 2015.

BUESTEIN, B. R.; HILITON, C. L. **Amphoteric Surfactants**. Marcel Dekker. New York: 1982.

BUNGENBERG DE JONG, H. G.; KRUYT, H. R. Chemistry. Coacervation (Partial miscibility in colloid systems. **Journal Physical Chemistry**, v. 100, n. 200, p. 258-357, 1928.

BURGESS, D. J.; PONSART, S. Beta-Glucuronidase activity following complex coacervation and spray drying microencapsulation. **Journal of Microencapsulation**, v. 15, n. 5, p. 569-579, 1998.

CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant Activity of Betalains from Plants of the Amaranthaceae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2288-2294, 2003.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.

CALVO, P.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Comparative in vitro Evaluation of Several Colloidal Systems, Nanoparticles, Nanocapsules, and Nanoemulsions, as Ocular Drug Carriers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 5, p. 530-536, 1996.

CARDOSO-UGARTE, G. A.; SOSA-MORALES, M. E.; BALLARD, T.; LICEAGA, A.; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (Beta vulgaris). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 276-282, 2014.

CASTELLAR, R.; OBÓN, J. M.; ALACID, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Color Properties and Stability of Betacyanins from Opuntia Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2772-2776, 2003.

CAZABAT, A. M.; LANGEVIN, D. Diffusion of interacting particles: Light scattering study of microemulsions. **Journal of Chemical Physics**, v. 74, n. 6, p. 3148-3158, 1981.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Rheological properties of gelatin prepared from the swim bladders of freshwater fish Catla catla. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 47-54, 2015.

CHEN, K.; ZHAO, K. Dielectric analysis of the [Bmim][PF6]/TX-100/ethyleneglycol nonaqueous microemulsions: Microstructures and percolation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 461, p. 50-56, 2014.

CHETHANA, S.; NAYAK, C. A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 4, p. 679-687, 2007.

COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G.; DE MATOS JUNIOR, F. E.; DE CARVALHO BALIEIRO, J. C.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 373-379, 2013.

CONSTANTINIDES, P. P.; YIV, S. H. Particle size determination of phase-inverted water-in-oil microemulsions under different dilution and storage conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 115, n. 2, p. 225-234, 1995.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. Microemulsão um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

DAVIS, H. T. Factors determining emulsion type: Hydrophile—lipophile balance and beyond. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 91, p. 9-24, 1994.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology: An International Journal**, v. 23, p. 1361-1394, 2005.

DUCEL, V.; RICHARD, J.; SAULNIER, P.; POPINEAU, Y.; BOURY, F. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. **Colloids and Surfaces A: Physicochem.Eng.Aspects**, v. 232, n. 2-3, p. 239-247, 2004.

EKWALL, P.; MANDELL, L.; SOLYOM, P. The solution phase with reversed micelles in the cetyl trimethylammonium bromide-hexanol-water system. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 35, n. 2, p. 266-272, 1971.

ESCRIBANO, J.; PEDREÑO, M. A.; GARCÍA-CARMONA, F.; MUÑOZ, R. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. **Phytochemical Analysis**, v. 9, n. 3, p. 124-127, 1998.

FANUN, M. Reprint of “Properties of microemulsions with mixed nonionic surfactants and citrus oil”. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 382, n. 1–3, p. 226-231, 2011.

FAO. **Sorbitan monooleate**: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 0: 1-2 p. 2013.

FLANAGAN, J.; SINGH, H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 221-237, 2006.

FLEMMING VANG, S.; NIELS, J. K. Food Emulsifiers. In: (Ed.). **Food Emulsions**: CRC Press, 2003.

GANDÍA-HERRERO, F.; CABANES, J.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F.; JIMÉNEZ-ATIÉNZA, M. Encapsulation of the Most Potent Antioxidant Betalains in Edible Matrixes as Powders of Different Colors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 18, p. 4294-4302, 2013.

GANDÍA-HERRERO, F.; JIMÉNEZ-ATIÉNZA, M.; CABANES, J.; GARCÍA-CARMONA, F.; ESCRIBANO, J. Stabilization of the Bioactive Pigment of *Opuntia* Fruits through Maltodextrin Encapsulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 19, p. 10646-10652, 2010.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; SZYMUSIAK, H.; MALINOWSKA, P. Betanin, the main pigment of red beet: molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. **Food Additives & Contaminants**, v. 23, n. 11, p. 1079-87, 2006.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813-1827, 2011.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Food Science and Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.

GRADZIELSKI, M. Recent developments in the characterisation of microemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 263-269, 2008.

HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. **Food Emulsifiers and Their Applications**. Chapman & Hall. New York: 1997.

HATHOUT, R. M.; WOODMAN, T. J. Applications of NMR in the characterization of pharmaceutical microemulsions. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 1, p. 62-72, 2012.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Impact of Thermal Treatment on Color and Pigment Pattern of Red Beet (*Beta vulgaris* L.) Preparations. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 6, p. C491-C498, 2004.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain Stability and Degradation—Structural and Chromatic Aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. R41-R50, 2006.

HO, H.-O.; HSIAO, C.-C.; SHEU, M.-T. Preparation of microemulsions using polyglycerol fatty acid esters as surfactant for the delivery of protein drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 2, p. 138-143, 1996.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water in oil dispersions: the oleopathie hydromicelle. **Nature**, v. 152, p. 102-105, 1943.

HOLMBERG, K.; JÖNSSON, B.; KRONBERG, B.; LINDMAN, B. Surfactant Micellization. In: (Ed.). **Surfactants and Polymers in Aqueous Solution**: John Wiley & Sons, Ltd, 2003. p.39-66.

IZYDOREZYK, M.; CUI, S. W.; WANG, Q. Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. In: CUI, S. W. (Ed.). **Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties, and Applications**. Taylor & Francis, 2005. cap. 6, p.263-308.

JUNGGERMAN, E. **Cationic Surfactans**. Marcel Dekker. New York: 1970.

KAHLWEIT, M.; STREY, R.; HAASE, D.; KUNIEDA, H.; SCHMELING, T.; FAULHABER, B.; BORKOVEC, M.; EICKE, H. F.; BUSSE, G.; EGGERS, F.; FUNCK, T.; RICHMANN, H.; MAGID, L.; SÖDERMAN, O.; STILBS, P.; WINKLER, J.; DITTRICH, A.; JAHN, W. How to study microemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 118, n. 2, p. 436-453, 1987.

KALE, N. J.; ALLEN, L. V. Studies on microemulsions using Brij 96 as surfactant and glycerin, ethylene glycol and propylene glycol as cosurfactants. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 57, n. 2, p. 87-93, 1989.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains--a new class of dietary cationized antioxidants. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5178-85, 2001.

KAPADIA, G. J.; AZUINE, M. A.; SRIDHAR, R.; OKUDA, Y.; TSURUTA, A.; ICHIISHI, E.; MUKAINAKE, T.; TAKASAKI, M.; KONOSHIMA, T.; NISHINO, H.; TOKUDA, H. Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. **Pharmacological Research**, v. 47, n. 2, p. 141-148, 2003.

KAUSHIK, V.; ROOS, Y. H. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic-sucrose-gelatin systems. **Society of Food Science and Technology**, v. 40, p. 1381-1391, 2007.

KAWAKAMI, K.; YOSHIKAWA, T.; HAYASHI, T.; NISHIHARA, Y.; MASUDA, K. Microemulsion formulation for enhanced absorption of poorly soluble drugs: II. In vivo study. **Journal of Controlled Release**, v. 81, n. 1-2, p. 75-82, 2002.

KRALOVA, I.; SJOBLÖM, J. Surfactants used in food industry: A review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 30, n. 9, p. 1363-1383, 2009.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. S77-S98, 2002.

KRESGE, C. T.; LEONOWICZ, M. E.; ROTH, W. J.; VARTULI, J. C.; BECK, J. S. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. **Nature**, v. 359, n. 6397, p. 710-712, 1992.

KUNDU, K.; PAUL, B. K. Physicochemical investigation of mixed surfactant reverse micelles: Water solubilization and conductometric studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 433, p. 154-165, 2013.

LAGOURETTE, B.; PEYRELASSE, J.; BONED, C.; CLAUSSE, M. Percolative conduction in microemulsion type systems. **Nature**, v. 281, n. 5726, p. 60-62, 1979.

LAGÜES, M.; OBER, R.; TAUPIN, C. Study of structure and electrical conductivity in microemulsions : Evidence for percolation mechanism and phase inversion. **Journal Physique Lettres.**, v. 39, n. 24, p. 487-491, 1978.

LATHI, P. S.; MATTIASSON, B. Green approach for the preparation of biodegradable lubricant base stock from epoxidized vegetable oil. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 69, n. 3-4, p. 207-212, 2007.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 45, p. 89-121, 2000.

LECHNER, J. F.; WANG, L. S.; ROCHA, C. M.; LARUE, B.; HENRY, C.; MCINTYRE, C. M.; RIEDL, K. M.; SCHWARTZ, S. J.; STONER, G. D. Drinking water with red beetroot food color antagonizes esophageal carcinogenesis in N-nitrosomethylbenzylamine-treated rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 733-9, 2010.

LIN, C.-C.; LIN, H. Y.; CHEN, H. C.; YU, M. W.; LEE, M. H. Stability and characterisation of phosfolipid based curcumin encapsulated microemulsions. **Food Chemistry**, v. 116, p. 923-928, 2009.

LOPERA, S. M.; GUZMAN, C.; CATAÑO, C.; GALLARDO, C. Desarrollo y caracterización de micropartículas de ácido fólico formadas por secado por aspersión,

utilizando goma arábica y maltodextrina como ateriales de pared. **Revista Vitae**, v. 16, n. 1, p. 55-65, 2009.

LÓPEZ-QUINTELA, M. A. Synthesis of nanomaterials in microemulsions: formation mechanisms and growth control. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 8, n. 2, p. 137-144, 2003.

LÓPEZ-QUINTELA, M. A.; TOJO, C.; BLANCO, M. C.; GARCÍA RIO, L.; LEIS, J. R. Microemulsion dynamics and reactions in microemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, n. 3–4, p. 264-278, 2004.

LU, X.; WANG, Y.; ZHANG, Z. Radioprotective activity of betalains from red beets in mice exposed to gamma irradiation. **European Journal of Pharmacology**, v. 615, n. 1–3, p. 223-227, 2009.

ŁUCZAK, J.; HUPKA, J. Studies on formation and percolation in ionic liquids/TX-100/water microemulsions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 199, p. 552-558, 2014.

MACKEBEN, S.; MÜLLER, M.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. The influence of water on phase transitions of a drug-loaded reverse micellar solution into lamellar liquid crystals. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 183–185, p. 699-713, 2001.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release- a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1-21, 2006.

MADHI, E. S.; SAKEENA, M. H.; ABDULKARIM, M. F.; ADBDULLAH, G. Z.; SATTAR, M. A.; NOOR, A. M. Effect of surfactant and surfactant blends on pseudoternary

phase diagram behavior of newly synthesized palm kernel oil esters. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 5, p. 311-323, 2011.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê-óleo de soja em frituras descontínuas de batatas chips. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 245-249, 2003.

MALIK, M. A.; WANI, M. Y.; HASHIM, M. A. Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 5, p. 397-417, 2012.

MARTÍNEZ-SANZ, M.; GIDLEY, M. J.; GILBERT, E. P. Application of X-ray and neutron small angle scattering techniques to study the hierarchical structure of plant cell walls: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 120-134, 2015.

MASON, T. G.; WILKING, J. N.; MELESON, K.; CHANG, C. B.; GRAVES, S. M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 18, n. 41, p. R635, 2006.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Third Edition**. CRC Press, 2015.

MENGER, F. M.; PERESYPKIN, A. V.; CARAN, K. L.; APKARIAN, R. P. A sponge morphology in an elementary coacervate. **Langmuir**, v. 16, p. 9113-9116, 2000.

METHA, S. K.; KAUR, G. Thermodynamic and Dynamic Properties. In: TADASHI, M. (Ed.). **Thermodynamics**. China, 2011. cap. 18, p.381-406.

NARANG, A. S.; DELMARRE, D.; GAO, D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 345, n. 1–2, p. 9-25, 2007.

NEKLYUDOV, A. D. Nutritive fibers of animal origin: Collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 229-238, 2003.

NEMZER, B.; PIETRZKOWSKI, Z.; SPORNA, A.; STALICA, P.; THRESHER, W.; MICHALOWSKI, T.; WYBRANIEC, S. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 42-53, 2011.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MATIAS DE ALENCAR, S.; THOMAZINI, M.; DE CAMARGO BALIEIRO, J. C.; CONTRERAS CASTILLO, C. J. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429-435, 2011.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.

OLIVEIRA, A. G. D.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27, p. 131-138, 2004.

OPAWALE, F. O.; BURGESS, D. J. Influence of interfacial properties of lipophilic surfactants on water-in-oil emulsion stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 197, p. 142-150, 1998.

PAUL, B. K.; MOULIK, S. P. Microemulsions: An overview. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 18, n. 4, p. 301-367, 1997.

PITALUA, E.; JIMENEZ, M.; VERNON-CARTER, E. J.; BERISTAIN, C. I. Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 253-258, 2010.

PRAMANIK, R.; SARKAR, S.; GHATAK, C.; RAO, V. G.; SARKAR, N. Ionic Liquid Containing Microemulsions: Probe by Conductance, Dynamic Light Scattering, Diffusion-Ordered Spectroscopy NMR Measurements, and Study of Solvent Relaxation Dynamics. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 10, p. 2322-2330, 2011.

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate and lemon oil. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1413-1423, 2011.

RAVICHANDRAN, K.; PALANIRAJ, R.; SAW, N.; GABR, A. M.; AHMED, A.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2216-2221, 2014.

REINECCIUS, G. A. Flavor manufacturing. Part II. Flavor encapsulation. In: HAEATH, H. B. (Ed.). **Source Book of FLAVORS**. New York, 1994. cap. 11, p.605-625.

REMUNAN-LOPEZ, C.; BODMEIER, R. Effect of formulation and process variables on the formation of chitosan-gelatin coacervates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 135, p. 63-72, 1996.

RISCH, S. J. Review of patents for encapsulation and controlled release of food ingredients. In: RISCH, S. J. REINECCIUS, G. A. (Ed.). **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. Washington, DC, 1995. cap. 18, p.197-203.

RUBINGH, N. **Cationic Surfactants-Physical Chemistry**. Marcel Dekker. New York: 1991.

SAGUY, I. Thermostability of red beet pigments(Betanine and Vulgaxanthin-I): Influence of pH and temperature. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 5, p. 1554-1555, 1979.

SANTOS, A. B.; TRINDADE, F. C. S.; GROSSO, F. C. R. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.

SCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 1-6, 2003.

SCHICK, M. J. **Noionic Surfactants**. Marcel Dekker. New York: 1966.

SCHICK, M. J. **Nonionic Surfactants: Physical Chemistry**. Marcel Dekker. New York: 1987.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 689-753, 1998.

SCHONFELDT, N. **Surface Active Ethylene Oxide Adducts**. Pergamon Press. Oxford: 1970.

SCHULMAN, J. H.; MONTAGNE, J. B. FORMATION OF MICROEMULSIONS BY AMINO ALKYL ALCOHOLS. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 92, n. 2, p. 366-371, 1961.

SERRIS, G. S.; BILIADERIS, C. G. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 8, p. 691-700, 2001.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SOLANS, C.; GARCÍA-CELMA, M. J. Surfactants for microemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 2, n. 5, p. 464-471, 1997.

SONNEVILLE-AUBRUN, O.; SIMONNET, J. T.; L'ALLORET, F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 145-149, 2004.

STRAUSS, G.; GIBSON, S. M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 81-89, 2004.

SURABHI, K.; OP, K.; ATUL, N.; ARUN, G. Microemulsions: developmental aspects. **Research Journal Pharmaceutical Biological Chemical Science** v. 1, p. 683-706, 2010.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 303-318, 2004.

TADROS, T. F. **Applied Surfactants: Principles and Applications**. Weinheim: Wiley, 2005.

TAN, T. T. Y.; LIU, S.; ZHANG, Y.; HAN, M.-Y.; SELVAN, S. T. Microemulsion preparative methods (Overview). **Comprehensive Nanoscience and Technology**, v. 5, p. 399-441, 2011.

THIES, C. Complex coacervation. In: THIES, C. (Ed.). **How to make microcapsules:lecture and laboratory manual**. Sant Louis, 1995. cap. 5, p.1-43.

TOLSTOGUZOV, V. B. Functional properties of food proteins and role protein-polysaccharide interaction. **Food Hydrocolloids**, v. 4, n. 6, p. 429-468, 1991.

TONON, R.; GROSSO, C.; HUBINGER, D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282-289, 2011.

USHIKUBO, F. Y.; CUNHA, R. L. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 34, p. 145-153, 2014.

VAN BOMMEL, A.; MACISAAC, G.; LIVINGSTONE, N.; PALEPU, R. Dynamics of percolation and energetics of clustering of water/AOT/isooctane microemulsions in the

presence of propylene glycol and its oligomers. **Fluid Phase Equilibria**, v. 237, n. 1–2, p. 59-67, 2005.

VAN OSS, C. J. A review of “ Intermolecular and Surface Forces, second edition. Jacob N. Israelachvili. Academic Press, London, 1991. Pp. xxi + 450; hardbound, \$49.95. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 13, n. 6, p. 718-719, 1992.

VANDERGAER, J. E. **Microencapsulation:process and applications**. Plenum Press. Chicago: 1973.

WALSTRA, P. Sistemas dispersos: consideraciones basicas. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Quimica de los Alimentos**. Acribia, 2005. cap. 3, p.112-181.

WANG, A.; CHEN, L.; JIANG, D.; YAN, Z. Phase Behavior of Vegetable Oil-Based Ionic Liquid Microemulsions. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 59, n. 3, p. 666-671, 2014.

WANG, Y.; KIMURA, K.; DUBIN, P. L. Polyelectrolyte-Micelle coacervation:Effect of micelle surface charge density,polymer molecular weight, and polymer/surfactant ratio. **Macromolecules**, v. 33, p. 3324-3331, 2000.

WANG, Y.; KIMURA, K.; HUANG, Q.; DUBIN, P. L. Effects of salt on polyelectrolyte-micelle coacervation. **Macromolecules**, v. 32, p. 7128-7134, 1999.

WEI, J.; SU, B.; XING, H.; BAO, Z.; YANG, Y.; REN, Q. Effect of ionic liquids on temperature-induced percolation behavior of AOT microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 396, p. 213-218, 2012.

WILSON, R.; SCHIE, B. J. V.; HOWES, D. Overview of the preparation, use and biological studies on Polyglycerol Polyricinoleate(PGPR). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 711-718, 1998.

WINSOR, P. A. Hydrotropy, solubilisation and related emulsification processes. **Transactions of the Faraday Society**, v. 44, n. 0, p. 376-398, 1948.

_____. Hydrotropy, solubilization and related emulsification processes. Part IX.-The electrical conductivity and the water dispersibility of some solubilized systems. **Transactions of the Faraday Society**, v. 46, n. 0, p. 762-772, 1950.

ZHANG, X.; CHEN, Y.; LIU, J.; ZHAO, C.; ZHANG, H. Investigation on the Structure of Water/AOT/IPM/Alcohols Reverse Micelles by Conductivity, Dynamic Light Scattering, and Small Angle X-ray Scattering. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 12, p. 3723-3734, 2012.

CAPÍTULO 2:
Microemulsão de grau alimentar a
base de Tween 80+Span
80+propileno glicol/óleo de
soja/água: propriedades elétricas,
térmicas e reológicas

Trabalho submetido à revista Food Biophysics

Food-grade microemulsion based on Tween 80+Span 80+propylene glycol/soybean oil/water: electrical conductivity, thermal and rheological properties

Cano-Higuita, D. M.^{1*}; Oliveira, C. L. P.²; Oseliero Filho, P. L.²; Telis, V. R. N.¹

¹ Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, IBILCE/UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2265, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

² Instituto de Física, Universidade de São Paulo, USP, Rua do Matão Travessa R, 187, CEP: 05508-090, São Paulo, SP, Brasil.

* Corresponding author: Cano-Higuita, D. M. Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, IBILCE/UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2265, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil. Phone: +55 (98) 981466693, e-mail: dianacanohiguita@gmail.com.

ABSTRACT

Microemulsions (MEs) are isotropic and thermodynamically stable mixtures of two immiscible solvents stabilized by surfactants, with multiple applications in chemical, pharmaceutical and foodstuff industries. The aim of this work was the evaluation of two food-grade surfactants - sorbitan monooleate (Span 80) and polysorbate 80 (Tween 80) - in the formation of MEs with addition of propylene glycol as cosurfactant and the characterization of the resulting system. The study has prioritized the isotropic phase formed by MEs, whose properties have been investigated by electrical conductivity, rheology, differential scanning calorimetry and specific heat. Seven detected systems were identified as MEs along the surfactant to oil ratios 9:1 and 8:2 dilution lines, up to 20 % water. Calorimetric analyzes allowed identification of different states of water and resulted in about 99 % of non-freezable water. All the systems showed Newtonian behavior that is typical of microemulsified systems.

Keywords: electrical conductivity, microemulsions, rheology, specific heat, ternary phase diagram.

2.1 INTRODUCTION

Microemulsions (MEs) are ternary systems consisting of water and oil liquid phases stabilized by amphiphilic molecules, forming optically isotropic, clear and thermodynamically stable liquid dispersions, with nearly uniform spherical droplets having diameters between 8 to 80 nm and not requiring high inputs of energy or shear conditions for their formation (HOAR; SCHULMAN, 1943; DANIELSSON; LINDMAN, 1981).

Similarly to other colloidal dispersions, ME formation is strongly dependent on the type and concentration of surfactant (WINSOR, 1948), being that oil-in-water (O/W) and water-in-oil (W/O) systems are usually used to encapsulate lipophilic or hydrophilic components in the food, pharmaceutical and chemical industries (MCCLEMENTS, 2012). As a liquid encapsulation system, MEs cannot only solubilize hydrophobic and hydrophilic compounds, but are even able to protect these components from unwanted degradation (XU et al., 2016). Nevertheless, in the food industry the use of MEs is restricted because the common used long-chain triglycerides, such as soybean oil, are not suitable for solubilizing food grade surfactants. Thus, the choice of suitable surfactants for the formation of food grade O/W or W/O MEs is very limited (GARTI et al., 2001).

The polyoxyethylene sorbitan esters (Tweens) and the sorbitan fatty acid esters (Spans) are probably the most widely used, commercially inexpensive, and readily available food grade surfactants (CAVALLI et al., 1996; BUMAJDAD; EASTOE, 2004). These surfactants have bulky polyoxyethylene head groups attached to a sorbitan ring, which increases the hydrophilicity of the sorbitan fatty esters. However, surprisingly only few examples of MEs using these products have been reported in the literature (GARTI et al., 2001; YAGHMUR, ANAN et al., 2002; RAO; MCCLEMENTS, 2012). At present, there is relatively poor information about the formation characteristics of MEs and its ability to form stable colloidal dispersions suitable for application in food products.

Several techniques have been used to characterize the microemulsions such as chemical, electrical conductivity, rheological analysis, small-angle X-ray scattering (SAXS) and differential scanning calorimetry (DSC), which provide usefully information on the type of system obtained, if O/W or W/O, and their configuration structure, particle size, physical and thermal properties (SPERNATH et al., 2006; PERLSTEIN et al., 2015; ROOHINEJAD et al., 2015; CHIAPPISI et al., 2016). From these methods, DSC helps to determine the different states of water and its interaction with the substrate in a MEs system. According to Spernath et al. (2006), it is possible to identify three states of the water: free water which melts around 0 °C, interfacial water that is the water in the dispersed system interface (melts at about -10 °C), and bound water, which is associated with the hydrophilic groups (melting below -10 °C). Taking into account the initial amount of water added to the system and the mass fractions corresponding to each one of the possible water states, it is possible to calculate the non-freezable water. Chemical and electrical conductivity analysis determines the formation characteristics of the MEs from qualitative and quantitative aspects, respectively (FANUN, 2010). Furthermore, rheological methods indicate the behavior of the microemulsion and the viscosity as a function of the shear rate, water content, and temperature (ABDEL-RAHEM et al., 2014).

Based on these arguments, the present work aims to characterize food grade MEs using soybean oil, water, sorbitan monooleate (Span 80) and polysorbate 80 (Tween 80) as surfactants, associated to propylene glycol as cosurfactant, contributing to the knowledge about MEs formation and characterization.

2.2 MATERIAL AND METHODS

2.2.1 Raw materials

The MEs were prepared using soybean oil from Cargill (Barreiras, Brazil), sorbitan monooleate (Span 80) with hydrophilic-lipophilic balance (HLB) of 4.3 and polysorbate 80 (Tween 80) with HLB of 15 from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil), propylene glycol (PG) with purity of 99.5 % from Synth (Diadema, Brazil), and water purified by Milli-Q 3 system (Millipore, Milford, USA).

2.2.2 Phase diagram construction

In order to construct the ternary phase diagram, different systems were prepared and mixed to result in surfactant to oil ratios of 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, and 9:1 (w/w), respectively. The surfactant portion of these systems was previously prepared at a ratio 8:1 (Tween 80:Span 80) resulting in a HLB value of 13.8, which in turn was mixed with cosurfactant PG at a ratio 9:1 (surfactant:cosurfactant). In the sequence, the surfactant: oil systems were titrated under manual stirring at 25 °C with purified water at volume increments of 5 – 10 % (w/w), along dilution lines ranging from 5 to 90 % of water (SASIVIMOLPHAN et al., 2012). Preliminary tests showed that the order of addition and mixing of surfactant, cosurfactant, oil, and water did not affect the formation of MEs.

2.2.3. Characterization by chemical diffusion

The type of MEs, if O/W or W/O, were investigated according to the method described by Roohinejad et al. (2015) with modifications. The hydrophilic dye methylene blue or the lipophilic dye curcumin were added, in equal amounts, on two samples of MEs in order to evaluate the diffusion rates of the dyes. The rapid diffusion of methylene blue indicates O/W MEs, whereas the rapid diffusion of curcumin indicates W/O MEs.

2.2.4. Characterization by electrical conductivity

Conductivity measurements were carried out for MEs samples using an electrical conductivity meter (Compact Seven 230, Mettler Toledo, Switzerland), coupled to a conductivity cell (InLab 720, Mettler Toledo, Switzerland) with conductivity constant of 0.06. Calibration of the conductivity meter was carried out at 0.05 $\mu\text{S}/\text{cm}$, in the nonlinear mode for temperature. The electrode was dipped into the MEs samples until equilibrium had been reached and the reading became stable. The samples were thermo-stabilized at 25 °C (ROOHINEJAD et al., 2015).

2.2.5. Thermal characterization

2.2.5.1 Determination of free, interfacial, bound, and unfreezable water contents

The measurements were carried out using a DSC device (DSC 8000, PerkinElmer, USA) equipped with IntraCooler III. The calorimeter was previously calibrated with indium (m.p. 156.6 °C, $\Delta H_f = 28.45$ kJ/kg) at heating rate of 30 °C/min. Nitrogen (99.5 % purity) was the purge gas and flowed at ~20 mL/min. About 0.5 mg of each MEs sample was weighed and sealed in an aluminum pan (ref. 0219-0062, Perkin Elmer, USA) and placed in the measuring chamber using an empty pan as reference. The defined temperature program consisted of an isotherm at -65 °C for 2 min, followed by heating from -65 °C to 50 °C at a rate of 35 °C/min (ASTM-E1356, 2014).

The enthalpy change associated to thermal transitions was obtained by integration of the area corresponding to each peak in the thermogram. The peaks representing different states of water were analyzed according to Senatra et al. (1991). The interfacial water content was calculated according to:

$$W_i = \left(\frac{\Delta H_i(\text{exp})}{\Delta H_i} \right) \times 100 \quad W_i, \text{ where } i=I; B \quad (2.1)$$

in which W_I is the interfacial water content (percentage of mass), $\Delta H_I(\text{exp})$ is the contribution of the enthalpy measurement of interfacial water for the endothermic peak (~ -10 °C) (kJ/kg), and ΔH_I is the heat of fusion of interfacial water, given as $\Delta H_I = 312.28$ kJ/kg (SENATRA et al., 1991). The same equation was used to calculate the mass percentage of bound water (W_B). Similarly, the concentration of free water was calculated by:

$$W_F = \left(\frac{\Delta H_F(\text{exp})}{\Delta H_F^0} \right) \times 100 \quad (2.2)$$

in which W_F is the free water content (percentage of mass), $\Delta H_F(\text{exp})$ is experimental heat of fusion (kJ/kg); ΔH_F^0 is the heat of fusion of pure water measured under the same experimental conditions ($\Delta H_F^0 = 323.50$ kJ/kg). The amount of "unfreezable" water (W_{NF}) (percentage of mass) was calculated using the mass balance:

$$W_{NF} = W_T - (W_I + W_B + W_F) \quad (2.3)$$

in which W_T is the total mass of water (percentage of mass) (YAGHMUR, A. et al., 2002).

2.2.5.2 Determination of the specific heat

The specific heat capacity of the MEs was measured using a DSC device (DSC 8000, Perkin Elmer, USA). Indium was used in calibration at the heating rate of 5 °C/min. Nitrogen (99.5 % purity) was the purge gas and flowed at ~20 mL/min. Aluminum pans weighing 24.01 ± 0.04 mg (ref. 0219-0062, Perkin Elmer, USA) were used to determine the baseline and also as holder for the reference material and MEs samples. Samples were sealed and weighed before and after experimental procedures. Baseline, reference material and samples were subjected to the StepScan method, following the temperature program: isotherm at 2 °C for 1 min, heating to 4 °C at 2 °C/min rate, with 30 steps to reach 60 °C (MERZLYAKOV; SCHICK, 2001; CASSEL; PACKER, 2014). The software PYRIS 11.0 (Perkin Elmer, Shelton, USA) program was used to analyze and plot the thermal data. The specific heat capacity of the MEs was calculated using Eq. (2.4):

$$\frac{dq}{dt} = c_p \cdot \beta + \frac{dq}{dt}(T, t) \quad (2.4)$$

in which dq/dt is the total heat flow (mW); c_p is the specific heat (kJ/kg °C); β is the scan rate in StepScan method and, $dq/dt(T, t)$ is the heat flow from a kinetic process (mW).

2.2.6 Rheological characterization

The flow curves of the MEs were determined at temperatures between 25 and 60 °C in a shear rate range of 1 to 300 s⁻¹ using a rheometer (model AR2000ex, TA Instruments, New Castle, USA) with a cone and plate geometry. All rheological measurements were carried out on freshly prepared samples and the data were analyzed with the software that supports the rheometer (ABDEL-RAHEM et al., 2014). The Newton model (Eq. 2.5) was employed to describe the flow curves:

$$\sigma = \mu \dot{\gamma} \quad (2.5)$$

in which σ is the shear stress (Pa); $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s^{-1}), and μ is the viscosity (Pa.s).

2.2.7 Statistical analysis

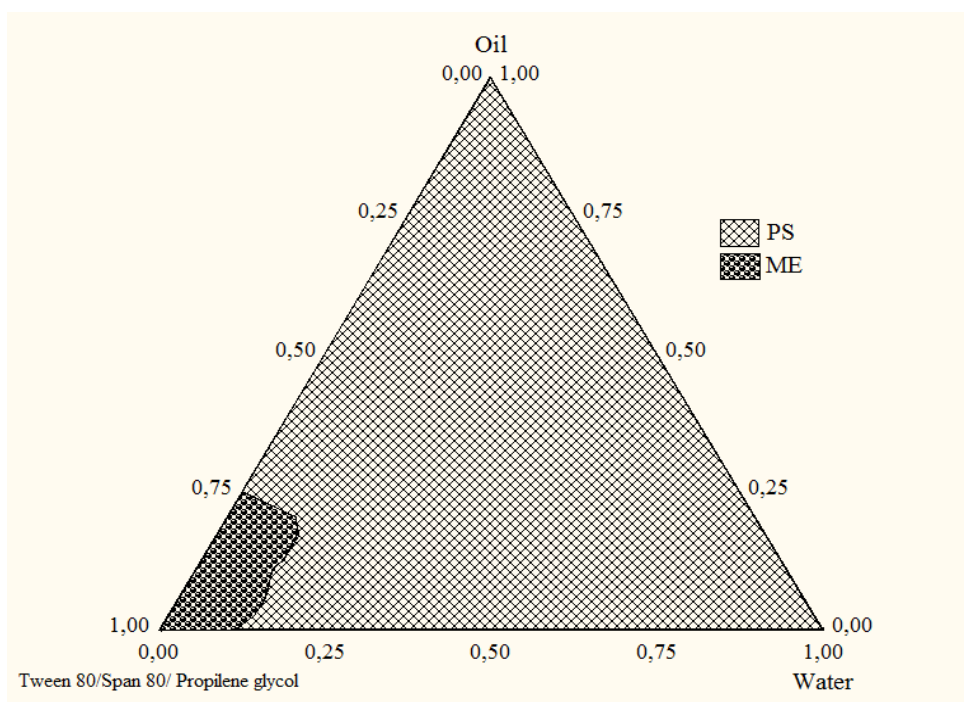
All values were expressed as the mean $\pm$ standard deviation. Significant differences among mean values were determined by Tukey's test significance defined at $p < 0.05$. All assays were measured in triplicate. Statistical analysis and simulations were carried out using Matlab R2013b (MathWorks, Natick, USA).

2.3 RESULTS AND DISCUSSION

2.3.1 Pseudo-ternary phase diagram

Figure 2.1 shows the pseudo-ternary phase diagram obtained experimentally for the system Tween80 + Span80 + PG/soybean oil/water. Mixture compositions suitable to microemulsion formation were defined when the mixture attained equilibrium and resulted in a liquid with clear and translucent color characteristics. From all the tested concentrations, only the mixtures containing surfactant:oil ratios equal to 9:1 and 8:2, with water content up to 15 % and 20 % respectively, showed MEs characteristics. Mixtures composed of different surfactant:oil ratios were opaque and unstable, presenting phase separation.

Figure 2.1 – Pseudo-ternary phase diagram of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil/water system. PS: Phase separation; ME: Microemulsion.



As can be observed in Fig. 2.1, the MEs area is small and positioned in the region of high concentration of surfactant and low concentrations of soybean oil and water. Similar results were obtained for food grade microemulsions from mixtures of canola oil/lecithin+n-propanol/water (ABBASI; RADI, 2016), ethyl butyrate/Tween 80+PG 400/water (DONG et al., 2016), flavour citrus oil/sucrose laurate+lecithin+PG/water (TCHAKALOVA et al., 2014) and glycerol monolaurate/Tween 60/water (ZHANG et al., 2008), being that all of these cases presented MEs areas at high concentrations of surfactant. The use of cosurfactant played an important role in the reported investigations, since it may influence the balance between hydrophilic and hydrophobic groups of the system. It may also prevent surfactant precipitation and rigid structures formation, such as gels or liquid crystal phases, as well as can increase the flexibility of the interface and the fluidity of the system (FLANAGAN et al., 2006; ZHANG et al., 2008; FENG et al., 2009). According to Zhang et al. (2008), the cosurfactant used in the present work, propylene glycol, is the simple polyol that presents one of the lowest hydrophilicity, despite being soluble in water but practically insoluble in the oil phase. In their

work, addition of PG was considered to decrease the polarity of water and to increase the isotropic monophasic area, avoiding formation of a liquid crystal phase.

On the other hand, the presence of PG also have affected the mass of water that could be solubilized in the MEs, as well as the type of system formed (W/O or O/W). Martino, Schick and Kaler (1990) compared the MEs formation using propylene glycol and/or glycerol and observed that when using PG, the nonionic surfactant was more soluble in the polar phase than in oil and a water-rich microemulsion phase was observed.

The high concentration of surfactant needed to form the MEs is of the same order that observed by Flanagan et al. (2006), who studied W/O microemulsions based on soybean oil and stabilized by ethoxylated mono- and diglycerides. These authors pointed out that long-chain fatty acid triglycerides, such as soybean oil, are too bulky to penetrate the interfacial film and to assist in the formation of an optimal curvature. Paul and Mitra (2005) explained that the growth of microemulsion droplets during the solubilization process and the possible phase separation is limited by two opposing factors: the radius of spontaneous curvature (R_0) and the critical radius of droplets (R_c), which is related to the attractive interaction among the droplets. For hydrocarbon oils with high molar volume (greater than $150 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$), which is the case of soybean oil, the interdroplet interaction plays the governing role in solubilization phenomenon, with a decrease in solubilization in microemulsion with further increase in oil chain length.

2.3.2 Chemical characterization

The MEs obtained at different ratios of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil/water were tested qualitatively through chemical diffusion of methylene blue and curcumin. The methylene blue, a dye soluble in water, diffused faster than curcumin, suggesting that the MEs were of type O/W (GUO et al., 2016). Nevertheless, it is important to note that the surfactants and cosurfactant are the major constituents of the mixtures, with water and oil present in small amounts (Table 2.1), which could have affected the diffusion behavior of the tested dyes.

2.3.3 Electrical conductivity

Table 2.1 shows the electrical conductivity values for the MEs with surfactant to oil ratios of 9:1 and 8:2. Both systems presented relatively low conductivity values when compared to O/W microemulsions (FASOLIN et al., 2012; ZHANG et al., 2013). Nevertheless, in view of the results of the dye diffusion assay indicating a O/W system, the low conductivity values could be explained considering the high amounts of nonionic surfactants present in the MEs, in addition to the presence of propylene glycol that can interact with water and decrease the polarity of the aqueous phase (ZHANG et al., 2008). For the samples with surfactant:oil ratio of 9:1 the electrical conductivity values firstly decreased from 2.080 $\mu\text{S}/\text{cm}$ at 5 % of water to 1.612 $\mu\text{S}/\text{cm}$ for 10 % water, and then increased to 1.751 $\mu\text{S}/\text{cm}$ for 15 % water. On the other hand, for the surfactant:oil ratio 8:2, the electrical conductivity increased following a second-order polynomial from 0.429 $\mu\text{S}/\text{cm}$ to 4.730 $\mu\text{S}/\text{cm}$ when water content increased from 5 to 20 %. The different behavior observed for systems 9:1 and 8:2 suggests that they might have different microstructures, and these could be related to the different balance between propylene glycol and water present in the samples (Table 2.1).

According to Tadros (2005), the variation of conductivity with the volume fraction of water is due to slight changes in the system. The initial increase in conductivity with increasing water fraction could be attributed to improved solubilizing surfactant with added water. The sharp increase in conductivity would be associated with a path enabled to transport ions, such as the formation of non-spherical droplets resulting from grouping swollen micelles and subsequent interconnection of the aggregates. In addition, Ezrahi, Aserin, & Garti, (1998) pointed out that at high surfactant concentration such as those used in the present work, the interaggregation between surfactant molecules would prevent formation of regular reverse micelles. These authors considered the continuously increasing values of conductivity and self-diffusion coefficients with increasing water content, observed in a non-ionic microemulsion at small water content (lower than 15 %), as an indication of a microstructure in which the mobility of water was obstructed, although this obstruction would be gradually released. They hypothesized that this microstructure would consist of ill-defined hydrated surfactant aggregates, which could be precursors of a short range lamellar structure found at higher water contents.

Table 2.1. Electrical conductivity, at 25 °C and viscosity values at 25 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C and 60 °C for Tween 80+Span 80+PG/soybean oil/water MEs at the surfactant to oil ratios 9:1 and 8:2 with water contents between 5 and 20 %.

Ratio	System composition (% w/w)					Conductivity at 25 °C ($\mu\text{S}/\text{cm}$)*	μ (Pa.s)				
	Tween 80	Span 80	Propylene glycol	Soybean oil	Water		25 °C	30 °C	40 °C	50 °C	60 °C
9:1	68.40	8.55	8.55	9.50	5.00	2.080 ± 0.004^a	477	321	193	114	84
	64.80	8.10	8.10	9.00	10.00	1.612 ± 0.000^c	486	336	197	113	78
	61.20	7.65	7.65	8.50	15.00	1.751 ± 0.004^b	581	397	242	146	108
8:2	60.80	7.60	7.60	19.00	5.00	0.429 ± 0.001^d	488	323	202	137	78
	57.60	7.20	7.20	18.00	10.00	1.224 ± 0.009^c	542	387	231	156	90
	54.40	6.80	6.80	17.00	15.00	2.740 ± 0.007^b	670	481	251	155	90
	51.20	6.40	6.40	16.00	20.00	4.730 ± 0.015^a	883	605	247	161	83

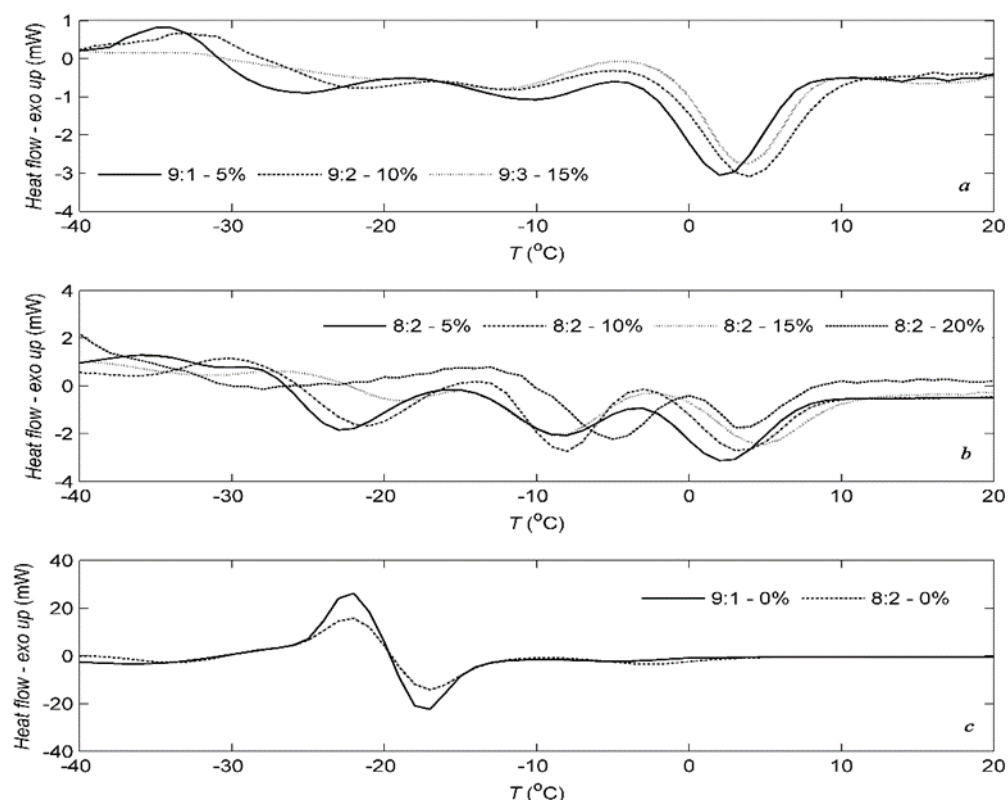
*Mean values $\pm$ standard error (n = 4). Different letters in the same column indicate significant differences at $p < 0.05$.

2.3.4 Thermal results

2.3.4.1 Free, interfacial, bound, and unfreezable water contents

The thermal behavior of the MEs was investigated by differential scanning calorimetry (DSC). The thermograms corresponding to MEs obtained along the dilution lines 9:1 and 8:2 were affected by addition of water and revealed three distinct thermal events (Figures 2.2a, b), whereas in the absence of water the system composed only of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil at surfactant:oil ratios of 9:1 and 8:2 showed a different behavior (Figure 2.2c). In the absence of water, Figure 2.2c shows exothermal transitions at $T < -20^{\circ}\text{C}$ followed by endothermal peaks. In addition, exothermal transitions can be observed for systems containing 5 % and 10 % water in Figs. 2.2a and b, at $T < -30^{\circ}\text{C}$, which are probably related to the reorganization of the oil-surfactant blend in presence of water.

Figure 2.2 – Thermograms of the MEs at the at surfactant to oil ratio of 9:1 (a), and 8:2 (b), with water contents of 5 to 20 %, and mixtures of Tween 80+Span 80+PG/soybean oil without water (c).



The introduction of small amounts of water in the surfactant mixture causes the formation of weak complexes; therefore, key events appear at lower temperatures, while the exothermic peaks appear when the mixture diluted with water is not entirely stable (ZHANG et al., 2013). These exothermic peaks vanish at water contents higher than 10 %, and the values of enthalpy observed at endothermic events decreased with increasing water content, following the same trend reported for MEs based on phospholipid U-type (SPERNATH et al., 2006).

Following the classification proposed by Senatra et al. (1991) and using Eqs. (2.1) to (2.3) (YAGHMUR. et al., 2002), the values found for enthalpy of fusion at the different temperatures were used to calculate the mass fraction of water corresponding to bound, interfacial, free, and non-freezable water (Table 2.2).

Only small percentages of interfacial (max. 4 %), bound (max. 1.6 %), and free water (max. 1.89 %) were identified, resulting in non-freezable water contents around of 99.5 %. In addition to the high amounts of surfactants in the MEs, which bound water in their head groups, this high fraction of non-freezable water could be also a result of the strong binding of water/propylene glycol molecules, as reported by Zhang et al. (2013) when studying the thermal behavior of mixtures of these compounds. These authors observed non-freezable water fraction of about 80 % when adding 30 % PG to water. As shown in Table 2.1, all the MEs produced in the present work presented PG:water ratios higher than 30 %.

Table 2.2. Thermal behavior of MEs and mass fractions of free water, interfacial water, bound water and non-freezable water at the surfactant to oil ratios 9:1 and 8:2, at different water contents measured by DSC.

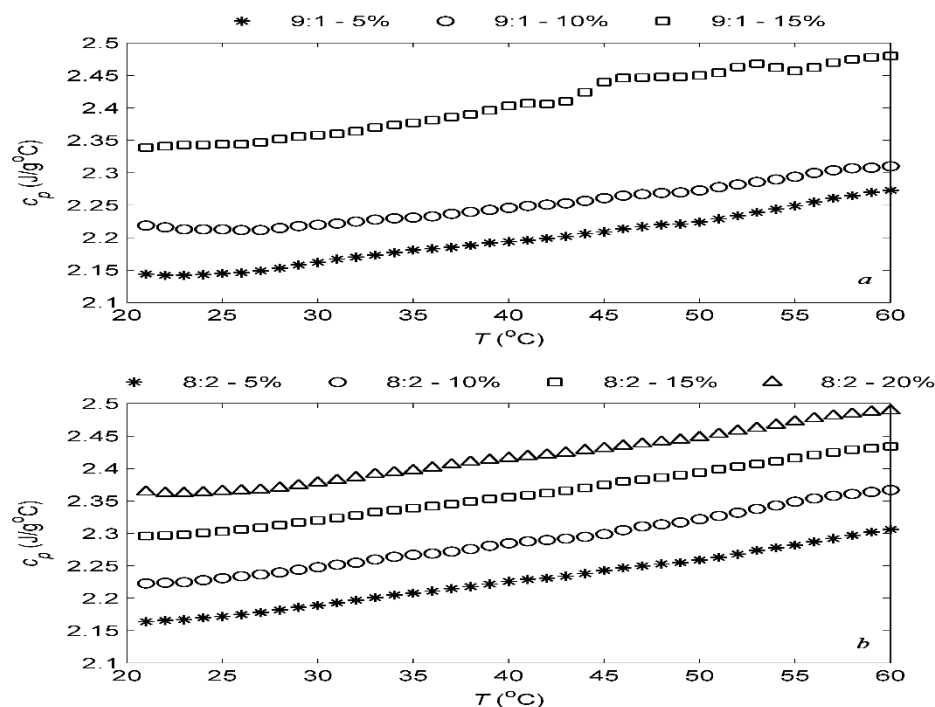
Thermal property	Surfactant:oil ratio 9:1 Water content (%)			Surfactant:oil ratio 8:2 Water content (%)			
	5	10	15	5	10	15	20
ΔH_f (J/g) Event Peak (°C)*	0.128±0.000 -33.67	0.027±0.000 -32.84	0.011±0.000 -32.58	0.189±0.000 -28.93	0.217±0.000 -28.94	0.111±0.000 -38.01	0.117±0.000 -38.01
	0.778±0.001 -18.21	0.016±0.000 -16.56	0.017±0.000 -15.16	0.283±0.000 -13.44	0.289±0.000 -13.45	0.061±0.000 -19.08	0.028±0.001 -19.21
	0.206±0.001 -3.55	0.183±0.001 -3.75	0.256±0.001 -2.61	0.250±0.000 -3.04	0.261±0.000 -3.05	0.139±0.000 -1.55	0.150±0.000 -1.55
	0.305±0.001 1.89	0.266±0.001 4.00	0.183±0.001 3.95	0.247±0.000 2.37	0.191±0.000 3.82	0.175±0.000 4.41	0.161±0.000 4.26
Bound water %(w/w)	0.066	0.059	0.082	0.080	0.084	0.044	0.048
Interfacial water %(w/w)	0.249	0.005	0.005	0.091	0.092	0.020	0.009
Free water %(w/w)	0.094	0.082	0.057	0.076	0.059	0.054	0.050
Non-freezable water %(w/w)	4.591	9.853	14.856	4.753	9.764	14.882	19.893

*Enthalpy fusion values at the corresponding peak even

2.3.4.2 Specific heat of the MEs

The variation of specific heat capacity with temperature of the MEs with surfactant:oil ratio of 9:1 along the dilution lines (5, 10 and 15%) and 8:2 along the dilution lines (5, 10, 15, and 20 % of water) is shown in Figure 2.3. For both surfactant: oil ratios, the specific heat (c_p , J/g·°C) increased with increasing temperature in the range of 21 °C to 60 °C. Furthermore, an increase in c_p with increasing water content for both surfactant:oil ratios was observed. The constantly increasing values of c_p indicated the absence of temperature transitions corresponding to phase inversion between W/O to O/W, and other possible structural changes in the systems, showing the thermal stability of the MEs in the temperature range studied. Similar thermal stability were obtained for MEs based on water/surfactant/halogenated and water/sodium dodecylsulfate–triethanolamine–1-pentanol/1,1,2,2-tetrafluorodibromoethane (BATOV et al., 2012; 2015).

Figure 2.3 – Specific heat capacity of the MEs at surfactant to oil ratio of 9:1 (a) and 8:2 (b) as a function of the temperature and water content.

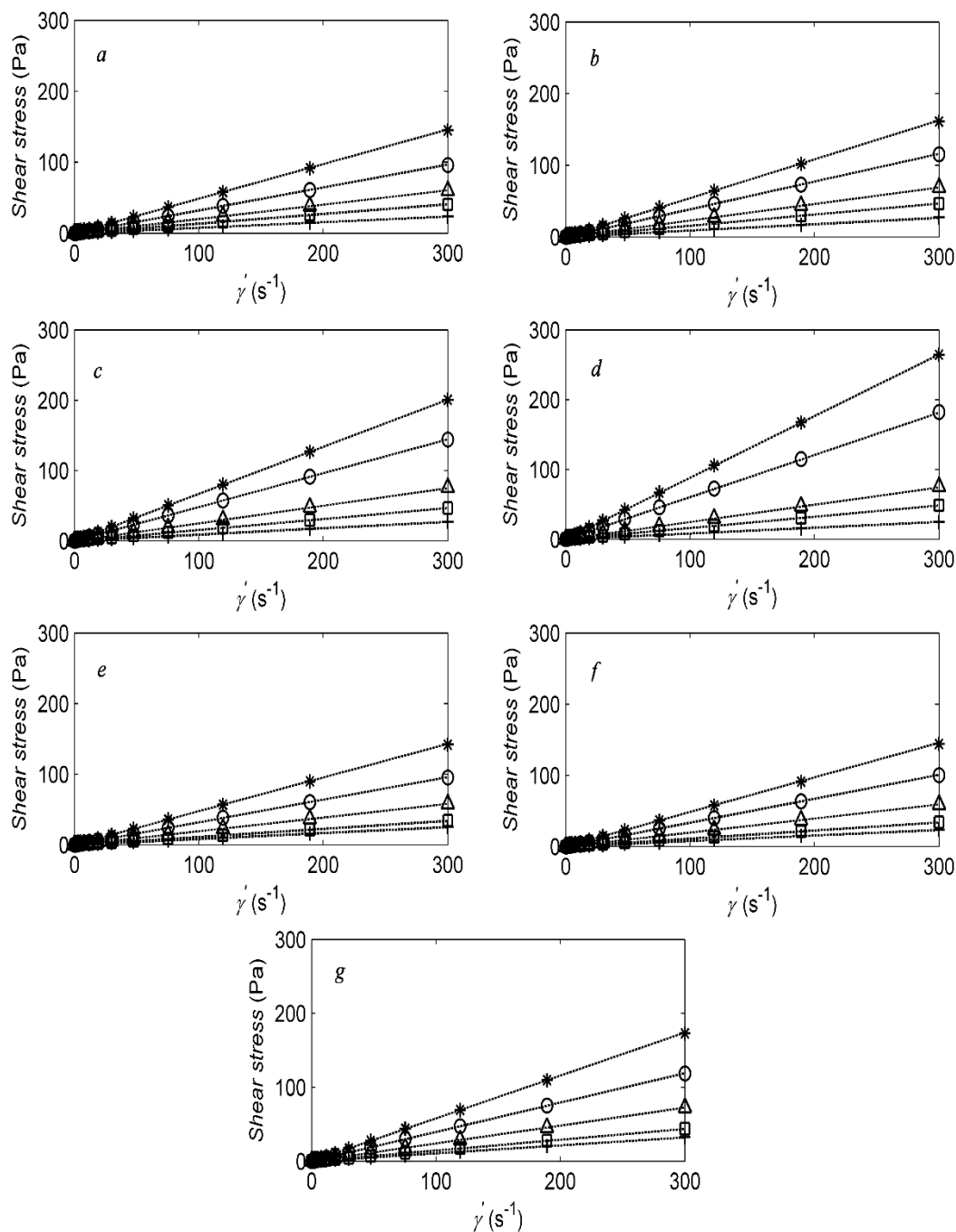


2.3.5 Rheological characterization

A rheological study of the MEs with surfactant:oil ratios of 9:1 and 8:2 (at water contents of 5, 10, 15 and 20 %) at temperatures of 25, 30, 40, 50, and 60 °C were determined experimentally. The flow curves (shear stress vs. shear rate) is shown in Figure 2.4. All the flow curves showed Newtonian behavior (equation 5 was fitted by regression analysis and showed coefficients of determination higher than 0.998).

This behavior is characteristic of MEs at thermodynamic equilibrium, in which the viscosity is a parameter depending only on the system structure, but not varying with the applied deformation rate (GARTI et al., 2006). In addition, it is possible to conclude that temperature variation in the range of 25 °C to 60 °C did not affect the state of the MEs, since the flow curves obtained at different temperatures showed the same Newtonian behavior, confirming the results of specific heat capacity, in which there were no apparent structural transitions. As a general trend, the viscosity of MEs at the surfactant:oil ratios of 9:1 and 8:2 increased with increasing water content and decreased with increasing temperature (Table 2.1). Nevertheless, at the same temperature and water contents, the MEs containing surfactant:oil ratio of 8:2 showed higher viscosities than systems 9:1.

Figure 2.4 – Experimental rheograms of the MEs at surfactant to oil ratio of 8:2 at different water contents, 5 % (a), 10 % (b), 15 % (c), 20% (d) and ratio of 9:1 at different water contents, 5 % (e), 10 % (f), 15 % (g), temperatures of 25 °C (*), 30 °C (○), 40 °C (△), 50 °C (□) and 60 °C (+). Lines indicate the results calculated by the Newton model.



When dealing with W/O MEs, the increase in viscosity with increasing water content is generally explained by the increase in the volume fraction of the reverse micelles (dispersed phase) that favors the contact and friction between micelles during flow (POLIZELLI et al., 2006). On the other hand, in the present work the dye diffusion assays (item 2.3.2) revealed a faster diffusion rate for the water-soluble methylene blue than for the oil-soluble curcumin, suggesting that the MEs were of type O/W. This apparent contradiction may be discussed under the considerations made by Ezrahi et al. (1997). These authors stated that the high surfactant concentration in the water poor region (in the range of 0 to 25 % water) interferes with the elucidation of the microstructure in a four-component nonionic microemulsion. The low electrical conductivity and the absence/small amounts of free water detected by DSC indicate restricted water mobility, whereas geometrical considerations eliminate the possibility of reverse micelles. Regarding the viscosity of these systems, Ezrahi et al. (1998) detected an increase in this property with increasing water contents up to 20 % water and hypothesized that the system was characterized by a local lamellar microstructure. According to these authors, since water is the component with the lower viscosity in the system, an O/W structure would present a decrease in viscosity with increasing water content.

The higher viscosities presented by the systems with surfactant to oil ratio of 8:2 when compared to system 9:1 at the same water content and temperature could be attributed to the decreased volume available to water accommodation in the system containing a higher fraction of oil, since water interacts strongly with surfactant and cosurfactant, but not with the oil. In addition, the viscosity decrease with increasing temperature is probably due to a higher mobility of surfactant molecules, since these are the major constituents of the studied MEs.

2.4 CONCLUSIONS

The system Tween 80+Span 80+propylene glycol/soybean/water was able to form stable and translucent microemulsions at the surfactant:oil ratios of 9:1 and 8:2 in the low

water content domain (up to 20 % water). Higher water contents led to phase separation. The resultant microemulsions contained a high amount of surfactant and cosurfactant (propylene glycol) and it was not possible to clearly distinguish between W/O or O/W microstructure. In spite of the faster diffusion rate observed for the water-soluble methylene blue in comparison to the oil-soluble curcumin dye, suggesting that the MEs were of type O/W, the results for electrical conductivity and rheological behavior could be taken as belonging to W/O arrangement. The whole set of results confirms the challenging task of elucidating the microstructure in a four-component nonionic microemulsion.

2.5 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for the financial support (Grants 2013/14371-0, 2014/02910-7). PLOF is supported by CAPES and INCT-FCx. CLPO is supported by FAPESP, CAPES and INCT-FCx.

2.6 REFERENCES

ABBASI, S.; RADI, M. Food grade microemulsion systems: Canola oil/lecithin:n-propanol/water. **Food Chemistry**, v. 194, p. 972-979, 2016.

ABDEL-RAHEM, R. A.; REGER, M.; HLOUCHA, M.; HOFFMANN, H. Rheology of Aqueous Solutions Containing SLES, CAPB, and Microemulsion: Influence of Cosurfactant and Salt. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 64-75, 2014.

ASTM-E1356. **Standard Test Method for Assignment of the Glass Transition Temperatures by Differential Scanning Calorimetry**. West Conshohocken: ASTM International 2014.

BATOV, D. V.; KARTSEV, V. N.; SHTYKOV, S. N. Preparation, heat capacity, and combustion characteristics of water-surfactant-halogenated hydrocarbon microemulsions suitable for combined fire-extinguishing means. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 85, n. 12, p. 1905-1909, 2012.

_____. Heat capacity, conductivity, and structural changes of water-sodium dodecylsulfate-triethanolamine-1-pentanol-1,1,2,2-tetrafluorodibromoethane microemulsions. **Journal of Structural Chemistry**, v. 56, n. 2, p. 266-271, 2015.

BUMAJDAD, A.; EASTOE, J. Conductivity of mixed surfactant water-in-oil microemulsions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 6, n. 7, p. 1597-1602, 2004.

CASSEL, B.; PACKER, R. **Modulated Temperature DSC and the DSC 8500: a step up in performance**. Shelton: PerkinElmer, Inc.: 1-6 p. 2014.

CAVALLI, R.; MARENGO, E.; CAPUTO, O.; UGAZIO, E.; GASCO, M. R. The effect of alcohols with different structures on the formation of warm O/W microemulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 17, n. 7, p. 717-734, 1996.

CHIAPPISI, L.; NOIREZ, L.; GRADZIELSKI, M. A journey through the phase diagram of a pharmaceutically relevant microemulsion system. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 473, p. 52-59, 2016.

DANIELSSON, I.; LINDMAN, B. The definition of microemulsion. **Colloids and Surfaces**, v. 3, n. 4, p. 391-392, 1981.

DONG, X.; ZHU, Q.; DAI, Y.; HE, J.; PAN, H.; CHEN, J.; ZHENG, Z.-P. Encapsulation artocarpone and ascorbic acid in O/W microemulsions: Preparation, characterization, and antibrowning effects in apple juice. **Food Chemistry**, v. 192, p. 1033-1040, 2016.

EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Structural Evolution along Water Dilution Lines in Nonionic Systems. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 203, n. 1, p. 222-224, 1998.

EZRAHI, S.; WACHTEL, E.; ASERIN, A.; GARTI, N. Structural Polymorphism in a Four-Component Nonionic Microemulsion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 191, n. 2, p. 277-290, 1997.

FANUN, M. Formulation and characterization of microemulsions based on mixed nonionic surfactants and peppermint oil. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 343, n. 2, p. 496-503, 2010.

FASOLIN, L. H.; SANTANA, R. C.; CUNHA, R. L. Microemulsions and liquid crystalline formulated with triacylglycerols: Effect of ethanol and oil unsaturation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 415, p. 31-40, 2012.

FENG, J.-L.; WANG, Z.-W.; ZHANG, J.; WANG, Z.-N.; LIU, F. Study on food-grade vitamin E microemulsions based on nonionic emulsifiers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 339, n. 1-3, p. 1-6, 2009.

FLANAGAN, J.; KORTEGAARD, K.; NEIL PINDER, D.; RADES, T.; SINGH, H. Solubilisation of soybean oil in microemulsions using various surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 2-3, p. 253-260, 2006.

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**, v. 299, n. 1, p. 352-365, 2006.

GARTI, N.; YAGHMUR.; LESER, M. E.; CLEMENT, V.; WATZKE, H. J. Improved Oil Solubilization in Oil/Water Food Grade Microemulsions in the Presence of Polyols and Ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2552-2562, 2001.

GUO, R. X.; FU, X.; CHEN, J.; ZHOU, L.; CHEN, G. Preparation and Characterization of Microemulsions of Myricetin for Improving Its Antiproliferative and Antioxidative Activities and Oral Bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 32, p. 6286-94, 2016.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. **Nature**, v. 152, p. 102-103, 1943.

MARTINO, A.; SCHICK, M.; KALER, E. W. A four component lattice model for nonaqueous microemulsions made with nonionic surfactants. **Journal of Chemical Physics**, v. 93, n. 11, p. 8228-8234, 1990.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.

MERZLYAKOV, M.; SCHICK, C. Step response analysis in DSC — a fast way to generate heat capacity spectra. **Thermochimica Acta**, v. 380, n. 1, p. 5-12, 2001.

PAUL, B. K.; MITRA, R. K. Water solubilization capacity of mixed reverse micelles: Effect of surfactant component, the nature of the oil, and electrolyte concentration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 288, n. 1, p. 261-279, 2005.

PERLSTEIN, M.; ASERIN, A.; WACHTEL, E. J.; GARTI, N. Propofol solubilization and structural transformations in dilutable microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 282-290, 2015.

POLIZELLI, M. A.; TELIS, N. V. R.; AMARAL, L. Q.; FEITOSA, E. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 281, p. 230-236, 2006.

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 326-334, 2012.

ROOHINEJAD, S.; OEY, I.; WEN, J.; LEE, S. J.; EVERETT, D. W.; BURRITT, D. J. Formulation of oil-in-water β -carotene microemulsions: Effect of oil type and fatty acid chain length. **Food Chemistry**, v. 174, p. 270-278, 2015.

SASIVIMOLPHAN, P.; LIPIUN, V.; RITTHIDEJ, G.; CHITPHET, K.; YOSHIDA, Y.; DAIKOKU, T.; SRITULARAK, B.; LIKHITWITAYAWUID, K.; PRAMYOTHIN, P.; HATTORI, M.; SHIRAKI, K. Microemulsion-Based Oxyresveratrol for Topical Treatment of Herpes Simplex Virus (HSV) Infection: Physicochemical Properties and Efficacy in Cutaneous HSV-1 Infection in Mice. **AAPS Pharmaceutical Science Technol**, v. 13, n. 4, p. 1266-1275, 2012.

SENATRA, D.; LENDINARA, L.; GIRI, M. G. W/O microemulsions as model systems for the study of water confined in microenvironments: low resolution ^1H magnetic resonance relaxation analysis. In: CORTI, M. MALLAMACE, F. (Ed.). **Trends in colloid and interface science V**. Darmstadt: Springer, 1991. p.122-128.

SPERNATH, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Phasetransition induced bywater dilution in phospholipid U-type food-grade microemulsions studied by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 83, n. 2, p. 297-308, 2006.

TADROS, T. F. **Applied surfactants: principles and applications**. Weinheim: Wiley, 2005.

TCHAKALOVA, V.; BAILLY, C.; FIEBER, W. Food-grade bicontinuous microemulsions. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. 1, p. 67-74, 2014.

WINSOR, P. A. Hydrotropy, solubilisation and related emulsification processes. **Transactions of the Faraday Society**, v. 44, n. 0, p. 376-398, 1948.

XU, Z.; JIN, J.; ZHENG, M.; ZHENG, Y.; XU, X.; LIU, Y.; WANG, X. Co-surfactant free microemulsions: Preparation, characterization and stability evaluation for food application. **Food Chemistry**, v. 204, p. 194-200, 2016.

YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Phase behavior of microemulsions based on food-grade nonionic surfactants: effect of polyols and short-chain alcohols. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 209, n. 1, p. 71-81, 2002.

YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; TIUNOVA, I.; GARTI, N. Sub-zero temperature behaviour of non-ionic microemulsions in the presence of propylene glycol by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 69, n. 1, p. 163-177, 2002.

ZHANG, H.; FENG, F.; LI, J.; ZHAN, X.; WEI, H.; LI, H.; WANG, H.; ZHENG, X. Formulation of food-grade microemulsions with glycerol monolaurate: effects of short-chain alcohols, polyols, salts and nonionic surfactants. **European Food Research and Technology**, v. 226, n. 3, p. 613-619, 2008.

ZHANG, H.; TAXIPALATI, M.; QUE, F.; FENG, F. Microstructure characterization of a food-grade U-type microemulsion system by differential scanning calorimetry and electrical conductivity techniques. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 3050-3055, 2013.

CAPÍTULO 3:

Medidas de SAXS e análise dos dados das microemulsões

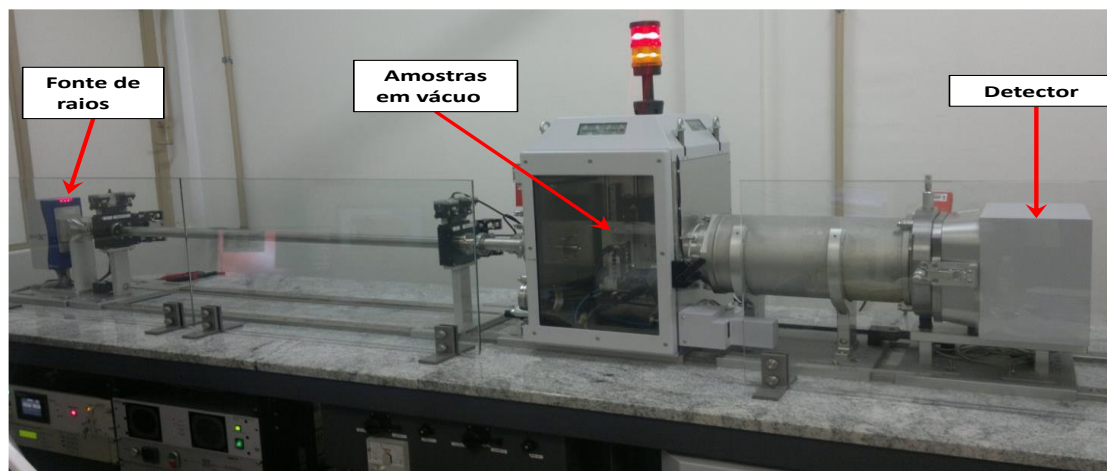
3.1 INTRODUÇÃO

Small-angle X-ray scattering (SAXS) é um método analítico para determinar a estrutura dos sistemas de partículas em termos de tamanhos de partículas ou formas médias em escalas de longitude de até 100nm ou maiores. Os materiais podem ser sólidos ou líquidos e podem conter domínios sólidos, líquidos ou gasosos (as chamadas partículas) do mesmo material ou de qualquer outro material em qualquer combinação. O método SAXS é preciso, não destrutivo e normalmente requer apenas um mínimo de preparação da amostra. As áreas de aplicação são muito amplas e incluem materiais biológicos, polímeros, coloides, produtos químicos, metais, minerais, alimentos e produtos farmacêuticos e podem ser encontrados em pesquisas, bem como no controle de qualidade (SCHNABLEGGER; SINGH, 2013).

3.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

As medidas de SAXS foram feitas usando um equipamento NanoStar - Bruker otimizado com uma fonte e sistema ótico Xenocs, Figura 3.1. As amostras foram mantidas em um capilar de quartzo de diâmetro médio 1,5 mm. O intervalo efetivo do módulo do vetor momento de transferência, $q = 4\pi\sin\theta/\lambda$ (onde θ é metade do ângulo de espalhamento e λ o comprimento de onda dos raios X), acessível experimentalmente, foi de $0,01 - 0,35 \text{ \AA}^{-1}$. As medidas foram feitas nas temperaturas 30 °C, 40 °C, 50 °C e 60 °C, em aquecimento contínuo por meio de um banho térmico (o processo de resfriamento também foi acompanhado, e os dados obtidos foram muito similares àqueles obtidos para o aquecimento). As intensidades coletadas foram corrigidas usando o espalhamento de *background*, capilar vazio e transmissão da amostra. Para o tratamento dos dados utilizou-se o pacote SUPERSAXS (OLIVEIRA; PEDERSEN, 2009).

Figura 3.1 – Equipamento usado na realização dos experimentos de SAXS. O feixe de raios X é produzido na fonte, é colimado e incide na amostra, que está colocada em vácuo. O espalhamento do feixe pela amostra é coletado pelo detector.



3.3 MATERIAIS

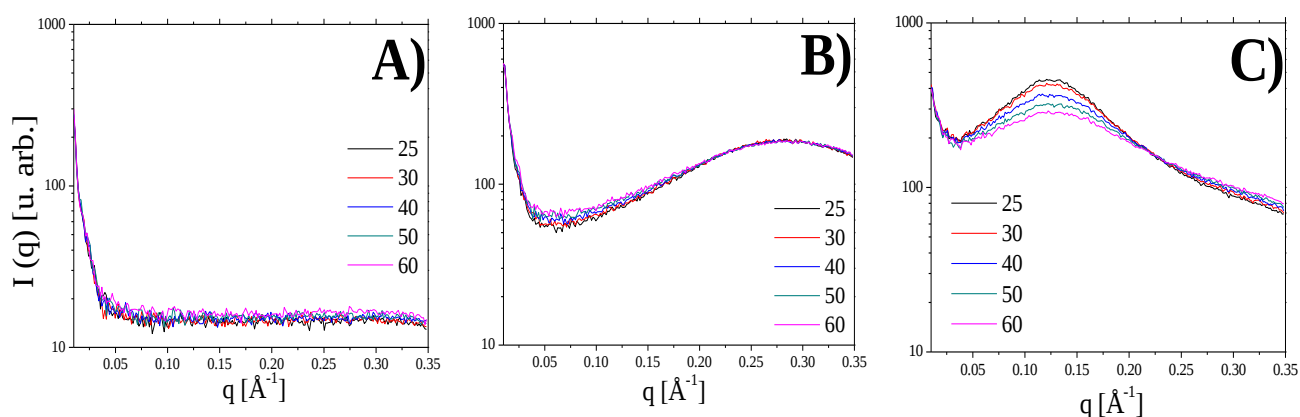
A Tabela 3.1 mostra as séries estudadas. A primeira coluna corresponde ao nome da série, a segunda e terceira coluna indicam a proporção de cada um dos compostos entre surfactantes, óleo e água. Assim, na amostra “9:1:1” existem 9 partes de surfactantes (entre Tween 80, Span 80 e Propilenoglicol, sendo Tween 80 o mais representativo da mistura), 1 parte de óleo e 5% de quantidade de água (note que o último número “1” de “9:1:1” corresponde à quantidade de água na amostra em porcentagem de massa).

Tabela 3.1 – Descrição das amostras usadas nos experimentos.

Nome da série	Quantidade de Surfactantes (Tween 80 – em maior quantidade, Span 80 e Propilenoglicol)	Quantidade de óleo	Quantidade de água
9:1:1	9	1	1= 5%
9:1:2			2=10%
9:1:3			3=15%
8:2:1	8	2	1=5%
8:2:2			2=10%
8:2:3			3=15%
8:2:4			4=20%

As amostras são fundamentalmente constituídas de água, óleo e Tween 80. Estas amostras foram medidas e submetidas à mesma rampa de variação de temperatura. Diferentemente da água, tanto óleo quanto Tween 80 apresentam auto-organização no intervalo de q utilizado. Este fato é evidenciado por um pico de correlação em $q \cong 0,28 \text{ \AA}^{-1}$ para o caso do óleo e $q \cong 0,12 \text{ \AA}^{-1}$ para o caso do Tween 80. Logo, não foi possível utilizá-los como tampão a fim de se fazer o tratamento inicial dos dados. Nesse caso, utilizamos apenas a medida da água, em temperatura compatível com a da medida da amostra, para fazer o tratamento dos dados.

Figura 3.2 – A) Espalhamento da água medido em várias temperaturas. No intervalo de q utilizado, a água não apresenta auto-organização. B) Espalhamento do óleo medido em diferentes temperaturas. O óleo apresenta um pico de correlação em $q \cong 0,28 \text{ \AA}^{-1}$ indicando auto-organização. C) Espalhamento do Tween 80 medido em diferentes temperaturas. O Tween 80 apresenta um pico de correlação em $q \cong 0,12 \text{ \AA}^{-1}$ indicando auto-organização.



3.4 PROCEDIMENTOS PARA ANÁLISE DOS DADOS

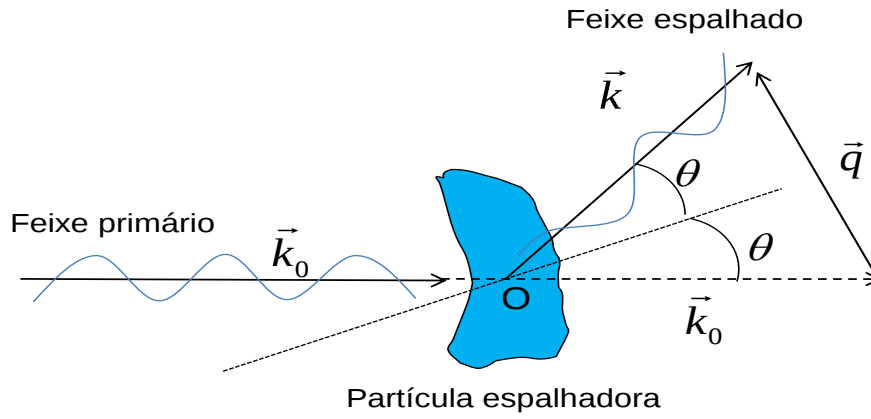
3.4.1 Informações iniciais

A sigla SAXS vem de *Small Angle X-ray Scattering* que significa Espalhamento de Raios X à Baixo Ângulo. Quando um feixe colimado de raios X incide na amostra, parte dele passa pela amostra (atingindo o *beamstopper*, posicionado no centro do detector) e parte é

espalhada devido à interação do feixe com os elétrons de cada molécula. Para energias de ~ 7 a 12 keV, o espalhamento é bem descrito pela *primeira aproximação de Born*, que considera que o feixe espalhado é resultado do *espalhamento primário* dos objetos espalhadores (elétrons, átomos, partículas), isto é, não existem *espalhamentos múltiplos*. Na Figura 3.3 está esquematizado a situação de espalhamento. Sendo $\vec{k}_0$ o vetor de onda do feixe incidente e $\vec{k}$ o vetor de onda do feixe espalhado, podemos definir Eq. (3.1) (OLIVEIRA, 2011):

$$\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_0 \quad (3.1)$$

Figura 3.3 - Feixe de raios X espalhado por uma partícula, fixa no espaço, formando um ângulo 2θ em relação ao feixe incidente.



Fonte: Oseliero Filho, (2013)

A partir de considerações geométricas, escreve-se o módulo do vetor de transferência de momento no espaço recíproco q em função do ângulo de espalhamento e do módulo do vetor de onda como sendo o *vetor de transferência de momento no espaço recíproco*, cujo módulo é apresentado na Eq. (3.2):

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \quad (3.2)$$

Se a partícula está fixa no espaço e possui densidade eletrônica $\rho(\vec{r})$, então a amplitude de espalhamento $F(q)$ será dada pela *Transformada de Fourier* da densidade eletrônica (Eq.3.3) (GLATTER, 1972; 1977):

$$F(\vec{q}) = \frac{1}{4\pi} \int_V \rho(\vec{r}) e^{-i \vec{q} \cdot \vec{r}} d\vec{r} \quad (3.3)$$

O que é medido em um experimento de SAXS é a intensidade espalhada $I_1(q)$, a qual está relacionada com $F(q)$ por meio de Eq. (3.4):

$$I_1(\vec{q}) = F(\vec{q}) \cdot F(\vec{q})^* \quad (3.4)$$

Em sistemas reais as partículas não estão fixas no espaço. Logo deve-se tomar a média sobre todas as orientações da partícula. No espaço recíproco (isto é, dado em termos de q) isso é feito facilmente tomando-se a média sobre o ângulo sólido Ω (Eq.4.5) (GUINIER; FOURNET, 1955):

$$I_1(q) = \langle F(\vec{q}) \cdot F(\vec{q})^* \rangle_{\Omega} = 4\pi \int_0^{\infty} p(r) \frac{\sin qr}{qr} dr \quad (3.5)$$

onde a função $p(r)$, chamada *distribuição de pares de distâncias*, é uma função que fornece informações sobre a forma e tamanho das partículas no espaço real. É possível, partindo-se de $I_1(q)$, obter a função $p(r)$. Para tanto devemos utilizar a *Transformada Indireta de Fourier* (*Indirect Fourier Transformation – IFT*) (Eq.3.6) (GLATTER, 1972; 1977):

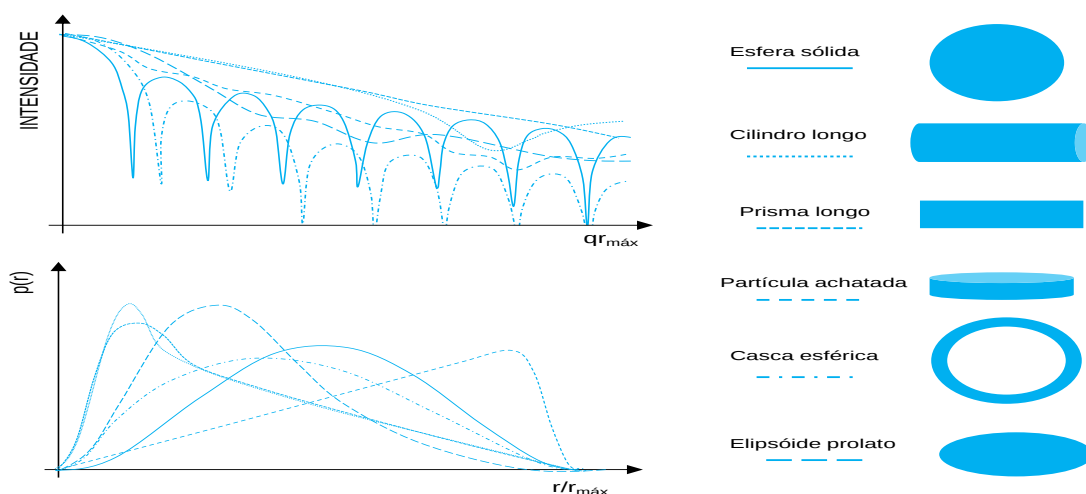
$$p(r) = \frac{r}{2\pi^2} \int_0^{\infty} q^2 I_1(q) \frac{\sin qr}{qr} dq \quad (3.6)$$

A Figura mostra a intensidade espalhada por algumas formas geométricas comuns assim como a função $p(r)$ correspondente. Até agora foi abordado o espalhamento de uma única partícula. Para um sistema de n partículas por unidade de volume, randomicamente orientadas, a intensidade espalhada passa a ser descrita pela (Eq. 3.7) (PEDERSEN, 1997).

$$I(q) = n \cdot \langle F(\vec{q})^2 \rangle \cdot \langle S(\vec{q}) \rangle \quad (3.7)$$

onde $\langle F(\vec{q})^2 \rangle = P(q)$ é o chamado fator de forma das partículas e $\langle S(\vec{q}) \rangle = S(q)$ é o chamado fator de estrutura. O fator de forma depende unicamente da forma das partículas. Se o sistema for *monodisperso*, a forma das partículas não muda e $P(q) = I_1(q)$. Se o sistema for *polidisperso*, o fator de forma incluirá a média sobre todas as possíveis formas, tamanhos e densidades eletrônicas das partículas. O fator de estrutura depende das interações entre as partículas e das possíveis estruturas que elas podem formar devido a isso.

Figura 3.4 – Cada estrutura mostrada à direita (esfera, cilindro, prisma...) possui um único perfil de intensidade assim como um único perfil de $p(r)$.

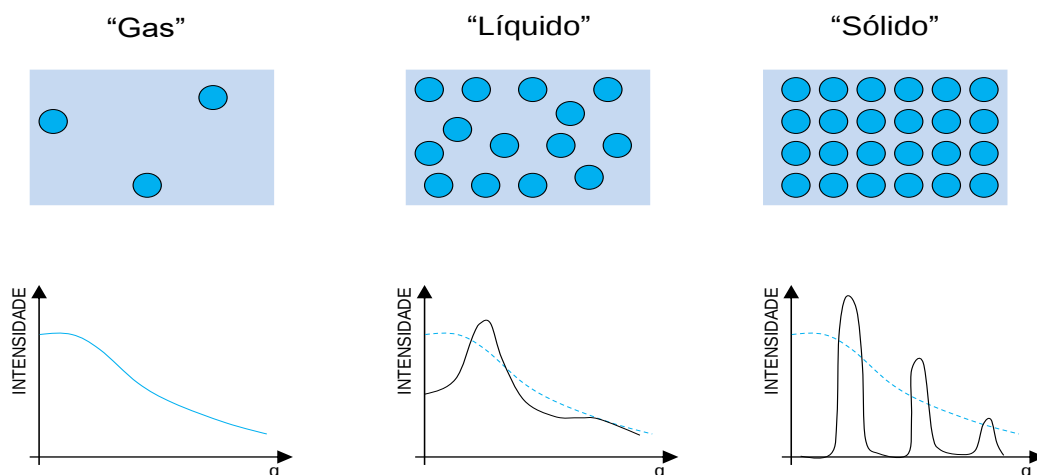


Fonte: Oseliero Filho, (2013)

Conhecendo-se esses perfis, pode-se em uma análise inicial dar palpites sobre a forma das partículas em um sistema qualquer assim como o tamanho máximo envolvido ($r_{\text{máx}}$), informação está relacionada com a curva $p(r)$.

Para *sistemas diluídos*, $S(q) \rightarrow 1$ e a intensidade espalhada só dependerá do fator de forma das partículas. Para *sistemas concentrados*, $S(q)$ deve ser levado em conta a fim de que a intensidade espalhada seja perfeitamente descrita. A Figura 3.5 ilustra, por meio de uma analogia, situações que vão desde o estado diluído (tipo “gás”) até o estado concentrado (tipo “sólido”) de um sistema, considerando em cada caso a contribuição dos fatores de forma e estrutura. A partir de agora fatores de forma e de estrutura serão particularizados para cada um dos sistemas tratados neste Capítulo.

Para sistemas diluídos (primeira imagem da esquerda para a direita) nos quais as partículas estão muito distantes umas das outras (como em um gás), apenas o fator de forma (linha azul) é predominante. Para sistemas mais concentrados (como em um líquido) as partículas estão mais próximas umas das outras e passam a interagir, sendo que o fator de estrutura (linha preta) passa a ser importante. Para sistemas muito concentrados (como em um sólido) nos quais as partículas interagem fortemente, ambos o fator de estrutura e o fator de forma devem ser levados em conta a fim de que a intensidade espalhada possa ser descrita completamente.

Figura 3.5 – Contribuição dos fatores de forma e estrutura para diferentes sistemas.

Fonte: Oseliero Filho, (2013)

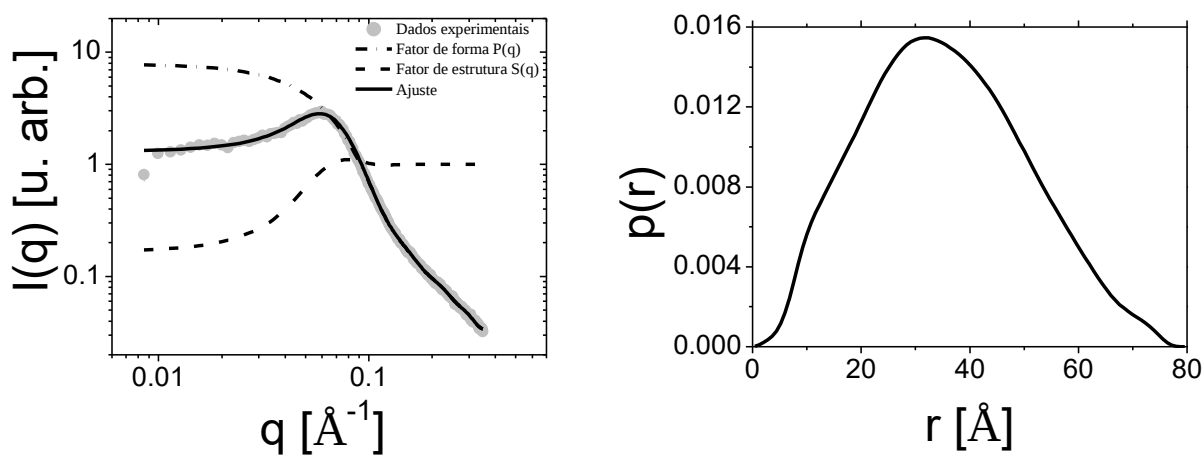
3.4.2 Análise dos dados de SAXS de microemulsão

Para sistemas bastante diluídos, a curva de espalhamento $I(q)$ é basicamente descrita por um fator de forma $P(q)$. Contudo, este não é o caso das microemulsões mencionadas neste Capítulo, que correspondem a sistemas altamente concentrados. Portanto, a intensidade passa a conter um fator de estrutura $S(q)$ (Eq. 4.7), o que torna mais difícil a análise dos dados. Para analisar os dados, utilizamos o método GIFT (*Generalized Indirect Fourier Transform*) (BRUNNERPOPELA; GLATTER, 1997), o qual permite determinar, simultaneamente, o fator de forma e o de estrutura que melhor ajustam a curva experimental e, em seguida, combiná-los para encontrar a intensidade de espalhamento teórica. Esse procedimento, já usado de maneira satisfatória para análise de dados de SAXS de microemulsões (YAGHMUR et al., 2004), foi implementado no programa WGIFT (OLIVEIRA et al., 2009).

Na Figura 3.6 é mostrado um exemplo de análise feita usando-se o programa WGIFT. A partir do fator de forma é gerado a curva $p(r)$, a qual traz indicações de forma e tamanho da partícula. Nesse caso, concluiu-se que os complexos são globulares e alongados (por causa da forma de sino levemente assimétrica da função $p(r)$), de tamanho máximo próximo de 80 Å (que é o valor do eixo r para o qual a função $p(r)$ é zero) e também do tipo *core-shell*, ou seja, formados por camadas (por causa da leve ondulação no começo da função $p(r)$, entre 0 e 20 Å). Como as partículas são globulares e desprovidas de carga elétrica, utilizou-se o fator de

estrutura de esferas rígidas polidispersas para estudar a interação entre elas (BRUNNERPOPELA; GLATTER, 1997; YAGHMUR et al., 2004). Os parâmetros para esse fator de estrutura são R_{HS} (raio de interação), ϕ (fração volumétrica) e σ (largura da distribuição gaussiana de tamanhos). O parâmetro R_{HS} corresponde à metade da distância média entre os centros das partículas, enquanto ϕ tem relação com o volume ocupado pelas partículas. O parâmetro σ traz informação sobre a polidispersidade no tamanho das partículas.

Figura 3.6 – Exemplo de análise dos dados usando o programa WGIFT. A) Dado ajustado. B) Função $p(r)$ obtida pela Transformada Indireta de Fourier (IFT) do fator de forma $P(q)$.

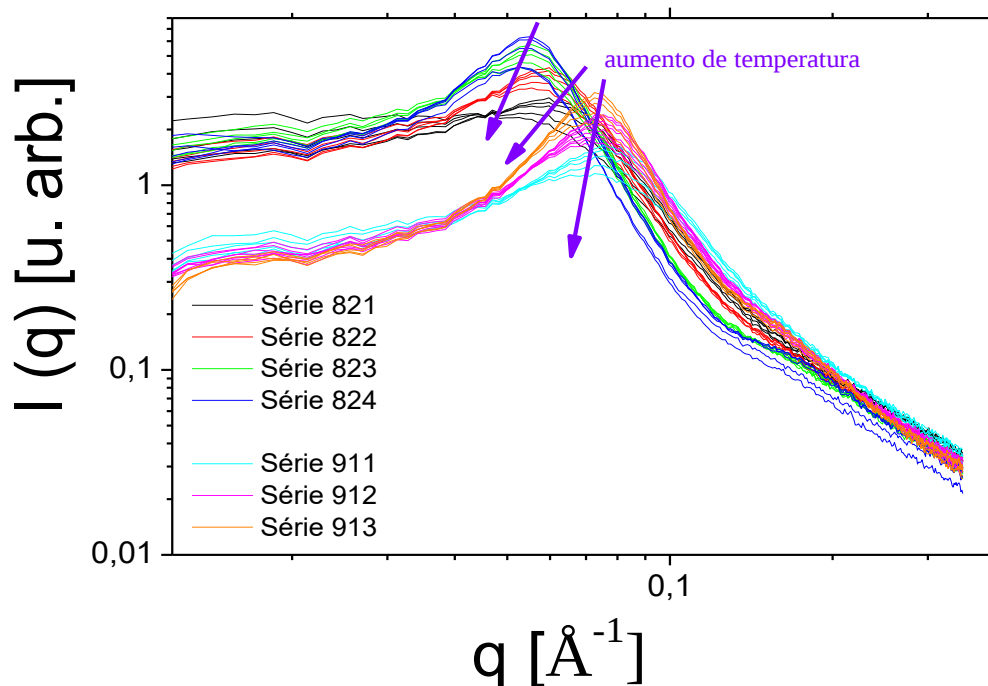


3.5 RESULTADOS

A Figura 3.7 mostra os dados experimentais obtidos durante as medições. Esses já são os dados tratados para os quais foram feitas as correções e calibrações necessárias. De uma maneira geral, as curvas de SAXS para o sistema estudado apresentam um máximo de correlação (um pico), já evidenciados em outros trabalhos (CHEN, 1986; FANUN et al., 2001; YAGHMUR et al., 2004; FANUN, 2009), indicando existência de uma distância de repetição característica dentro da amostra, a qual pode trazer informações sobre o tamanho (efetivo) das partículas. A posição desse pico varia em função da composição da amostra, apresentando também leve dependência com a temperatura. Para as séries 8:2:1, 8:2:2, 8:2:3 e 8:2:4, os picos deslocam-se para valores menores de q , indicando que o tamanho efetivo das partículas aumenta. Além disso, 8:2:1 e 8:2:2 apresentam distâncias características similares, já que os picos possuem valor em q muito próximo. O mesmo acontece com as séries 8:2:3 e 8:2:4. Para

as séries 9:1:1, 9:1:2 e 9:1:3, o deslocamento de pico existe, porém ele é muito menos pronunciado. É interessante observar também que quanto maior a temperatura, menor a intensidade do pico. Isso pode significar, por exemplo, que o número de partículas por unidade de volume está diminuindo com o aumento da temperatura e/ou que o contraste das partículas em relação ao meio está ficando menor quanto maior a temperatura. Como é mostrado mais adiante, a densidade de partículas tende a permanecer constante ou aumentar (para a série 9:1:1) conforme o aumento da temperatura. Logo, é bem possível que a segunda hipótese, acerca do contraste das partículas em relação ao meio, seja razoável.

Figura 3.7 – Dados experimentais de SAXS obtidos para todas as séries estudadas com variação de temperatura.



As curvas são todas semelhantes entre si e caracterizadas pela presença de um pico de correlação, o qual indica a presença de uma distância de repetição no sistema. As setas roxas indicam o sentido de aumento de temperatura.

O método GIFT foi usado para analisar as curvas e extrair informações estruturais delas. Os dados ajustados encontram-se na Figura 3.8 até 3.14.

Figura 3.8 – Série 821. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. A setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

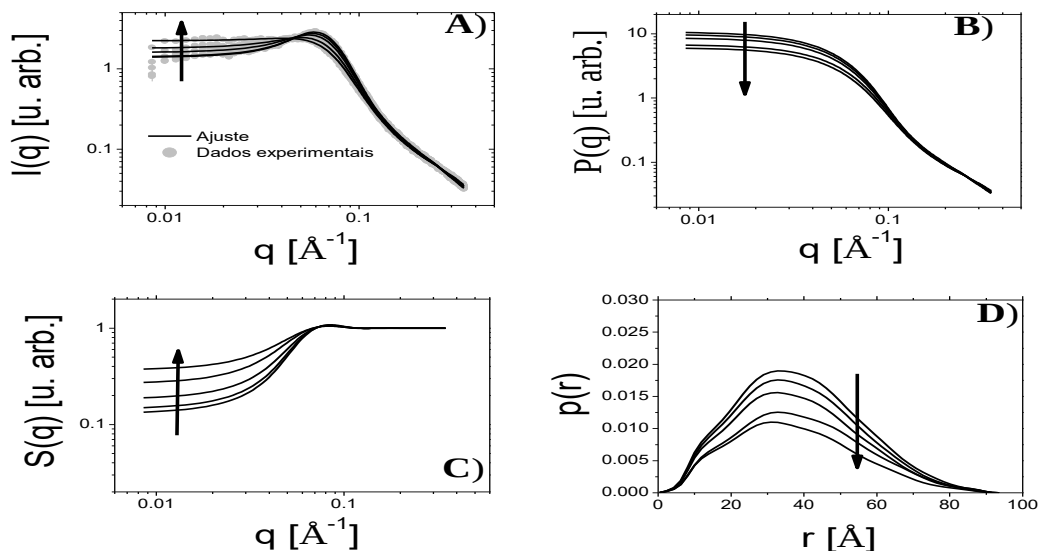


Figura 3.9 – Série 822. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. A setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

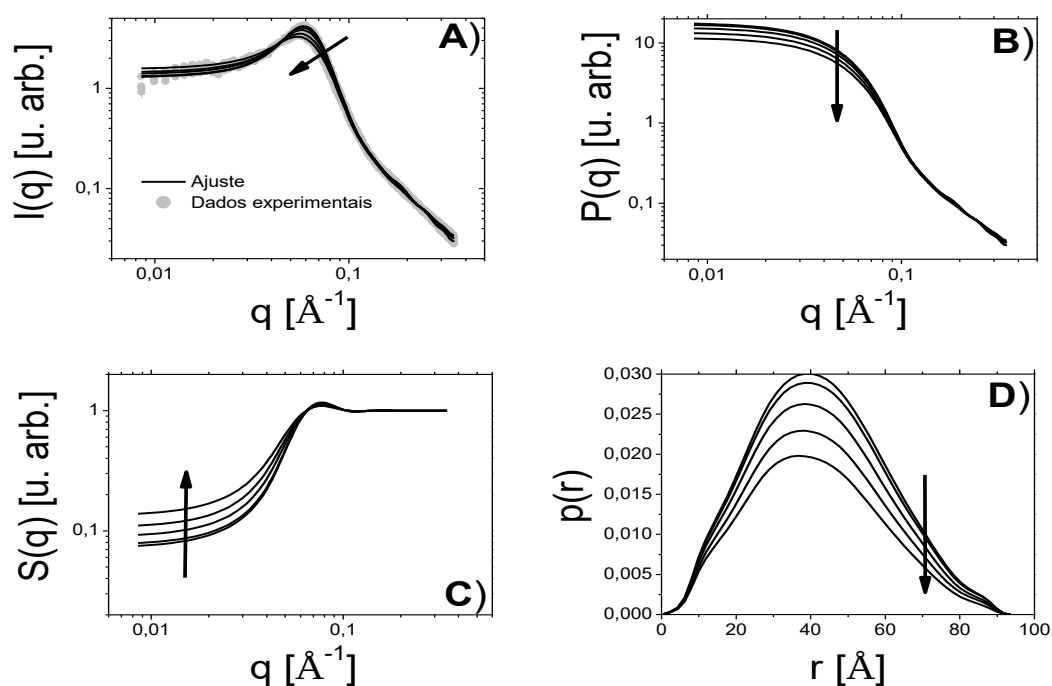


Figura 3.10 – Série 823. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. As setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

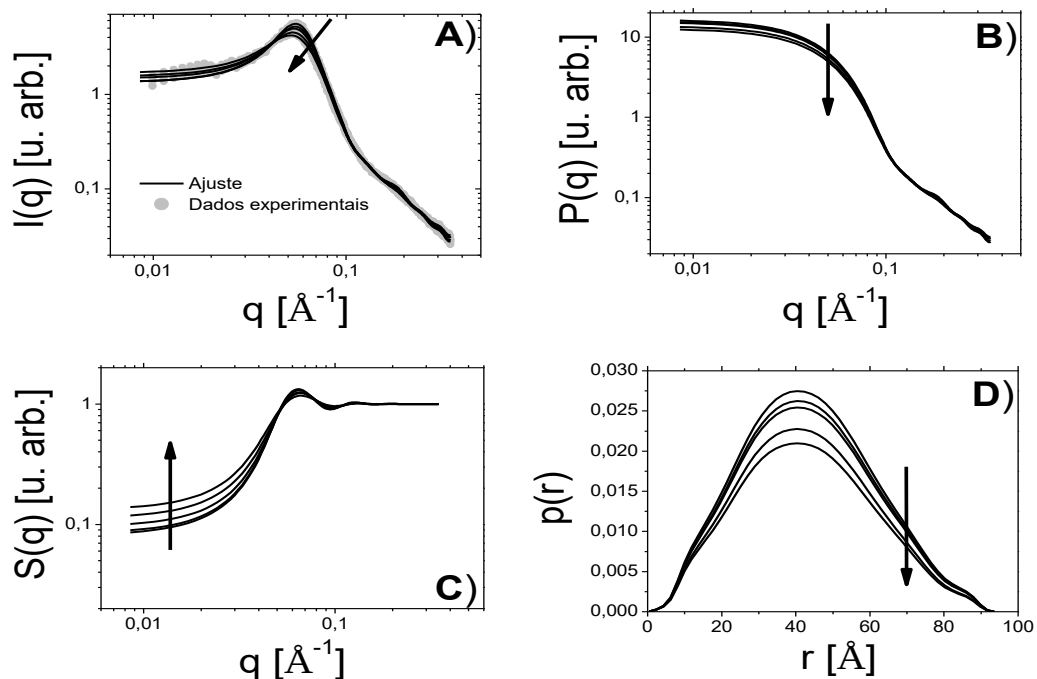


Figura 3.11 – Série 824. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. As setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

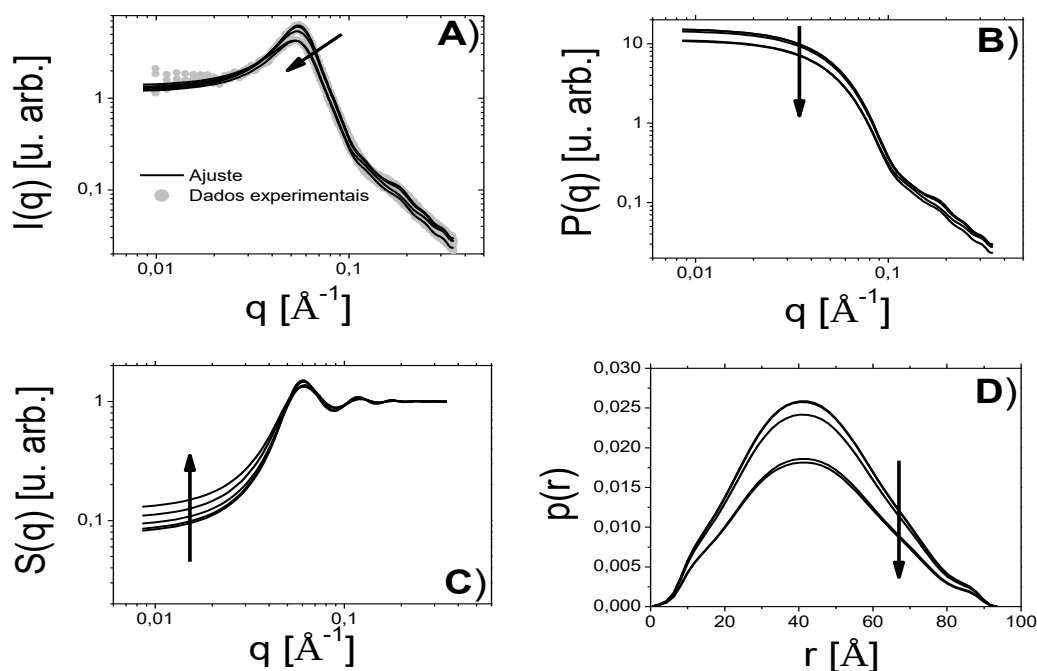


Figura 3.12 – Série 911. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. A setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

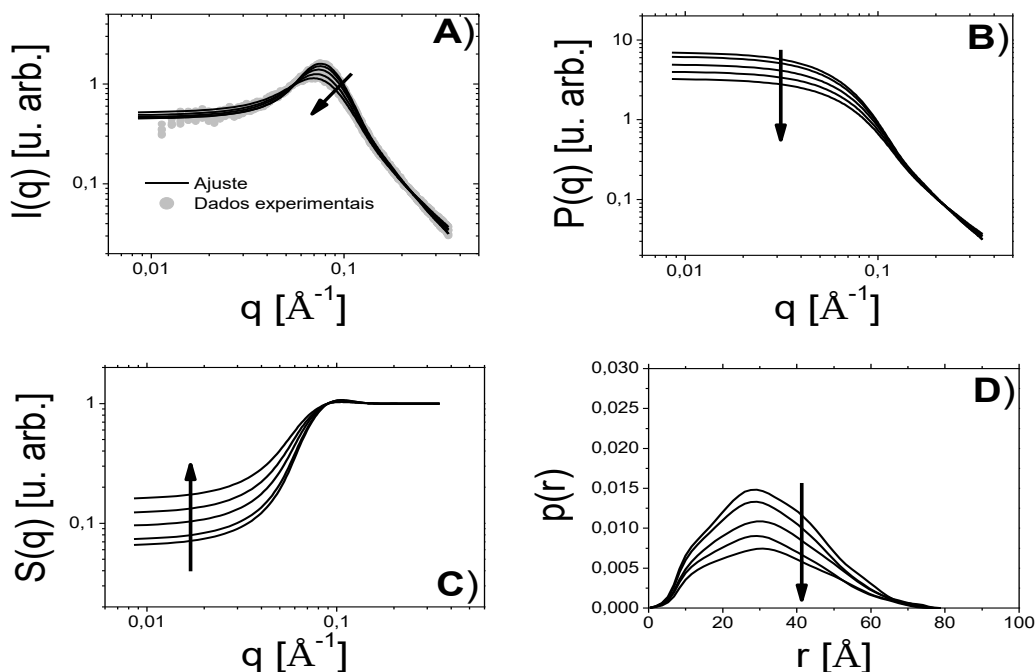


Figura 3.13 – Série 912. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. A setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

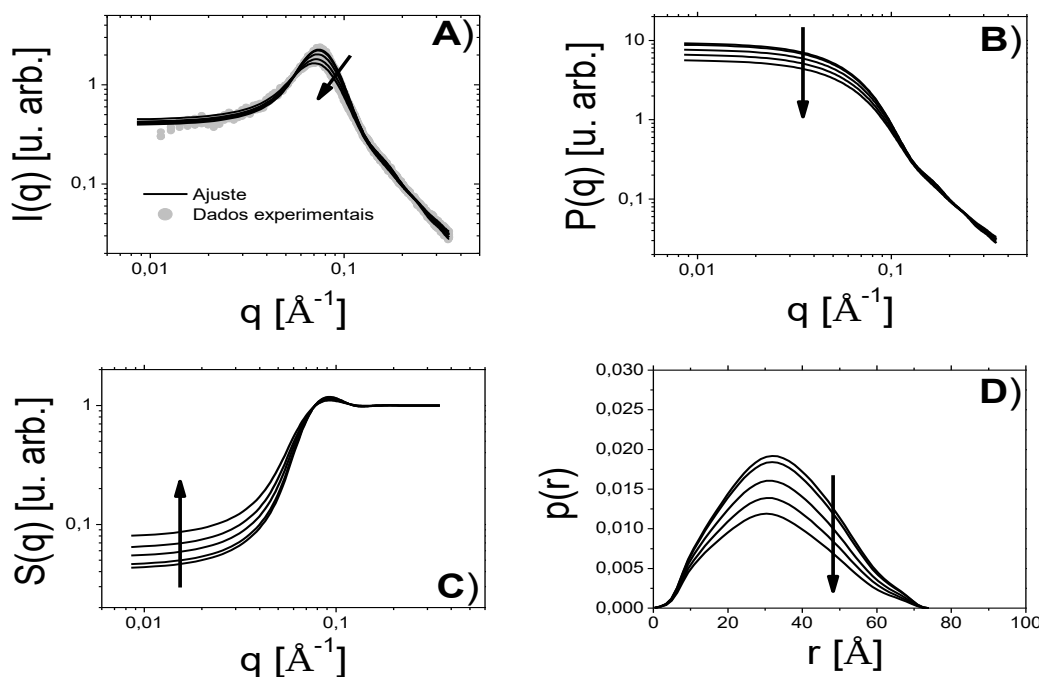
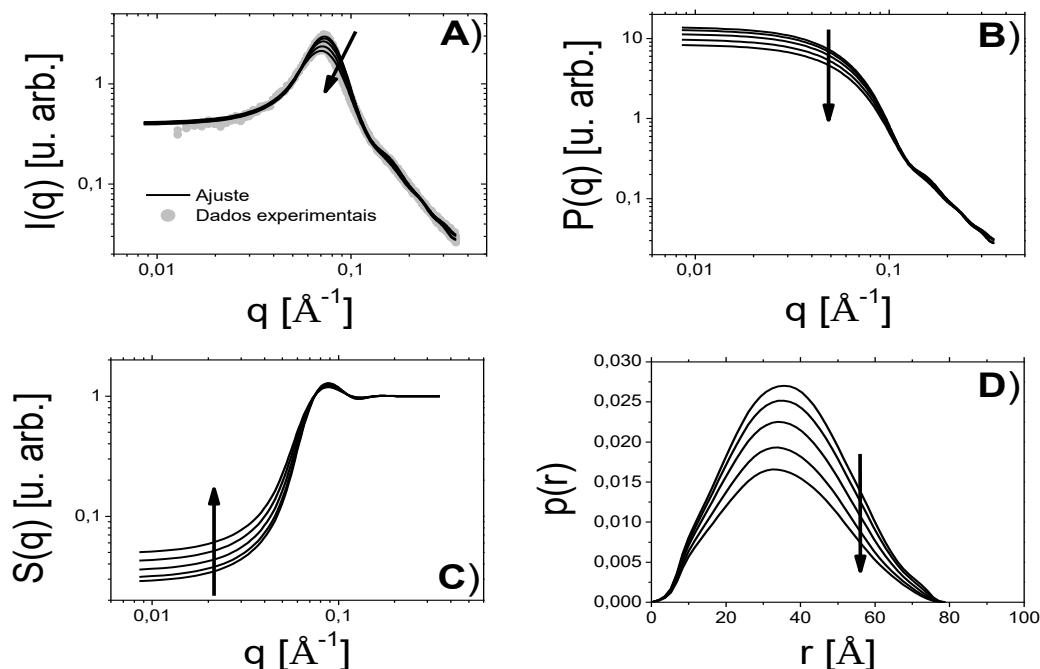


Figura 3.14 – Série 913. A) Curvas experimentais de SAXS ajustadas com o Método GIFT. B) Fator de forma $P(q)$. C) Fator de estrutura $S(q)$. D) Função $p(r)$. As setas pretas indicam o sentido de aumento da temperatura.

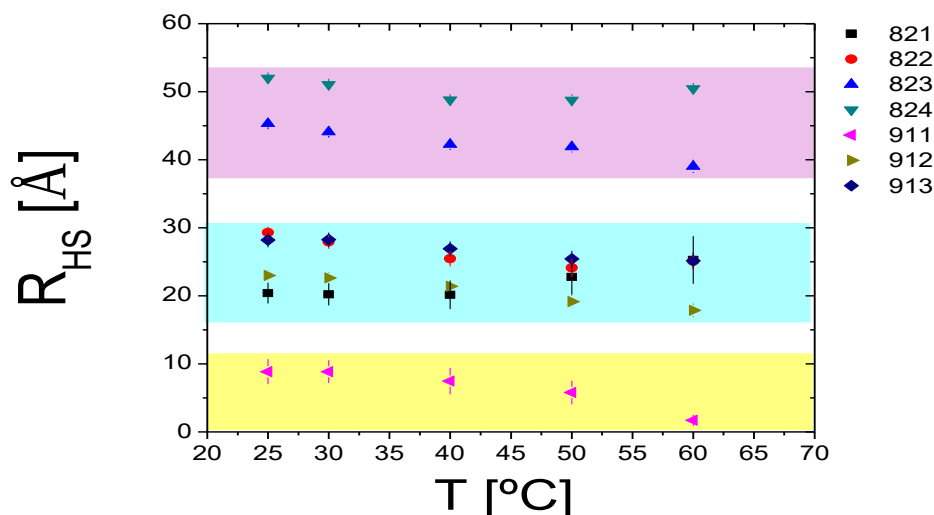


Em todos os casos os ajustes foram satisfatórios, e observando-se as funções $p(r)$ obtidas, concluiu-se que as partículas são globulares e ligeiramente alongadas (por causa da forma de sino levemente assimétrica da função $p(r)$), de tamanho máximo que varia entre $\approx 70 \text{ \AA}$ e $\approx 90 \text{ \AA}$, e também do tipo *core-shell*, ou seja, uma formados por camadas (por causa da leve ondulação no começo da função $p(r)$, entre 0 e $20 \text{ \AA}$).

Na Figura 3.15 está apresentado o gráfico do parâmetro R_{HS} em função da temperatura para todas as séries estudadas. Esse parâmetro fornece uma ideia da distância de separação média entre os centros das partículas. Os valores de R_{HS} encontram-se preferencialmente em três regiões diferentes as quais estão representadas no gráfico pelas regiões coloridas. O menor raio de interação foi observado para a série 9:1:1 (até $\sim 10 \text{ \AA}$), que é a amostra que possui mais surfactante, e tende a diminuir com o aumento de temperatura. Já os maiores raios de interação foram observados para as séries 8:2:3 e 8:2:4 (entre $\sim 37 \text{ \AA}$ e $\sim 57 \text{ \AA}$), que são as amostras que possuem menor quantidade de surfactante e a maior quantidade de água. O raio de interação para 8:2:3 tende a diminuir, enquanto para 8:2:4 permanece praticamente constante. Todas as outras séries possuem valores de R_{HS} intermediários (entre $\sim 17 \text{ \AA}$ e $\sim 30 \text{ \AA}$) e, conforme a

temperatura aumenta, os valores do raio de interação permanecem praticamente constantes, com variações pequenas em torno de ~ 5 Å.

Figura 3.15 – Valores do parâmetro R_{HS} (raio de interação) em função da temperatura para todas as séries de microemulsão estudadas.



Os valores do parâmetro R_{HS} e o parâmetro σ são mostrados na Tabela 3.2 e 3.3. O parâmetro σ é diretamente proporcional à polidispersidade de tamanhos. Considerando os valores de R_{HS} , é possível concluir que a polidispersidade observada é relativamente alta, tipicamente em torno de 30%, mas para alguns casos podendo chegar a valores maiores. Como o sistema estudado é bastante viscoso e denso, a obtenção de valores mais precisos para esse parâmetro por meio, por exemplo, de medidas de espalhamento dinâmico de luz, é bastante difícil.

Tabela 3.2 – Valores do parâmetro R_{HS} (raio de interação) usado na modelagem dos dados de SAXS.

Temperatura (°C)	821		822		823		824		911		912		913	
	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]	R_{HS} [Å]	Erro (R_{HS}) [Å]
25	20,4	1,5	29,3	0,9	45,3	0,5	52,0	0,2	8,9	1,8	23,0	0,8	28,2	1,1
30	20,2	1,6	27,9	1,0	44,1	0,6	51,1	0,3	8,9	1,7	22,6	0,7	28,3	1,0
40	20,1	2,1	25,5	1,1	42,3	0,6	48,8	0,4	7,5	2,0	21,4	0,8	26,9	1,1
50	22,8	2,6	24,1	1,3	41,9	0,7	48,8	0,5	5,8	1,7	19,2	0,9	25,4	1,2
60	25,3	3,5	25,1	1,4	39,0	1,0	50,5	0,4	1,7	0,2	17,9	1,0	25,2	1,2

Tabela 3.3 – Valores do parâmetro σ (tem relação com a polidispersidade de tamanho de partícula) usado na modelagem dos dados de SAXS.

Temperatura (°C)	821		822		823		824		911		912		913	
	σ [Å]	Err o (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]	σ [Å]	Erro (σ) [Å]
25	10,8	0,4	9,7	0,3	6,5	0,4	3,5	0,3	11,2	0,4	9,1	0,2	8,3	0,3
30	10,8	0,5	10,0	0,3	6,9	0,4	4,0	0,3	11,2	0,4	9,2	0,2	8,2	0,3
40	10,8	0,6	10,9	0,4	7,4	0,4	5,2	0,3	11,5	0,4	9,5	0,3	8,6	0,3
50	10,0	0,8	11,2	0,4	7,3	0,4	5,4	0,4	12,2	0,6	10,0	0,3	9,0	0,4
60	8,6	1,3	10,9	0,4	8,5	0,5	3,5	0,6	13,0	0,9	10,3	0,3	9,1	0,4

Na Figura 3.16 e Tabela 3.4 é apresentado o gráfico de ϕ em função da temperatura para todas as séries assim como os valores do parâmetro ϕ . Como é possível observar, os valores de fração volumétrica decrescem com a temperatura, e esta dependência é praticamente linear, sendo que a taxa de decréscimo é mais acentuada para a série 8:2:1. As demais séries possuem praticamente a mesma taxa de decréscimo. É interessante observar também que as amostras 8:2:2, 8:2:3, 8:2:4 e 9:1:1 apresentam valores de ϕ muito próximos entre si, mesmo que as composições das séries sejam diferentes.

Figura 3.16 – Valores do parâmetro ϕ (fração de volume ocupado pelas partículas) em função da temperatura para todas as séries de microemulsão estudadas.

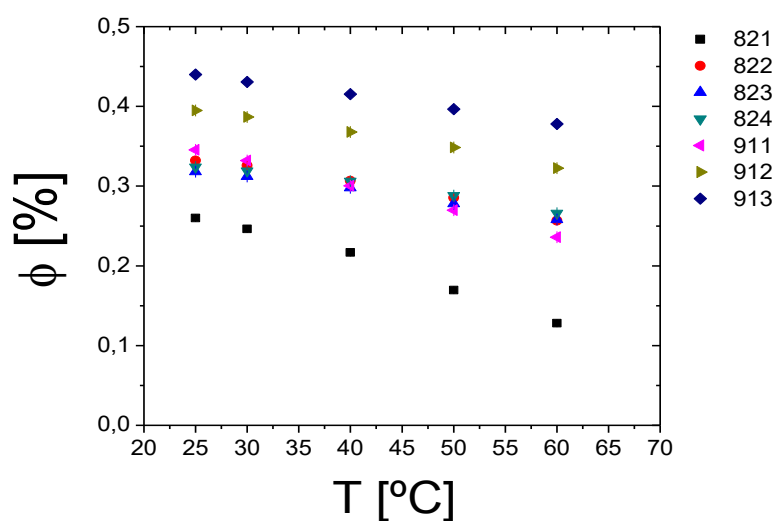


Tabela 3.4 – Valores do parâmetro ϕ (fração de volume ocupado pelas partículas) usado na modelagem dos dados de SAXS.

Temperatura (°C)	821		822		823		824		911		912		913	
	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)	ϕ	Erro (ϕ)
25	0,260	0,001	0,332	0,001	0,318	0,003	0,324	0,002	0,345	0,002	0,395	0,003	0,440	0,002
30	0,246	0,001	0,326	0,001	0,312	0,002	0,319	0,002	0,332	0,002	0,387	0,002	0,431	0,002
40	0,217	0,001	0,307	0,002	0,298	0,002	0,306	0,002	0,300	0,002	0,368	0,002	0,415	0,002
50	0,169	0,002	0,285	0,002	0,278	0,002	0,288	0,003	0,270	0,001	0,348	0,002	0,397	0,002
60	0,128	0,002	0,257	0,002	0,258	0,002	0,266	0,002	0,236	0,001	0,322	0,002	0,378	0,002

Com os parâmetros ϕ e R_{HS} pode-se estimar a densidade de partículas presentes nas amostras estudadas. Considerando que ϕ é a fração de volume correspondente ao volume ocupado pelas partículas, tem-se a Eq. (3.8):

$$\phi = \frac{V_{particulas}}{V_{total}} = \frac{N_{particulas} \cdot V_{uma\ particula}}{V_{total}} \quad (3.8)$$

onde $N_{particulas}$ é o número de partículas presentes na amostra e $V_{uma\ particula}$ é o volume de uma partícula. Como as partículas se mostraram globulares, é razoável considerar R_{HS} o raio efetivo da partícula, pode-se escrever que $V_{uma\ particula} = \frac{4}{3}\pi(R_{HS})^3$. Logo, a densidade de partículas $\frac{N_{particulas}}{V_{total}}$ poderá ser estimada de acordo a Eq. (3.9):

$$\frac{N_{particulas}}{V_{total}} = \frac{\phi}{\frac{4}{3}\pi(R_{HS})^3} \quad (3.9)$$

A Figura 3.17 mostra o gráfico de $\frac{N_{particulas}}{V_{total}}$ e a Tabela 3.5 e os valores do parâmetro $\frac{N_p}{\mu m^3}$ calculado em função da temperatura para todas as séries estudadas. Para melhor visualização, o gráfico é logaritmo – linear. Como é possível perceber, os resultados se dispõem em três regiões de ordens de grandeza diferentes, indicadas pelas regiões coloridas dos gráficos. As séries 8:2:3 e 8:2:4 possuem a menor densidade de partículas (da ordem de 10^6 partículas por μm^3), o que é razoável quando se considera que essas duas séries possuem a menor quantidade de surfactante (8 partes), o que leva à formação de um número menor de micelas, ao mesmo tempo que possuem a maior quantidade de água (15% e 20%), o que deixa as partículas mais diluídas. Por outro lado, a série 9:1:1 é a que possui maior quantidade de partículas por unidade de volume (da ordem de 10^8 à 10^{10} partículas por μm^3). Esse resultado também é razoável, uma vez que é a série que possui maior quantidade de surfactante (9 partes) e a menor quantidade de água. As outras séries (8:2:1, 8:2:2, 9:1:2 e 9:1:3) possuem densidade intermediária, da ordem de 10^7 partículas por μm^3 .

Figura 3.17– Valores calculados para a densidade de partículas, $\frac{N_p}{\mu m^3}$, a partir dos parâmetros de ajuste R_{HS} e ϕ .

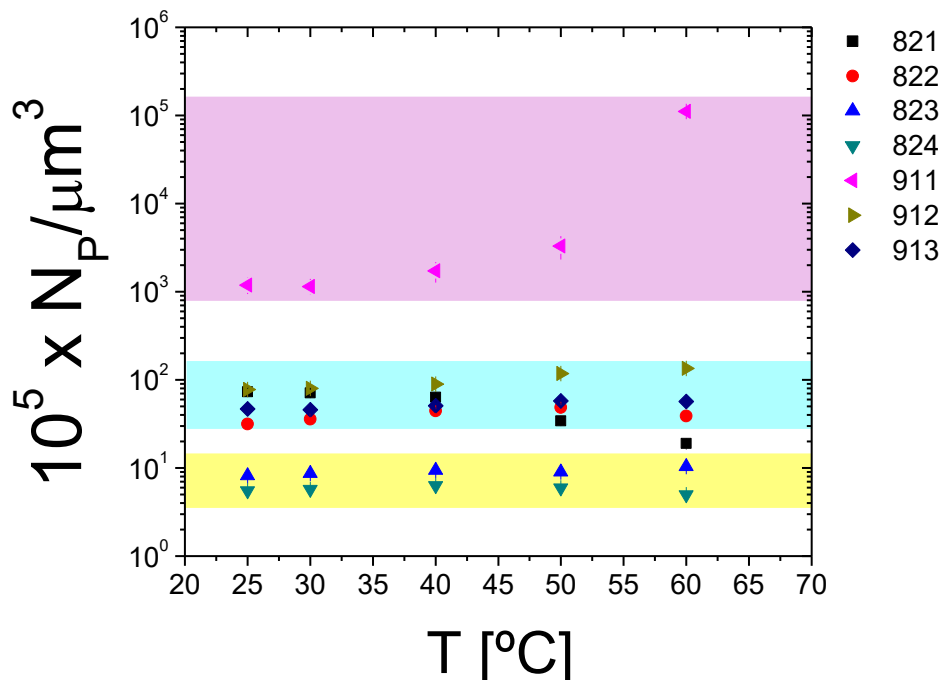


Tabela 3.5 – Valores do parâmetro $\frac{N_p}{\mu m^3}$ calculado a partir dos parâmetros R_{HS} e ϕ .

Temperatura (°C)	821		822		823		824		911		912		913	
	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$	$\frac{N_p}{\mu m^3}$	$Erro\left(\frac{N_p}{\mu m^3}\right)$
25	73,2	5,5	31,5	0,9	8,21	0,10	5,51	0,12	1189	250	77,5	2,6	46,8	1,8
30	71,2	5,8	35,7	1,3	8,72	0,10	5,70	0,11	1141	220	79,8	2,7	45,6	1,7
40	63,4	6,6	44,4	2,0	9,41	0,21	6,31	0,11	1716	450	89,4	3,5	50,9	2,1
50	34,2	3,9	48,6	2,7	9,03	0,21	5,93	0,13	3303	990	118,3	5,6	57,7	2,8
60	18,9	2,6	38,7	2,1	10,41	0,31	5,02	0,14	111255	13650	134,8	7,5	56,7	2,8

Constatou-se também na Figura 3.20, que com o aumento da temperatura, a densidade de partículas para as séries 8:2:2, 8:2:3, 8:2:4, 9:1:2 e 9:1:3 não mudam significativamente. Contudo, o mesmo não acontece com as séries 8:2:1 e 9:1:1. A primeira apresenta uma diminuição de praticamente uma ordem de grandeza conforme o aumento da temperatura, enquanto a segunda apresenta um aumento de cerca de duas ordens de grandeza à medida que a temperatura aumenta.

3.6 CONCLUSÕES

A partir dos dados de SAXS foi possível obter informações estruturais sobre as microemulsões estudadas e observar tendências nos valores dos parâmetros de ajuste conforme a temperatura dos sistemas aumenta. De maneira geral, as partículas que formam a microemulsão são globulares, ligeiramente anisotrópicas e do tipo *core-shell*. Contudo, o contraste eletrônico entre as camadas que formam a partícula é bastante baixo, o que torna difícil a determinação precisa da sua estrutura interna. A maior densidade de partículas foi encontrada para a série 9:1:1, que é aquela que possui também a maior quantidade de surfactante e a menor quantidade de água, enquanto a menor densidade foi encontrada para as séries 8:2:3 e 8:2:4, que possuem a menor quantidade de surfactante e a maior quantidade de água.

3.7 REFERÊNCIAS

BRUNNERPOPELA, J.; GLATTER, O. Small-angle scattering of interacting particles .1. Basic principles of a global evaluation technique. **Journal of Applied Crystallography**, v. 30, p. 431-442, 1997.

CHEN, S. H. SMALL-ANGLE NEUTRON-SCATTERING STUDIES OF THE STRUCTURE AND INTERACTION IN MICELLAR AND MICROEMULSION SYSTEMS. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 37, p. 351-399, 1986.

FANUN, M. Microstructure of Mixed Nonionic Surfactants Microemulsions Studied By SAXS and DLS. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 115-123, 2009.

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**, v. 180, n. 1-2, p. 173-186, 2001.

GLATTER, O. X-RAY SMALL-ANGLE SCATTERING OF MOLECULES COMPOSED OF SUBUNITS. **Acta Physica Austriaca**, v. 36, n. 4, 1972.

_____. NEW METHOD FOR EVALUATION OF SMALL-ANGLE SCATTERING DATA. **Journal of Applied Crystallography**, v. 10, n. OCT1, 1977.

GUINIER, A.; FOURNET, G. **Small-Angle Scattering of X-rays**. New York, USA: Wiley, 1955.

OLIVEIRA, C. L. P. Investigating Macromolecular Complexes in Solution by Small Angle X-Ray Scattering. In: CHANDRASEKARAN, A. (Ed.). **Current Trends in X-Ray Crystallography**: InTech, 2011. cap. 16, p.367-391.

OLIVEIRA, C. L. P.; BEHRENS, M. A.; PEDERSEN, J. S.; ERLACHER, K.; OTZEN, D.; PEDERSEN, J. S. A SAXS Study of Glucagon Fibrillation. **Journal of Molecular Biology**, v. 387, n. 1, 2009.

OLIVEIRA, C. L. P. D.; PEDERSEN, J. S. **Program package for data treatment, analysis and modeling** 2009.

OSELIERO FILHO, P. L. **Estudo estrutural e termodinâmico de sistemas auto-organizados: micelas em solução**. 2013. (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

PEDERSEN, J. S. Analysis of small-angle scattering data from colloids and polymer solutions: modeling and least-squares fitting. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 70, 1997.

SCHNABLEGGER, H.; SINGH, Y. **The SAXS guide. Getting acquainted with the principles**. 3. Austria: Anton Paar GmbH, 2013. 124.

YAGHMUR, A.; DE CAMPO, L.; ASERIN, A.; GARTI, N.; GLATTER, O. Structural characterization of five-component food grade oil-in-water nonionic microemulsions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 6, n. 7, p. 1524-1533, 2004.

CAPÍTULO 4:

Incorporação de extrato de betalaina em uma microemulsão e subsequente encapsulação por coacervação complexa

Trabalho submetido à revista Journal of Food Science and Technology

Incorporation of betalain extract in a microemulsion and subsequent encapsulation by complex coacervation

Cano-Higuita, D. M.^{1*}; Fuzetti, C. G.¹; Villa-Vélez, H. A.²; Telis, V. R. N.¹

¹ Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, IBILCE/UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2265, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

² Curso de Engenharia Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologias, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, CEP: 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

* **Corresponding author:** Cano-Higuita, D. M. Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, IBILCE/UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2265, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil. Phone: +55 (98) 981466693, e-mail: dianacanoiguita@gmail.com.

ABSTRACT

Betalains extracted from beetroot present recognized antioxidant activity, and their stability is influenced by light, oxygen, water activity, pH and temperature. Encapsulation may increase betalain shelf life, as well as to facilitate its incorporation in dry products. The objective of this work was to incorporate betalain extract in a food grade microemulsified system and evaluating subsequent production of microcapsules by complex coacervation of gelatin and gum Arabic. Different contents of betalain extract were incorporated in the aqueous phase of the microemulsion, which showed to be stable and was used to produce freeze-dried microcapsules. Particle size distribution, morphology, betalain retention, and color parameters were measured, in addition to a storage stability test to evaluate degradation of the dye under controlled conditions of temperature and relative humidity. After 48 days, 62 % betalain retention was observed, with slight color changes.

Keywords: red beet, microencapsulation, particle size distribution, color, storage stability

4.1 INTRODUCTION

The substitution of artificial food colorants by natural dyes is an ongoing trend that results from increased consumer pressure for "natural" products. Nevertheless, this is a difficult task for food manufacturers since natural dyes are generally less stable when subjected to heat, light, oxygen, and when interacting with other ingredients, resulting in development of undesirable colors and flavors. As a counterbalance, a compelling feature of natural pigments is that many of them can provide health benefits through their functional properties, allowing their use not only as food coloring agents but also as substances that promote health and disease prevention (DOWNHAM; COLLINS, 2000; WROLSTAD; CULVER, 2012).

Betalains are a class of natural pigments that comprise the betacyanins, responsible for purple to violet color, and betaxanthins, which are yellow to orange colorants (SWARNA et al., 2013). These pigments are water-soluble, stable between pH 3 and 7, and suitable for the staining of low acid foods (STINTZING; CARLE, 2004). Their use has properties beneficial to human health, such as antioxidant and anti-inflammatory activities (KAPADIA et al., 2003; LU et al., 2009).

The industry needs technologies to protect natural pigments due to their instability in the presence of light, air, humidity and high temperatures. Several microencapsulation studies have been carried out with the intention of protecting, facilitating handling during processing, and ensuring bioavailability of natural dyes through the use of biopolymer coating or entrapment, which improves retention of active principles and can define their release path. Ravichandran et al. (2014) encapsulated beet extract by lyophilization and spray drying using maltodextrin, pure and combined with other polysaccharides, and found that lyophilization was more efficient in retaining betalains than spray drying. Janiszewska (2014) evaluated the stability of betalain extract by encapsulating it in maltodextrin, gum Arabic, and a mixture of

both materials by spray drying and observed that the capsules formulated with gum Arabic remained stable for a longer period of time because of the lower hygroscopicity of gum Arabic than that of maltodextrin. Otálora et al. (2015) microencapsulated betalains from cactus fruit by spray drying using maltodextrin and cladode mucilage as carrier agents and evaluated storage stability at 18°C and different relative humidities, whereas (OTÁLORA et al., 2016) studied encapsulation of betalains in beads of calcium alginate and bovine serum albumin produced by ionic gelation.

Complex coacervation is an encapsulation technique based on the phase separation that occurs when oppositely charged polyelectrolytes are electrically balanced in aqueous media. This physical-chemical phenomenon depends on a set of conditions, such as pH, polymer concentration, ionic strength of the medium, and temperature (THIMMA; TAMMISHETTI, 2003). Microencapsulation by complex coacervation is particularly suitable when the aim is controlling the release of the agent, because this process produces a true capsule, completely protecting the active material inside the wall material (SANTOS et al., 2015). The initial step in the process of complex coacervation involves the emulsification of the core material, which is usually oil or an oil-soluble compound, in the aqueous dispersion of the biopolymer blend. This requires hydrophilic core materials, such as betalains, being previously incorporated in a primary emulsion, which in turn, will be emulsified in the wall material dispersion (ALVIM; GROSSO, 2010; COMUNIAN et al., 2013; ZUANON et al., 2013).

Microemulsions are colloidal dispersions of oil and water stabilized by surfactant molecules, generally including a cosurfactant, forming optically isotropic, clear and thermodynamically stable liquid dispersions, with nearly uniform spherical droplets having diameters between 8 to 80 nm and not requiring high inputs of energy or shear conditions for their formation (HOAR; SCHULMAN, 1943; DANIELSSON; LINDMAN, 1981). Food-grade microemulsions are difficult to formulate because the complexity of food systems and the need for all the components being approved to food applications, which limits the choice of components (GARTI et al., 2001). Compared to normal, unstable emulsions, the spontaneously formed microemulsions have good resistance to heating as well as long term stability due to the small droplet sizes (MOULIK; PAUL, 1998).

Several studies have been carried out with food grade surfactants in the formulation of microemulsions in which the main focus is the pharmaceutical area (DJORDJEVIC et al., 2004; DJEKIC et al., 2011), microbiological applications (ZHANG et al., 2009), and controlled delivery of hydrophilic compounds (CHATZIDAKI et al., 2016; KHEMAKHEM et al., 2016; RAVANFAR et al., 2016) but without promoting further processing of microemulsions into dried microcapsules. Taking into account that microemulsions are particularly attractive due to their thermodynamic stability and translucent aspect, resembling the appearance of edible oils, the present investigation aimed to evaluate possible incorporation of the natural dye betalain in a microemulsified system and its subsequent microencapsulation by complex coacervation, in order to produce dried microcapsules. A complimentary interest was to study the physicochemical properties and stability of betalains in this unconventional system.

4.2 MATERIAL AND METHODS

4.2.1 Materials

Microemulsions and microcapsules were formulated using betalain extract donated by Danisco S.A. (Danisco, São Paulo, Brazil), gelatin of 240 bloom (Gelita, Mococa, Brazil), gum Arabic (Dynamics Química Contemporânea Ltda., São Paulo, Brazil), soybean oil (Cargill, Barreiras, Brazil), sorbitan monooleate (Span 80) with hydrophilic lipophilic balance (HLB) of 4.3, polysorbate 80 (Tween 80) with HLB of 15 (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brazil), propylene glycol with purity of 99.5% (Synth, Diadema, Brazil), and water purified by Milli-Q 3 system (Millipore, Milford, USA).

4.2.2 Preparation of microemulsions

The microemulsions were prepared based on the results of a previous work (CANO-HIGUITA et al., 2017) and consisted of 51.2 g/100 g Tween 80, 6.4 g/100 g Span 80, 6.4 g/100 g propylene glycol, 16 g/100 g soybean oil, and 20 g/100 g of aqueous phase. The

aqueous phase was composed by water partly substituted by 10 to 50 % (w/w) of betalain extract.

4.2.3 Microencapsulation by complex coacervation

The preparation of the microcapsules by complex coacervation was performed according to the methodology described by Mendanha et al. (2009) with some modifications. The obtained microemulsion was added to a solution of gelatin (5.91 g/100 mL) and mechanically shaken with ultraturrax (IKA T25 D, Staufen, Germany) at 15000 rpm for 5 min. Thereafter, a solution of gum Arabic (5.79 g/100 mL) was added and the mixture was diluted with water (twice the volume of the system). The mass ratio between gelatin and gum Arabic was maintained at 1:1, and the amount of microemulsion added (53.14 g) was kept constant, representing 100 % (w/w) relative to the wall material amount in the coacervation medium. The added amounts of each polymer were calculated by discounting their respective moisture. Temperature was kept around 50 °C throughout this process.

To promote coacervation the pH was adjusted to 4.0 ± 0.01 with hydrochloric acid (0.5 M) under magnetic stirring and the suspension was cooled (ice bath) until it reaches 10 °C. The material was then protected from light by covering the flask with aluminum foil and stored in a cold chamber at 3 °C for 24 h for complete precipitation of particles.

For drying of the material, the excess water was removed, the solid fraction was placed in stainless steel trays of 14 × 25 cm previously lined with aluminum foil, frozen at -40 °C for 24 hours in a freezer (model VF-500, Liotop, São Carlos, Brazil), and freeze-dried in a tray lyophilizer (Labconco, Bulk Tray Dryer, Kansas City) operating at 4 Pa. The dried samples were grinded using pestle and mortar, packaged and stored in desiccator.

4.2.4 Characterization of the microcapsules

4.2.4.1 Color measurements

Color analyzes were performed on a CR-5 (Konica Minolta, Ramsey, New Jersey, USA) colorimeter with a 10° observer and D65 illuminant, measuring the parameter L (lightness) and chromatic coordinates a ($+a$ = red; $-a$ = green), and b ($+b$ = yellow, $-b$ = blue). These parameters were used to calculate the color saturation (C) and the chromatic hue angle (h) according to the Eqs. (4.1) and (4.2)

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (4.1)$$

$$h = \text{tg}^{-1} \left(\frac{b}{a} \right) \quad (4.2)$$

4.2.4.2 Particle size distribution

Particle size distribution was measured by laser light diffraction with dry dispersion unit (model Mastersizer 2000, Malvern Instruments, UK) using powder samples of about 1 g. Analyses were carried out with four replicates for each freeze-dried sample. Particle size was expressed as the mean volumetric size $D_{[4,3]}$ (De Brouckere mean diameter), i.e. the mean diameter of those particles which constitute the majority of the sample volume (Eq. 4.3).

$$D_{[4,3]} = \frac{\sum_i z_i D_i^4}{\sum_i z_i D_i^3} \quad (4.3)$$

in which z_i is the number of droplets with diameter D_i .

4.2.4.3 Scanning electron microscopy (SEM)

Encapsulated samples were immobilized in an appropriate support with a conductive adhesive tape, coated with gold in a sputter coater (Polaron SC7620, Oregon, US), and examined with a scanning electron microscope (MEV XL30 FEG, SEM Electron Microscopy

Ltd. US) at 5kV and 500× magnification. The acquisition of the images was performed by LEO software, version 3.01.

4.2.4.4 Quantification of total betalains in the microcapsules

Assays with different pH values (in the range of 3 to 7, with increments of 0.5) were carried out in order to determine the optimum pH for quantification of total betalains present in the microcapsules. The tested range was defined taking into account the stability of betalains (STRACK et al., 2003). The best pH resulted to be 5.5, equal to the value found by Huang and Elbe (1985) and Montes-Lora et al. (2016). An aliquot of 3 g of microcapsules was weighed into a 25 mL flask, adding 12.5 mL of buffer solution pH 5.5 and 12.5 mL of methanol solution (methanol-water 1:1). The flask was capped and placed in a water bath at 40 °C for 2 minutes. Thereafter, it was vortexed for 2 minutes until the capsules were completely dissolved, following by centrifugation $10,414 \times g$ for 15 minutes at 40 °C. The supernatant was poured into a beaker, which was placed in a water bath at 40 °C for 4 minutes, and subjected to absorbance readings at wavelengths of 480 nm, 538 nm, and 600 nm. The reference cuvette was filled with half buffer solution at pH 5.5 and half methanol solution (methanol-water 1:1). The betalain content (*BC*) in mg/L was calculated by Eq. (4.4) (STINTZING et al., 2005):

$$BC = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{e \times l} \quad (4.4)$$

in which *A* is the absorption value corresponding to the absorption peak at 600 nm, *DF* is the dilution factor, and *l* is the optical path (1 cm) of the cuvette. For quantification of betacyanins and betaxanthins, the molar masses (*MW*) and molar extinction coefficients (*e*) of betanin [*MW* = 550 g/mol, *e* = 60,000 L/(mol cm) in H₂O, λ = 538 nm] and indicaxanthine [*MW* = 308 g/mol; *e* = 48,000 L/(mol cm) in H₂O: λ = 480 nm] were applied. All measurements were performed in triplicate using a UV-vis spectrophotometer (model SP-220, Biospectro, Brazil).

4.2.4.5 Powder storage

The samples with 30 % of betalain extract showed the highest efficiency were selected for the stability assay. Aliquots of the powder were weighed (about 9 g) in disposable polypropylene cups and stored in sealed desiccator containing saturated MgCl_2 solution, which results in constant relative humidity of 33 ± 2 %, placed in the absence of light at constant temperature (30 ± 1 °C). Powders were stored for 2 months and samples were withdrawn every 5 days for betalain content, color, and moisture analysis. The betalain retention during storage was calculated by Eq. (4.5):

$$\text{Betalain retention (\%)} = \frac{BC_t}{BC_0} \times 100 \quad (4.5)$$

in which index t refers to storage time and the index 0 refers to the initial betalain content in the microcapsules, determined just after freeze-drying.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

The incorporation of betalains in the microemulsion showed to be possible in the range of 10 to 50 % of aqueous phase substitution for betalain extract. In this range, the resulting microemulsions acquired a pink coloration but remained transparent, with no destabilization. Feasibility of further microencapsulation by complex coacervation was evaluated analyzing color, size, and morphology of the freeze-dried microcapsules.

4.3.1 Color measurements

The color parameters of samples with substitution of the aqueous phase for 10, 20, 30, 40, and 50 % of betalain extract can be observed in Table 4.1, whereas images of the correspondent microcapsules are presented in Figure 4.1. The luminosity (L) was higher in the sample with low content of betalain and significantly decreased with increasing content of

betalain extract in the encapsulated microemulsion. In the same way, the hue angle (h) decreased with increasing betalain content.

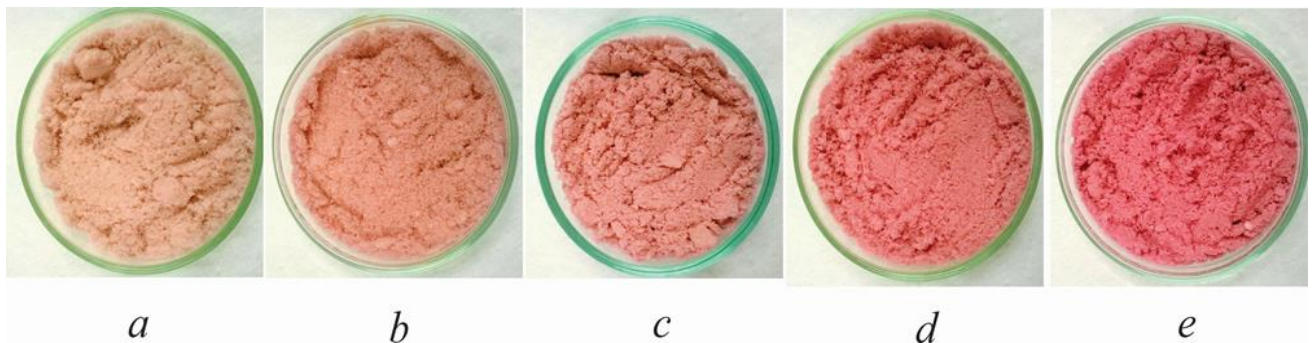
Table 4.1. Mean diameter $D[4,3]$, retention of betalain and color parameters of the freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase.

% Betalain extract in microemulsion aqueous phase*	$D_{[4,3]}$ average diameter (μm)*	% Retention betalain†	Color parameters*				
			L	a	b	C	h
10	602.9 ± 0.9^a	54.57 ± 1.13	64.67 ± 0.01^a	8.98 ± 0.01^a	6.66 ± 0.01^a	11.17 ± 0.01^a	36.56 ± 0.08^a
20	636.1 ± 14.7^a	45.07 ± 0.12	59.27 ± 0.04^b	12.13 ± 0.02^b	6.51 ± 0.03^b	13.77 ± 0.03^b	28.22 ± 0.05^b
30	566.2 ± 7.5^{ba}	70.73 ± 0.39	60.57 ± 0.03^c	13.53 ± 0.00^c	4.77 ± 0.01^c	14.34 ± 0.005^c	19.42 ± 0.06^c
40	430.1 ± 13.7^{cb}	35.94 ± 0.32	56.83 ± 0.01^d	17.14 ± 0.01^d	3.80 ± 0.01^d	17.56 ± 0.01^d	12.51 ± 0.01^d
50	570.9 ± 36.3^{ab}	48.56 ± 0.43	53.47 ± 0.09^e	20.40 ± 0.01^e	2.30 ± 0.02^e	20.54 ± 0.01^e	6.44 ± 0.07^e

* The means followed by different letters in the same column differs statistically (Tukey test, $p < 0.05$) for the mean diameter between the betalain contents. *Mean $\pm$ standard deviation of the triplicate. †Mean $\pm$ standard deviation of the duplicate.

Taking into account the reference values $h = 0^\circ$ for red and $h = 90^\circ$ for yellow, it is possible to state that the red tone became more prominent than the yellow one when the betalain extract concentration in the microemulsion increased from 10 to 50 %. This trend is also clearly observed analyzing the behavior of parameters a and b . The increase in chroma values (C) indicated that the color of microcapsules became more vivid when a higher portion betalain extract was incorporated in the microemulsion.

Figure 4.1 – Images of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (a) 10 %; (b) 20 %; (c) 30 %; (d) 40 %; (e) 50 %.



Janiszewska (2014) reported values of a varying from 33.6 to 36.9 and b in the range of -4.95 to 3.5 for spray dried betalain powders using maltodextrin and gum Arabic as carriers and correlated the color of powders with the carrier color and with content of the yellow pigment vulgaxanthin-I in powders, with positive b corresponding to higher vulgaxanthin-I content.

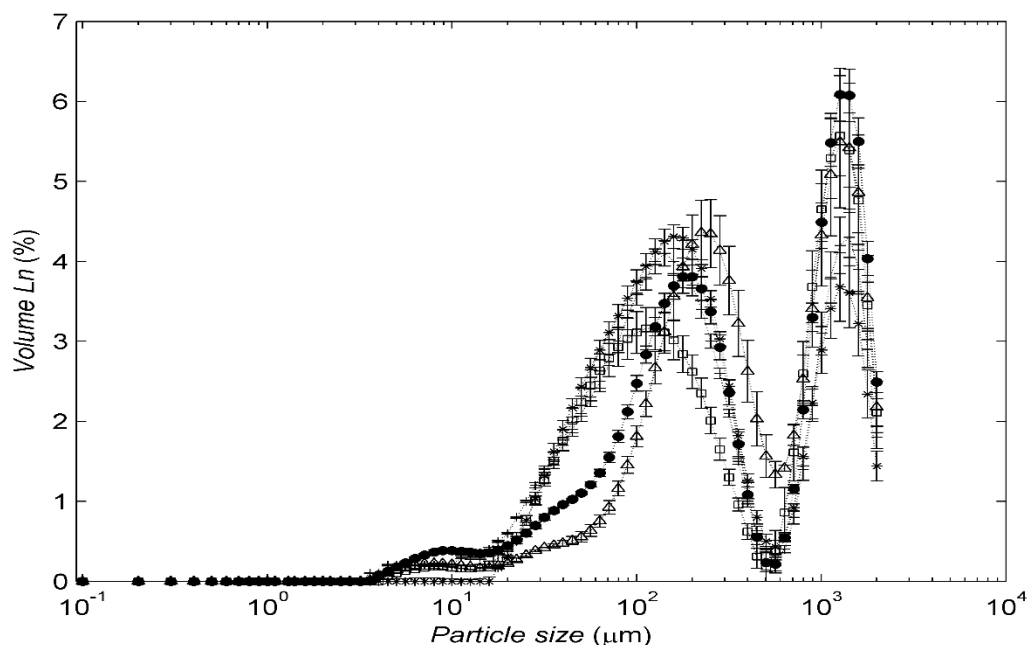
4.3.2 Particle size distribution

The particle size distribution curves (Figure 4.2) show that the samples have a bimodal behavior (with two different peaks), with no visible differences between the powders prepared with different contents of betalain extract. The first peak corresponds to a mean particle diameter in the range of 5 – 369 μm and the second one corresponds to an average diameter of about 709 – 2000 μm .

The average value of $D_{[4,3]}$ (Table 4.1) varied from 430 to 636. The relatively high particle size and the broad size distribution may be due to the encapsulation method, since microcapsules obtained by complex coacervation have been reported with average sizes between 2 and 1200 μm (GHOSH, 2006).

In addition, the size distribution in freeze-dried particles depends on the grinding process. In the present work, the samples were not sieved after maceration and, consequently, the particle size was heterogeneous, although it is interesting to observe the similar particle size and average size distribution obtained for the samples with 10%, 20%, 30% and 50% of betalain extract, the sample with 40% showed a significant difference with respect to the other samples analyzed. Cano-Higueta et al. (2015) also obtained particle sizes varying from 3 μm to 1906 μm for lyophilized microcapsules of curcuma oleoresin in different encapsulation matrices.

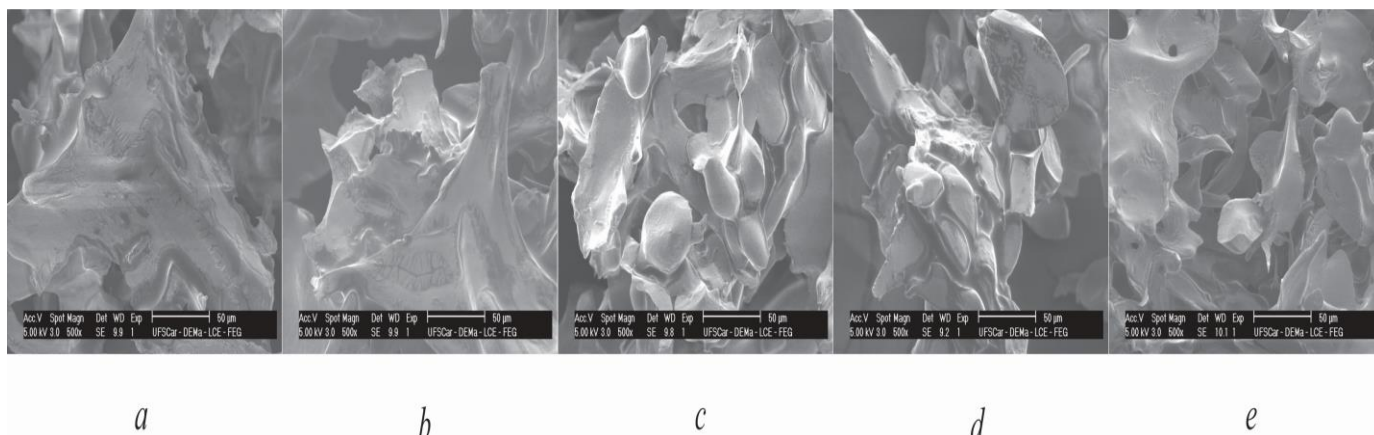
Figure 4.2 – Particle size distribution of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (●) 10%; (Δ) 20%; (□) 30%; (*) 40%; (+) 50%.



4.3.3 Particle morphology

Similarly as in the case of particle size distribution, the morphological aspects of lyophilized powders are highly affected by the grinding procedure that is usually necessary after drying. SEM images of the dried microcapsules (Figure 4.3) showed that freeze-drying led to irregular particles that resembled flakes, reflecting the result of grinding. Nevertheless, it is possible to observe some round formations and absence of cracks and pores, which are probably due to the coacervation process and indicate a good encapsulation of the oil phase.

Figure 4.3 Micrographs (500x magnification) of freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation with different % of betalain extract in the microemulsion aqueous phase. (a) 10 %; (b) 20 %; (c) 30 %; (d) 40 %; (e) 50 %.



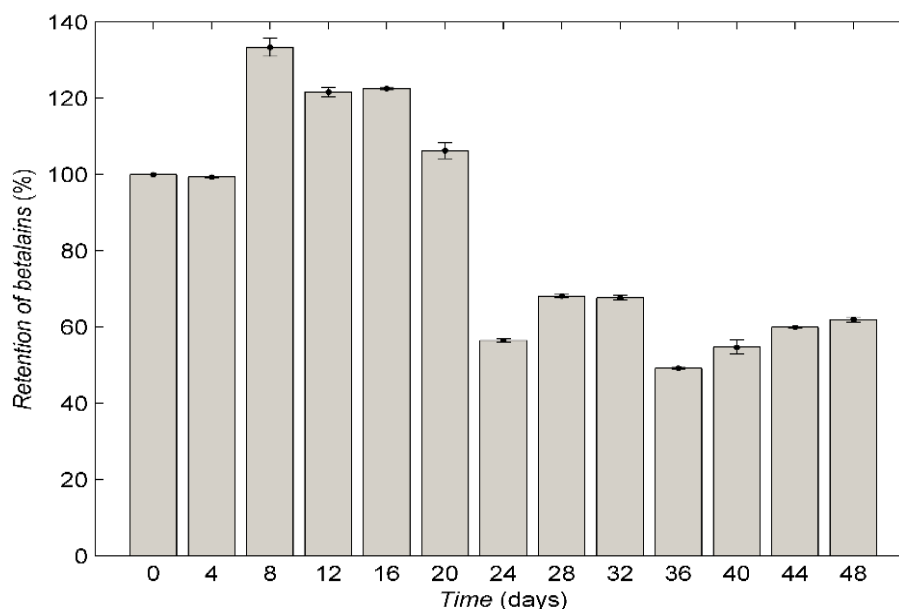
4.3.4 Betalain retention during storage of microcapsules

Storage stability of microencapsulated betalain was investigated in freeze-dried capsules produced by complex coacervation of microemulsion with substitution of 30 % of the aqueous phase by betalain extract. The samples were stored at 30 °C and 33 % relative humidity, in the absence of light.

The total betalain content in the extract added to microemulsion was 4.533 mg/mL, whereas the betalain content in the freeze-dried microcapsules just after production (BC_0) was 0.242 mg/g dry matter. Pitalua et al. (2010) produced spray-dried betalain microcapsules and reported a lower betalain content in the powder, of about 0.120 mg/g. On the other hand, Janiszewska (2014) obtained more concentrated spray-dried powders, containing 1.09 to 1.29 mg/g of betanin and 0.34 to 0.61 mg/g of vulgaxanthin-I. It is important to note that the betalain content in the dried microcapsules depends not only on the production process, but also mainly on the betalain content in the core material used, as well as on the microcapsules formulation.

The betalain retention, calculated using Eq. (4.5) (Figure 4.4), as well as the color parameters are shown in Table 4.2 and Figure 4.4. After storage during 48 days, the betalain content in the microcapsules decreased to about 62 % of the initial content.

Figure 4.4. Total betalain retention in freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation of microemulsion containing 30 % betalain extract and stored at 25 °C and 33 % relative humidity.



The decrease in betalain content in the samples may be due to hydrolysis reactions in which the formation of CDG (cyclodopa-D-glucoside) and BA (betalamic acid) occurs. The degradation involves a Schiff's base condensation of the amine of CDG with the aldehyde, forming intermediate compounds in the reaction of Maillard (PASCH; VAN ELBE, 1975; HUANG; ELBE, 1987; HERBACH et al., 2004), which modified the color of the samples making them darker. According to Tukey's analysis, there is no significant difference between the 44 and 48 days, when the betalain retention remained essentially constant.

Table 4.2. Color parameters, moisture content and total betalain retention in freeze-dried microcapsules produced by complex coacervation of microemulsion containing 30 % betalain extract and stored at 25 °C and 33 % relative humidity.

Time (days)	Betalain retention (%) †	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h</i>	ΔE	Moisture content (% d.b.)
0	100.0 ^d	64.5±0.0 ^a	12.9±0.0 ^g	44.0±0.0 ^d	0	3.5±0.2 ^l
4	99.3±0.1 ^{cd}	61.9±0.0 ^{fg}	13.8±0.0 ^e	36.3±0.0 ^l	3.24±0.01	15.1±0.1 ^j
8	133.4±2.3 ^a	63.3±0.0 ^c	13.2±0.0 ^f	38.7±0.0 ^k	1.75±0.03	17.0±0.0 ^f
12	121.7±1.2 ^b	61.4±0.0 ^h	14.3±0.0 ^c	39.0±0.1 ^j	3.54±0.01	16.2±0.1 ^h
16	122.5±0.4 ^b	64.0±0.0 ^b	13.2±0.0 ^f	43.6±0.1 ^e	0.56±0.02	16.5±0.1 ^g
20	106.2±2.0 ^c	61.2±0.0 ⁱ	14.3±0.0 ^c	39.7±0.0 ⁱ	3.68±0.03	17.6±0.1 ^d
24	56.5±0.4 ^{fg}	61.3±0.0 ⁱ	14.5±0.0 ^a	41.6±0.0 ^h	3.63±0.02	18.1±0.1 ^c
28	68.2±0.4 ^e	61.2±0.0 ⁱ	14.6±0.0 ^a	42.4±0.1 ^g	3.67±0.05	18.4±0.0 ^b
32	67.7±0.5 ^e	61.9±0.0 ^f	14.4±0.0 ^b	42.9±0.0 ^f	2.93±0.04	17.3±0.1 ^e
36	49.2±0.2 ^g	61.9±0.0 ^{fg}	14.4±0.0 ^b	43.8±0.0 ^d	2.96±0.01	19.1±0.2 ^a
40	54.7±1.8 ^{fg}	61.8±0.0 ^g	14.3±0.0 ^c	44.8±0.1 ^b	2.99±0.02	14.4±0.4 ^k
44	60.0±0.1 ^{ef}	62.1±0.0 ^e	14.4±0.0 ^b	45.1±0.0 ^a	2.81±0.03	15.1±0.2 ^j
48	62.0±0.6 ^{ef}	62.0±0.0 ^d	14.0±0.0 ^d	44.4±0.1 ^c	2.14±0.02	15.3±0.3 ⁱ

† Mean ± standard error (n = 2), * Mean ± standard deviation of color parameters (n = 3). Means followed by different letters on the same column differ statistically (Tukey test $p < 0.05$) for each treatment.

According to Serris and Biliaderis (2001), it is possible that water absorption in the matrix may alter the oxygen barrier properties, making the stability of the encapsulated dye highly dependent on the storage conditions (temperature and relative humidity). This effect was evidenced in their evaluation of the degradation kinetics of the beetroot pigment encapsulated in different polymer matrices at different temperatures and relative humidity. Pitalua et al. (2010) investigated the betalain degradation during storage of spray-dried microcapsules produced with gum Arabic in different relative humidity conditions. After storage at 30 °C for 44 days, these authors observed that degradation was highly dependent on the equilibrium water activity: at a_w of 0.110 almost 80 % of betalain retention was observed after 44 days, but only 35 % remained after 23 days at a_w of 0.898. On the other hand, Vergara et al. (2014) considered that the degradation mechanism associated to increased

permeability induced by moisture uptake would be negligible in comparison to hydrolysis, which was confirmed in their work by detecting, by HPLC, CDG and BA as reaction products during accelerated storage stability test (60 °C) of spray-dried powders containing betalain from cactus pear. Nevertheless, the temperature difference of 30 °C could be an important factor to be taken into account.

In the present work, it is important to observe that just after drying, the microcapsules had a low moisture content (3.5 % d.b.), but during the storage test, samples had a considerable increase in moisture, with some oscillations and a final moisture value of 15.3 % d.b. after 48 days. Over the course of days, compacted particles were observed due to moisture uptake. The hygroscopic behavior of the microcapsules may contribute to both degradation mechanisms, i.e. hydrolysis and increasing permeability of the capsule wall. Otálora et al. (2016) encapsulated betalain extract obtained from purple cactus fruit through ionic gelation of calcium alginate/bovine serum albumin and concluded that the most important factor for stability of betalains during storage was the relative humidity. These authors observed betalain retention in microcapsules varying from 27.6 to 38.8 % after 25 days of storage at 25 °C and relative humidity of 34.6 %, which represented a faster degradation than the observed in the present work.

The color parameters changed slightly during storage (Table 4.2). Lightness decreased from time 0 ($L = 64.47$) until day 12 ($L = 61.4$) and then remained almost constant up to the 48 days. The parameters a , b , C and h showed slight changes, resulting in a small increase in yellowness (higher b and h). This could be a result from increasing concentration of degradation products in the samples. As discussed above, the hydrolysis of betalains would generate CDG and BA, which are colorless and yellow, respectively (VERGARA et al., 2014). Values of ΔE (Table 4.2) shows a pronounced alteration of the samples on days 8 and 16, attributed to the high heterogeneity presented in the samples compared with the others days where the changes were more gradatives.

4.4. CONCLUSIONS

Incorporation of betalain extract in a food grade microemulsion followed by complex coacervation showed to be a feasible method for microencapsulation of the hydrophilic compound. The freeze-dried microcapsules showed a pink coloration that varied with the percentage of betalain extract incorporated in the microemulsion. Microcapsules produced with replacement of 30 % of the aqueous phase by betalain extract resulted in betalain retention of 62% after 48 days, with slight changes in the color parameters. The present investigation raise new possibilities for application of microemulsions as delivery systems in the food industry.

4.5. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for the support with the doctoral scholarship (Process number: 2013/14371-0).

4.6. REFERENCES

- ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 1069-1076, 2010.
- CANO-HIGUITA, D. M.; MALACRIDA, C. R.; TELIS, V. R. N. Stability of Curcumin Microencapsulated by Spray and Freeze Drying in Binary and Ternary Matrices of Maltodextrin, Gum Arabic and Modified Starch. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 2049-2060, 2015.

CHATZIDAKI, M. D.; MATEOS-DIAZ, E.; LEAL-CALDERON, F.; XENAKIS, A.; CARRIERE, F. Water-in-oil microemulsions versus emulsions as carriers of hydroxytyrosol: an in vitro gastrointestinal lipolysis study using the pHstat technique. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2258-2269, 2016.

COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G.; DE MATOS JUNIOR, F. E.; DE CARVALHO BALIEIRO, J. C.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 373-379, 2013.

DANIELSSON, I.; LINDMAN, B. The definition of microemulsion. **Colloids and Surfaces**, v. 3, n. 4, p. 391-392, 1981.

DJEKIC, L.; PRIMORAC, M.; JOCKOVIC, J. Phase behaviour, microstructure and ibuprofen solubilization capacity of pseudo-ternary nonionic microemulsions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 160, n. 2, p. 81-87, 2011.

DJORDJEVIC, L.; PRIMORAC, M.; STUPAR, M.; KRAJISNIK, D. Characterization of caprylocaproyl macrogolglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphiphilic drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 271, n. 1–2, p. 11-19, 2004.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 5-22, 2000.

GARTI, N.; YAGHMUR, A.; LESER, M. E.; CLEMENT, V.; WATZKE, H. J. Improved Oil Solubilization in Oil/Water Food Grade Microemulsions in the Presence of Polyols and Ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2552-2562, 2001.

GHOSH, S. K. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. In: (Ed.). **Functional Coatings**: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006. p.1-28.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Impact of Thermal Treatment on Color and Pigment Pattern of Red Beet (*Beta vulgaris* L.) Preparations. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 6, p. C491-C498, 2004.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. **Nature**, v. 152, p. 102-103, 1943.

HUANG, A. S.; ELBE, J. H. V. Kinetics of the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 4, p. 1115-1120, 1985.

_____. Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 6, p. 1689-1693, 1987.

JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190-196, 2014.

KAPADIA, G. J.; AZUINE, M. A.; SRIDHAR, R.; OKUDA, Y.; TSURUTA, A.; ICHIISHI, E.; MUKAINAKE, T.; TAKASAKI, M.; KONOSHIMA, T.; NISHINO, H.; TOKUDA, H. Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. **Pharmacological Research**, v. 47, n. 2, p. 141-8, 2003.

KHEMAKHEM, M.; SOTIROUDIS, G.; MITSOU, E.; AVRAMIOTIS, S.; SOTIROUDIS, T. G.; BOUZOUITA, N.; PAPADIMITRIOU, V. Melanin and humic acid-like polymer complex from olive mill waste waters. Part II. Surfactant properties and encapsulation in W/O microemulsions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 222, p. 480-486, 2016.

LU, X.; WANG, Y.; ZHANG, Z. Radioprotective activity of betalains from red beets in mice exposed to gamma irradiation. **European Journal Pharmacology**, v. 615, n. 1-3, p. 223-7, 2009.

MENDANHA, D. V.; MOLINA ORTIZ, S. E.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1099-1104, 2009.

MONTES-LORA, S.; HURTADO, N.; MOSQUERA, N.; HEREDIA, F. J.; CEJUDO-BASTANTE, M. J. Effect of technological practices on individual betalains and antioxidant activity of Columbian betalain-rich raw materials. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, n. 4, p. 1041-1047, 2016.

MOULIK, S. P.; PAUL, B. K. Structure, dynamics and transport properties of microemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 78, n. 2, p. 99-195, 1998.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; NAZARENO, M. A.; OSORIO, C. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 187, p. 174-181, 2015.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; OSORIO, C.; NAZARENO, M. A. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, v. 202, p. 373-382, 2016.

PASCH, J. H.; VAN ELBE, J. H. Betanine degradation as influenced by water activity **Journal of Food Science**, v. 40, n. 6, p. 1145-1147, 1975.

PITALUA, E.; JIMENEZ, M.; VERNON-CARTER, E. J.; BERISTAIN, C. I. Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, n. 2-3, p. 253-258, 2010.

RAVANFAR, R.; TAMADDON, A. M.; NIAKOUSARI, M.; MOEIN, M. R. Preservation of anthocyanins in solid lipid nanoparticles: Optimization of a microemulsion dilution method using the Placket-Burman and Box-Behnken designs. **Food Chemistry**, v. 199, p. 573-580, 2016.

RAVICHANDRAN, K.; PALANIRAJ, R.; SAW, N. M.; GABR, A. M.; AHMED, A. R.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **Journal Food Science Technology**, v. 51, n. 9, p. 2216-21, 2014.

SANTOS, M. G.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 171, p. 32-39, 2015.

SERRIS, G. S.; BILIADERIS, C. G. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 8, p. 691-700, 2001.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 1, p. 19-38, 2004.

STINTZING, F. C.; HERBACH, K. M.; MOSSHAMMER, M. R.; CARLE, R.; YI, W.; SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; BUNCH, R.; FELKER, P. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 247-269, 2003.

SWARNA, J.; LOKESWARI, T. S.; SMITA, M.; RAVINDHRAN, R. Characterisation and determination of in vitro antioxidant potential of betalains from *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4382-90, 2013.

THIMMA, R. T.; TAMMISHETTI, S. Study of complex coacervation of gelatin with sodium carboxymethyl guar gum: microencapsulation of clove oil and sulphamethoxazole. **Journal Microencapsulation**, v. 20, n. 2, p. 203-10, 2003.

VERGARA, C.; SAAVEDRA, J.; SÁENZ, C.; GARCÍA, P.; ROBERT, P. Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. **Food Chemistry**, v. 157, p. 246-251, 2014.

WROLSTAD, R. E.; CULVER, C. A. Alternatives to those artificial FD&C food colorants. **Annual Review Food Science Technology**, v. 3, p. 59-77, 2012.

ZHANG, H.; SHEN, Y.; WENG, P.; ZHAO, G.; FENG, F.; ZHENG, X. Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 3, p. 211-215, 2009.

ZUANON, L. A. C.; MALACRIDA, C. R.; TELIS, V. R. N. Production of Turmeric Oleoresin Microcapsules by Complex Coacervation with Gelatin–Gum Arabic. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, n. 3, p. 364-373, 2013.

5. CONCLUSÃO GERAL

Foi possível a formação de sete sistemas de microemulsão com proporções 9:1 e 8:2 com até 15% para a primeira proporção e 20% para a segunda identificados como O/W. As análises térmicas permitiram identificar os diferentes estados da água nas microemulsões, onde o 90% da água adicionada aos sistemas se encontrou como água não congelável, por médio das análises de calos específico foi possível determinar que não existem transições de fases o temperaturas de transição de fase, o que indica que as amostras foram estáveis nas faixas de temperatura analisadas 25-60°C, os resultados das análises de condutividade não permitiram elucidar o tipo de sistema encontrado devido a composição dos sistemas, alta concentração de surfactantes e quantidades de água e óleo similares, a análises qualitativa com o uso de corantes permitiu identificar as amostras como O/W por conta da rápida difusão do corante azul de metileno nas amostras, por médio das análises de SAXS foi possível determinar a forma das estruturas formadas como globulares e alongadas e como características de core-shell, com um tamanho máximo de até 90Å.

Com respeito as capsulas obtidas de betalaína por coacervação complexa foi possível obter capsulas de cor característico a cor de beterraba, com uma retenção de 70% quando foi substituído 30% da fase aquosa da microemulsão por extrato de betalaína, a morfologia das amostras foram típicas de amostras secas por liofilização sem poros ou rachaduras indicando boa cobertura do material ativo. No teste de estabilidade as amostras sofreram algumas mudanças na cor e na retenção devidas principalmente a temperatura e umidade relativa na qual foi feito o teste, reduzindo até 62% o valor da retenção inicial depois de 48 dias de teste. Embora o sistema no qual foi encapsulado a betalaína não é o convencional foi possível manter parte do princípio ativo nas amostras o que serve como referência para futuros trabalhos.

APÊNDICE I

**Estudo da formação de
microemulsões W/O utilizando
misturas de óleo de soja/surfactante
[Lecitina, poliglicerol-
poliricinoleato(PGPR) e monooleato
de sorbitan (Span80)], e se necessário
um co-surfactante. Testes
preliminares.**

RESUMO

As microemulsões são misturas isotrópicas e termodinamicamente estáveis de dois solventes imiscíveis estabilizados por surfactantes; têm sido extensivamente aplicadas em muitos campos, tais como meio para reações químicas, na preparação de nanopartículas, na indústria de alimentos e em processos de separação na indústria farmacêutica. Por outro lado, a aplicação de microemulsões (MEs) em alimentos é limitada pelos tipos de tensoativos utilizados para facilitar a formação de microemulsão. Muitos surfactantes não são permitidos em alimentos, enquanto outros só podem ser adicionados em níveis muito baixos; além disso, as alternativas de surfactantes de grau alimentar adequados para a formação de MEs água em óleo (W/O) são bastante limitadas. O objetivo do presente trabalho foi a avaliação de diferentes surfactantes de grau alimentício - lecitina, poliglicerol-poliricinoleato (PGPR) e monooleato de sorbitan (Span 80) - na formação de MEs W/O e sua posterior utilização para encapsulação de extrato de betalaína pelo método de coacervação complexa. Para atingir tais objetivos foram construídos diagramas de fases ternários e pseudoternários de misturas de água, óleo de soja, surfactantes e co-surfactante. Neste apêndice são apresentados os resultados obtidos de testes preliminares realizados com os materiais propostos inicialmente no projeto.

Palavras chaves: Microemulsão, surfactantes, reologia, equilíbrio hidrofílico lipofílico

2.1. INTRODUÇÃO

As microemulsões (MEs) são sistemas ternários em que duas fases líquidas, em geral, água e um óleo, e uma molécula anfifílica (surfactante) formam espontaneamente uma pseudo fase de dispersão líquido opticamente isotrópico e termodinamicamente estável (DANIELSSON; LINDMAN, 1981). Como outras dispersões coloidais, a formação de microemulsão é fortemente dependente do tipo de agente tensoativo e de sua estrutura (WINSOR, 1948). As MEs podem ser consideradas como veículos líquidos ideais para a administração de medicamentos, por ter estabilidade termodinâmica, fácil formulação, baixa viscosidade, alta capacidade de solubilização, sendo que o tamanho das gotas permite uma melhor aderência às membranas biológicas que transportam medicamentos de forma controlada (KOGAN; GARTI, 2006).

Como um sistema de encapsulamento líquido, as MEs não só podem solubilizar compostos hidrofóbicos e hidrofílicos, como também proteger esses componentes de degradação indesejada. Assim, as MEs têm amplas aplicações nas indústrias química, cosmética e farmacêutica. No entanto, a maioria dos sistemas de microemulsão precisam de certa quantidade de solventes orgânicos como agente co-tensoativo para promover o processo de auto-emulsificação e obter uma aparência transparente. A utilização na indústria alimentar é limitada devido aos solventes orgânicos existentes que, além de necessitar de equipamentos mais sofisticados para a fabricação de alimentos, também aumentam a dificuldade para controlar os solventes residuais (XU et al., 2016).

Diversas técnicas são usadas para caracterizar as microemulsões tais como condutividade elétrica, análises reológicas, espalhamento de baixos ângulos, análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) (SPERNATH et al., 2006; PERLSTEIN et al., 2015; ROOHINEJAD et al., 2015; CHIAPPISI et al., 2016), etc., as quais fornecem dados interessantes sobre o tipo de sistema obtido, seja W/O ou O/W, o tamanho das partículas e a estrutura formada pelo sistema, etc.

Assim, o objetivo foi estudar a formação de uma microemulsão usando óleo de soja, água e surfactantes de grau alimentício e posterior caracterização do sistema encontrado.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Matérias primas

Neste estudo foram usados óleo de soja (OS) da marca Cargill obtido no mercado local, Sorbitan monooleato (Span 80), (EHL 4.3) e Monooleato de Polioxietileno Sorbitan (Tween 80), (EHL 15) da Sigma Aldrich, (Riberão Preto, São Paulo, Brasil), propilenoglicol (PG) (99.5 %) da Synth, (Diadema - SP, Brasil); poliglicerol poliricinoleato (PGPR) (Grindsted®), EHL 1.5 - 2.0, doado pela Danisco Brasil Ltda (São Paulo, Brasil), lecitina de soja natural tipo Solec SG Solae (São Paulo, Brasil), etanol (96 %) Dinâmica (Diadema, São Paulo, Brasil) e água purificada (Milli-Q3, Millipore, Milford - MA, USA).

2.2.2. Construção de diagramas de fases pseudo-ternários de misturas água, surfactante/co-surfactante e óleo de soja comercial

Neste estudo, a ordem da adição e mistura dos agentes tensoativo e co-tensoativo, óleo e água, constitui um teste preliminar para caracterizar a natureza da dispersão. Os diagramas de fases pseudo-ternários parciais de óleo de soja (OS), surfactante Tween 80, Span 80, e co-surfactante propilenoglicol (PG) e água (A) como fase aquosa, foram desenvolvidos com a finalidade de determinar a formação de áreas de microemulsão. Diferentes proporções em massa de surfactante e óleo foram fixadas e misturadas nas proporções 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2 e 9:1 respectivamente. Em seguida, esses sistemas foram titulados com água destilada sob agitação manual a temperatura de 25°C, com incrementos de volume de 5 – 10% (w/w) na formação de linhas de diluição com água de 5 até 90%, mantendo as demais proporções como descrito anteriormente. Na Tabela 2.1 pode-se observar um resumo dos testes feitos, assim como as proporções de surfactante: co-surfactante. Outros testes realizados com diferentes surfactantes e co-surfactantes e que não resultaram na formação de microemulsão são apresentados nos Apêndices II e III.

Tabela 2.1 – Diagramas de fases ternários e pseudo-ternários construídos de misturas água, surfactante/co-surfactante e óleo de soja comercial

Testes Microemulsão	Proporção surfactantes	Proporção Surfactante / Co-Surfactante
PGPR:OS:(água + betalaína)	-	-
PGPR: etanol:OS:água	-	1:1
Span 80:OS:água	-	-
Span 80:etanol:OS:água	-	1:1
Span 80:PGPR:OS:água	2:1	-
PGPR: Span 80:etanol:OS:água	1:1	1:1
Tween 80:Span 80:etanol:OS:água	2:1	3:1
Lecitina: Tween 80:etanol:OS:água	1:1	2:1
Tween 80: Span80:PG:OS:água	1:2	3:1
Tween 80: Span80:PG:OS:água	1:2	2:1
Tween 80: Span80:PG:OS:água	1:2	1:1
Tween 80: Span80:etanol:OS:água	1:1	1:1
Tween 80: Span80:etanol:OS:água	1:2	1:1
Tween 80: Span80:etanol:OS:água	1:8	1:1
Tween 80: Span80:PG:OS:água	8:1	9:1

As amostras foram equilibradas durante três dias antes de serem analisadas visualmente, forma caracterizadas como microemulsão os sistemas transparentes e sem sinal de separação de fases, ou, em caso contrário, definidas como uma emulsão estável.

2.2.3. Medidas Reológicas

Os ensaios de reologia foram realizados usando um reômetro rotacional AR-2000ex (TA Instruments, Delaware, USA), utilizando geometria de placas paralelas serrilhadas (40 mm) com um gap que foi definido como 200 μm . Foram tomados cerca de 2,0 mL do sedimento das amostras que tinham sido previamente deixadas em repouso durante três dias. Todas as análises foram feitas em duplicata e, quando necessário, foi feita uma terceira amostra. Para cada repetição utilizou-se uma amostra nova, igual à anterior. Posteriormente, os dados experimentais da tensão de cisalhamento (τ) vs. taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) foram ajustados a diferentes modelos reológicos: Newton (Eq. 2.1), Lei da Potência (Eq. 2.2), Herschel-Buckley (Eq. 2.3), e Bingham (Eq. 2.4) (STEFFE, 1996; GENOVESE et al., 2007).

$$\tau = \mu \dot{\gamma} \quad (2.1)$$

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad (2.2)$$

$$\tau = \tau_0 + \mu \dot{\gamma} \quad (2.3)$$

$$\tau = \tau_0 + \mu \dot{\gamma}^\eta \quad (2.4)$$

onde μ é a viscosidade (cP), k é o índice de consistência (Pa.s), $\dot{\gamma}$ é o taxa de deformação (s^{-1}) e η é o índice de comportamento (adimensional), τ_0 é a tensão de deformação inicial (Pa).

Nas diferentes proporções de PGPR:OS:água, o comportamento reológico foi avaliado obtendo-se curvas de taxa de deformação, a partir de três rampas de tensão de cisalhamento em função de taxa de deformação (0,1 a 300 s^{-1}): ascendente (rampa 1), descendente (rampa 2) e novamente ascendente (rampa 3). Nos sistemas identificados como microemulsão os ensaios reológicos foram feitos utilizando geometria de cone e placa, com cerca de 2 mL de amostra, em duplicata. O ajuste dos modelos foi avaliado através do coeficiente de determinação (R^2) e do erro médio relativo (MRE) (Eq. 2.5) (CANO-HIGUITA et al., 2015).

$$MRE = \frac{100}{n} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{|X - X^*|}{X} \quad (2.5)$$

onde X são os dados experimentais, X^* os dados calculados e n o número de dados experimentais.

2.2.4. Estabilidade cinética

A separação de fases das emulsões foi observada em tubos cilíndricos de 10 mL selados com tampa de rosca e armazenados durante 3 dias a 25°C. A separação de fases foi expressa como índice de cremação (IC), que é calculado como a relação entre a altura da fase inferior (H) e a altura inicial (H_0), tal como descrito pela Equação 2.6 (USHIKUBO; CUNHA, 2012):

$$IC(\%) = \frac{H}{H_0} \times 100 \quad (2.6)$$

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Construção de diagramas de fases pseudo-ternários de misturas água, surfactante/co-surfactante e óleo de soja comercial

Os testes preliminares feitos com o objetivo de determinar a possível formação de áreas de microemulsão que não resultaram na formação de nenhum tipo de microemulsão mostrados na Tabela 2.1 da metodologia, assim como as suas características podem ser encontrados nos Apêndices II (Imagens) e Apêndice III (características gerais, índices de cremeação e figuras dos índices de cremeação), na mesma ordem em que aparecem na Tabela 2.1., exceto para os sistemas identificados como Tween 80:Span80:PG:OS:água proporção surfactante 8:1 e surfactante: co-surfactante 9:1, o qual apresentou regiões de microemulsão foi analisado e discutido no Capítulo 2.

Um dos critérios importantes a considerar quando se seleciona tensoativos para uso em emulsões é o equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL), que determina o tipo de emulsão (O/W ou W/O) a ser formado (PATEL et al., 2013). No entanto, quando se tem mistura de outros surfactantes com EHL diferente, com um agente co-surfactante propilenoglicol ou etanol, é difícil prever o EHL final da mistura, já que muitas vezes, o co-surfactante serve para modificar o valor de EHL global do sistema (NARANG et al., 2007).

2.3.2. Medidas reológicas

Durante os primeiros testes feitos para as amostras de PGPR:OS:(água + betalaína), optou-se por avaliar a reologia dos sistemas, de modo a obter resultados que pudessem auxiliar na determinação da microestrutura dos mesmos. Porém, devido à dificuldade em obter regiões de ME para os diversos sistemas avaliados, o estudo reológico deixou de ser conduzido de forma rotineira, pois isso representaria um atraso no trabalho de prospecção de MEs, as quais foram o principal objetivo desse projeto.

As amostras foram preparadas como descrito na metodologia e, depois de três dias do preparo foi observada a separação de fases e foi tomado o sedimento (5,0 mL aprox.) para realizar as análises de reologia; para algumas amostras não foi feita a análise reológica devido ao pouco volume de sedimento.

Modelos reológicos foram ajustados aos resultados obtidos, porém optou-se por apresentar apenas o modelo da Lei da Potência, uma vez que este resultou no melhor ajuste

em todas as proporções e concentrações de água, com $R^2 > 0.99$, revelando um comportamento pseudoplástico ($n < 1$) (Tabela 2.2, Figura 2.1).

Tabela 2.2. Valores de índice de consistência (k), índice de comportamento (n), coeficiente de determinação do modelo Lei da potência (R^2) e erro médio relativo (MRE) para as três rampas da curva de escoamento nas diferentes proporções de PGPR:OS:(água + betalaína) nas diferentes concentrações de água.

Rampas	1:9:10(55%)				1:9:9(50%)			
	<i>K</i>	<i>n(cps)</i>	<i>R</i> ²	MRE	<i>K</i>	<i>n(cps)</i>	<i>R</i> ²	MRE
1	1,716	712	0,993	5,605	1,765	698	0,994	3,818
2	2,374	721	0,998	4,032	2,047	739	0,998	4,842
3	2,350	710	0,999	3,582	2,046	727	0,999	4,490
2:8:10(55%)2:8:9(50%)								
1	2,727	606	0,979	12,697	0,883	965	0,999	40,487
2	6,160	623	1,000	3,695	7,980	587	1,000	4,826
3	6,014	622	1,000	3,209	7,807	590	1,000	4,760
2:8:8(45%)2:8:7(40%)								
1	3,320	586	0,976	13,056	1,323	843	0,999	13,057
2	9,228	567	1,000	5,848	1,537	843	0,998	5,848
3	8,925	570	1,000	5,641	1,587	827	0,999	5,641
3:7:10(55%)3:7:9(50%)								
1	1,464	833	0,998	5,868	1,323	843	0,999	6,300
2	1,755	823	0,998	7,912	1,537	843	0,998	8,291
3	1,719	823	0,999	6,853	1,587	827	0,999	7,261
3:7:8(45%)4:6:10(55%)								
1	4,316	613	0,989	12,088	5,107	691	0,991	10,210
2	6,482	677	0,997	3,811	9,612	660	0,981	7,142
3	6,401	666	0,999	3,247	9,368	662	0,997	5,397
4:6:9(50%)4:6:8(45%)								
1	5,619	668	0,994	12,490	5,163	689	0,993	10,726
2	10,065	648	0,985	6,769	9,873	646	0,982	7,553
3	9,817	655	0,996	5,494	9,649	655	0,997	5,578
5:5:10(55%)5:5:9(50%)								
1	3,038	830	0,999	9,204	3,075	833	0,999	8,813
2	4,784	778	0,997	12,713	4,968	769	0,997	12,972
3	4,946	761	0,999	11,156	5,069	761	0,999	11,400
5:5:8(45%)5:5:7(40%)								
1	3,852	781	0,998	10,476	4,584	699	0,949	13,604
2	6,233	755	0,995	11,882	10,458	619	0,949	12,356
3	6,195	741	0,998	10,432	10,014	673	0,960	10,578

rampa de taxa de deformação. Na segunda e na terceira rampas os valores de k ficaram praticamente estáveis para todos os sistemas. O comportamento reopético para emulsões W/O também foi observado por Masalova et al. (2005).

Com os parâmetros k e n correspondentes à segunda rampa de taxa de deformação, foram calculados os valores de viscosidade aparente para cada um dos sistemas (Figura 2.2). Observa-se que a viscosidade aparente foi pouco afetada pela variação na proporção de água, exceto nas amostras de proporção 3:7:8 e 5:5:7, as quais apresentaram um leve incremento na viscosidade aparente.

Figura 2.1. Ajuste do modelo Lei da Potência nas curvas de escoamento descendente (rampa 2) das proporções (a) 1:9:10 e 1:9:9 de PGPR:OS para 55 e 50% de água, (b) 2:8:10, 2:8:9, 2:8:8, 2:8:7 para 55, 50, 45 e 40% de água, (c) 3:7:10, 3:7:9, 3:7:8 para 55, 50 e 45% de água, (d) 4:6:10, 4:6:9, 4:6:8 para 55, 50 e 45% de água, (e) 5:5:10, 5:5:9, 5:5:8, 5:5:7 para 55, 50 e 45% de água.

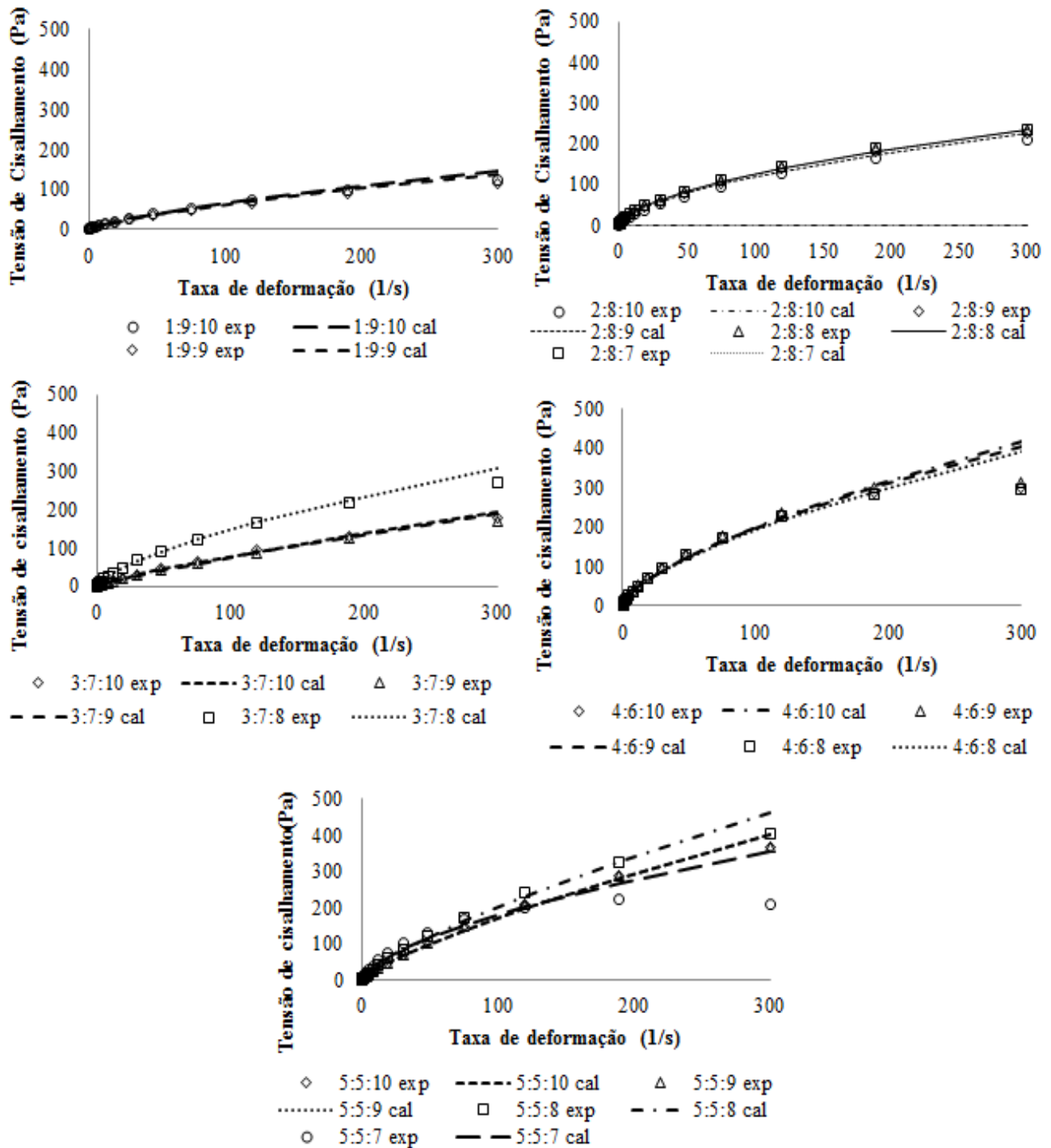
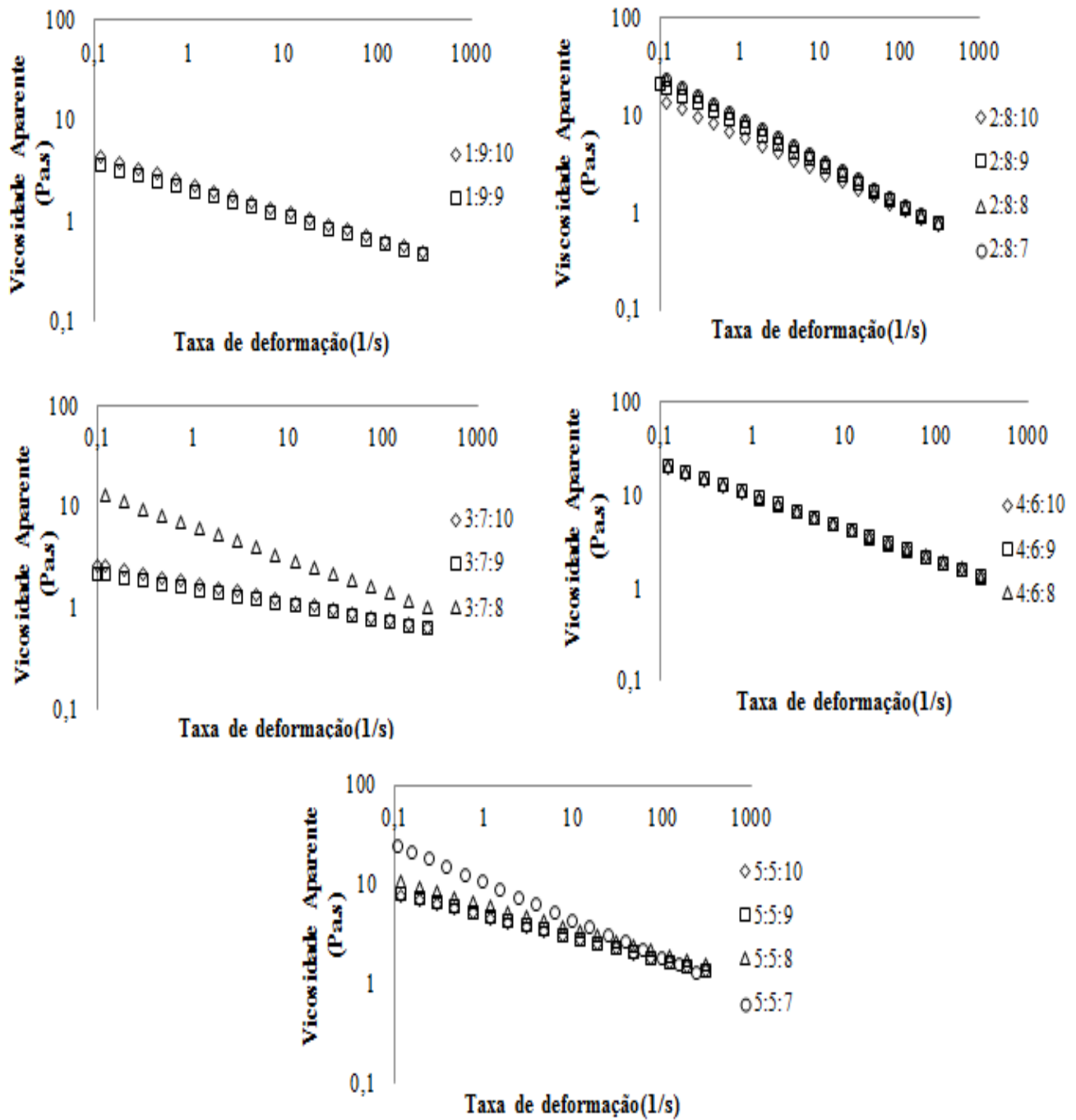


Figura 2.2. Variação da viscosidade aparente para taxas de deformação (rampa 2) para as proporções de PGPR:OS (a) 1:9:10, 1:9:9 para 55 e 50% de água, (b) 2:8:10, 2:8:9, 2:8:8, 2:8:7 para 55, 50, 45 e 40% de água, (c) 3:7:10, 3:7:9, 3:7:8 para 55, 50 e 45% de água, (d) 4:6:10, 4:6:9, 4:6:8 para 55, 50 e 45% de água, (e) 5:5:10, 5:5:9, 5:5:8, 5:5:7 para 55, 50, 45 e 40% de água.



2.4. CONCLUSÕES

As microemulsões são sistemas cuja formação depende de propriedades como pH, proporção de surfactante:óleo assim como da concentração de água, principalmente do equilíbrio hidrofílico lipofílico (EHL) do surfactante, entre outras. Os diagramas parciais construídos serviram para identificar características próprias de cada um dos surfactantes testados, assim como a importância de avaliar misturas entre eles que ajudem a definir áreas de existência de microemulsão, partindo das propriedades particulares de cada um dos compostos que faça parte do diagrama de fases. Não foi possível a obtenção de microemulsão com os surfactantes planejados no projeto pelo que foi decidido fazer testes com outros materiais, com os quais foi possível obter uma microemulsão.

2.5 REFERÊNCIAS

- CANO-HIGUITA, D. M.; VILLA-VÉLEZ, H. A.; TELIS-ROMERO, J.; VÁQUIRO, H. A.; TELIS, V. R. N. Influence of alternative drying aids on water sorption of spray dried mango mix powders: A thermodynamic approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 19-28, 2015.
- CHIAPPISI, L.; NOIREZ, L.; GRADZIELSKI, M. A journey through the phase diagram of a pharmaceutically relevant microemulsion system. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 473, p. 52-59, 2016.
- DANIELSSON, I.; LINDMAN, B. The definition of microemulsion. **Colloids and Surfaces**, v. 3, n. 4, p. 391-392, 1981.
- GENOVESE, D. B.; LOZANO, J. E.; RAO, M. A. The Rheology of Colloidal and Noncolloidal Food Dispersions. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p. R11-R20, 2007.
- KOGAN, A.; GARTI, N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123-126, p. 369-385, 2006.
- MASALOVA, I.; TAYLOR, M.; KHARATIYAN, E.; MALKIN, A. Y. Rheopexy in highly concentrated emulsions. **Journal of Rheology**, v. 49, n. 4, p. 839-849, 2005.
- NARANG, A. S.; DELMARRE, D.; GAO, D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 345, n. 1-2, p. 9-25, 2007.

PATEL, R. B.; PATEL, M. R.; BHATT, K. K.; PATEL, B. G. Formulation consideration and characterization of microemulsion drug delivery system for transnasal administration of carbamazepine. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 51, n. 2, p. 243-253, 2013.

PERLSTEIN, M.; ASERIN, A.; WACHTEL, E. J.; GARTI, N. Propofol solubilization and structural transformations in dilutable microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 282-290, 2015.

ROOHINEJAD, S.; OEY, I.; WEN, J.; LEE, S. J.; EVERETT, D. W.; BURRITT, D. J. Formulation of oil-in-water beta-carotene microemulsions: effect of oil type and fatty acid chain length. **Food Chemistry**, v. 174, p. 270-8, 2015.

SPERNATH, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Phase transition induced by water dilution in phospholipid U-type food-grade microemulsions studied by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 83, n. 2, p. 297-308, 2006.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. Freeman Press, 1996.

USHIKUBO, F. Y.; CUNHA, R. L. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, p. 1-9, 2012.

WINSOR, P. A. Hydrotrophy, solubilisation and related emulsification processes. **Transactions of the Faraday Society**, v. 44, n. 0, p. 376-398, 1948.

XU, Z.; JIN, J.; ZHENG, M.; ZHENG, Y.; XU, X.; LIU, Y.; WANG, X. Co-surfactant free microemulsions: Preparation, characterization and stability evaluation for food application. **Food Chemistry**, v. 204, p. 194-200, 2016.

APÊNDICE II

Figura A. PGPR:OS:(água + betalaína)

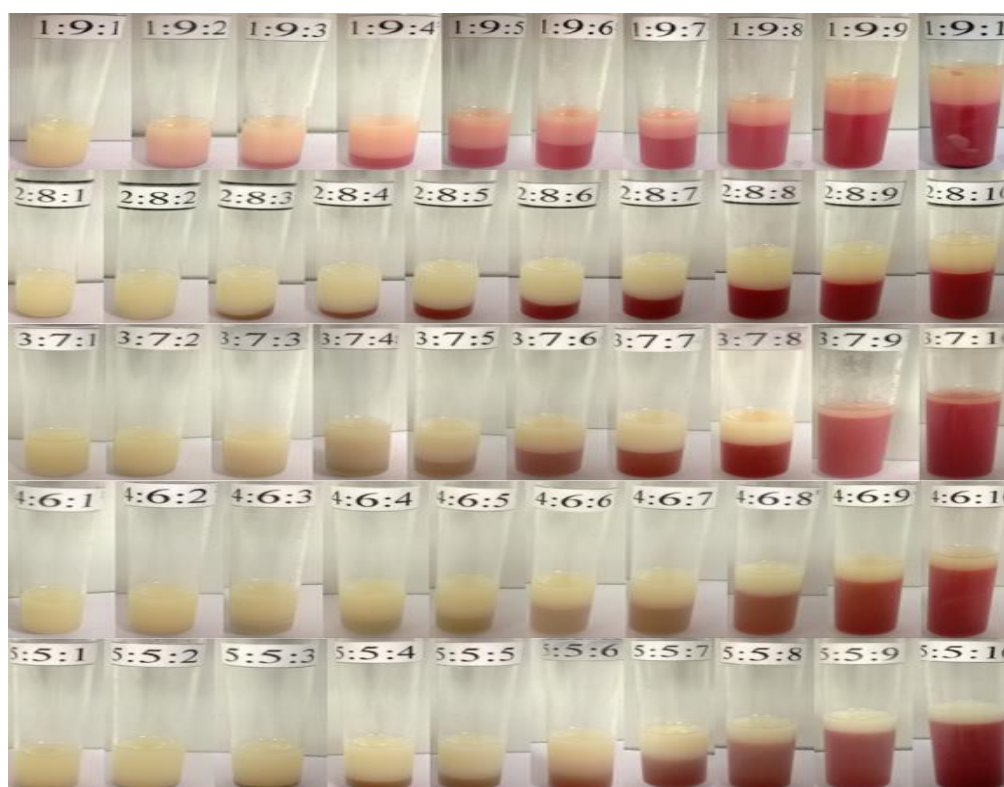


Figura B. PGPR:Etanol:OS:Água



FIGURA C. Span 80:OS:Água

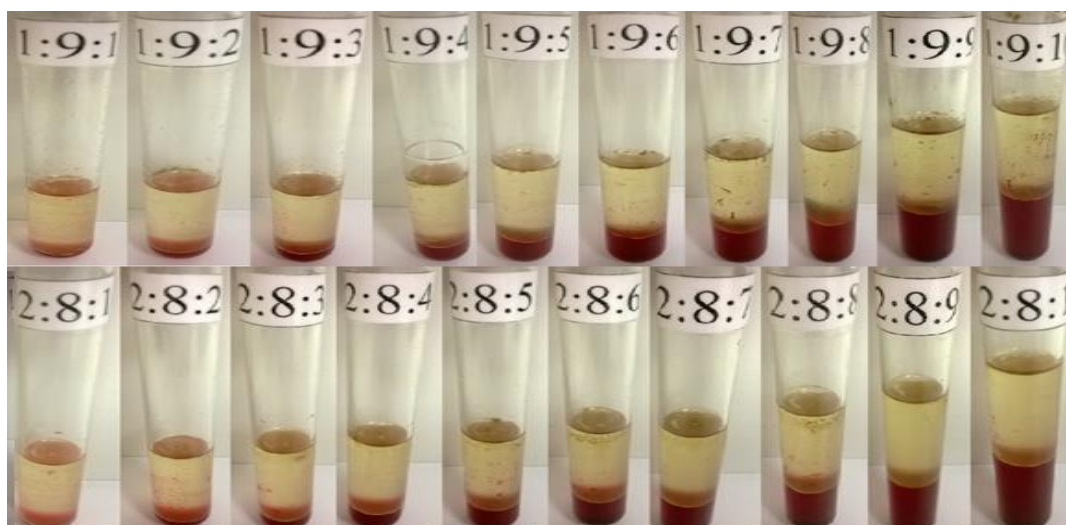


FIGURA D. Span 80:Etanol:OS:Água

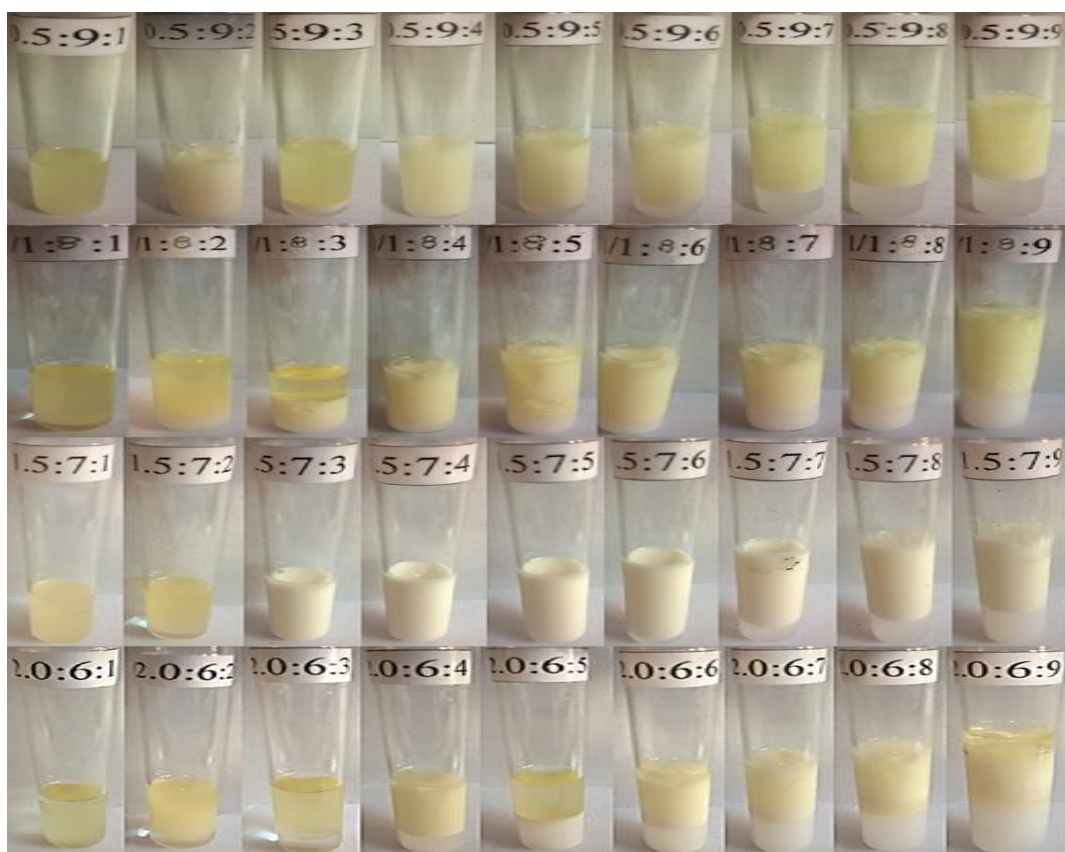


FIGURA E. Span 80:PGPR:OS:Água



FIGURA F. PGPR:Span 80:Etanol:OS:Água



FIGURA G. Tween 80:Span 80:Etanol

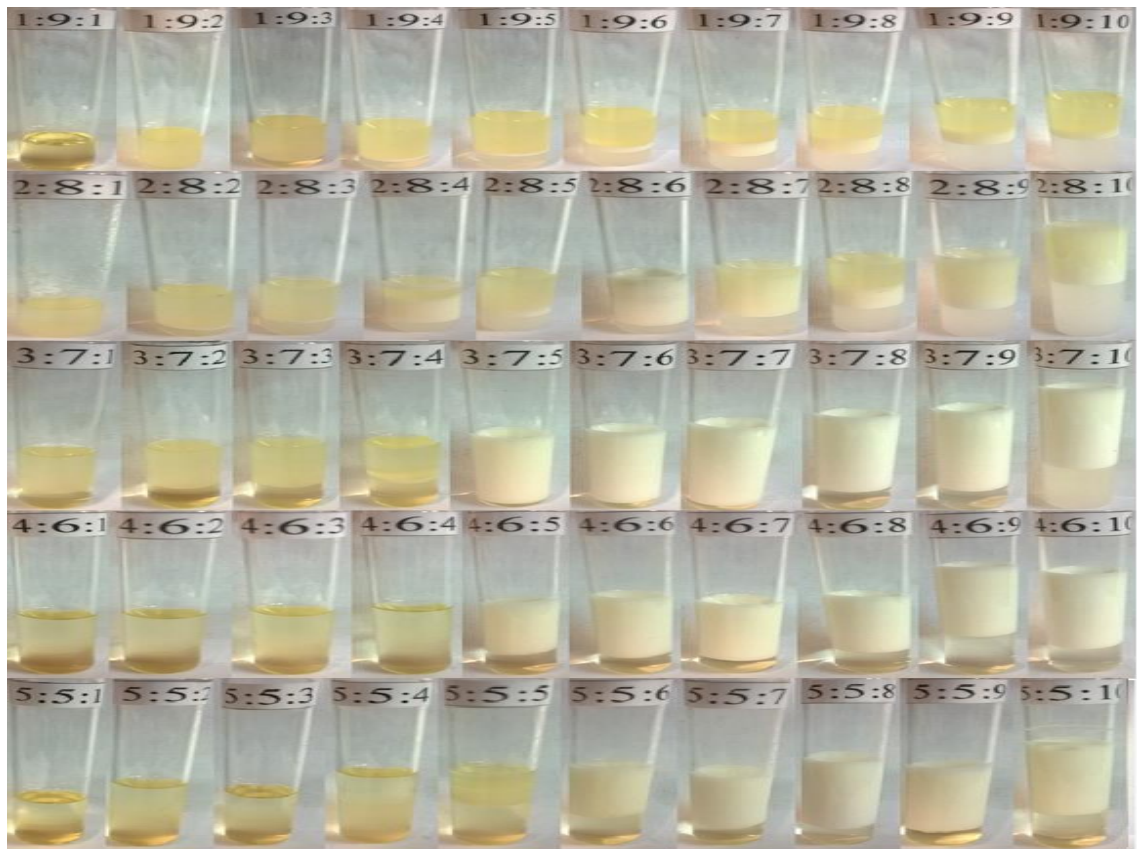


FIGURA H. Lecitina:Tween 80:Etanol

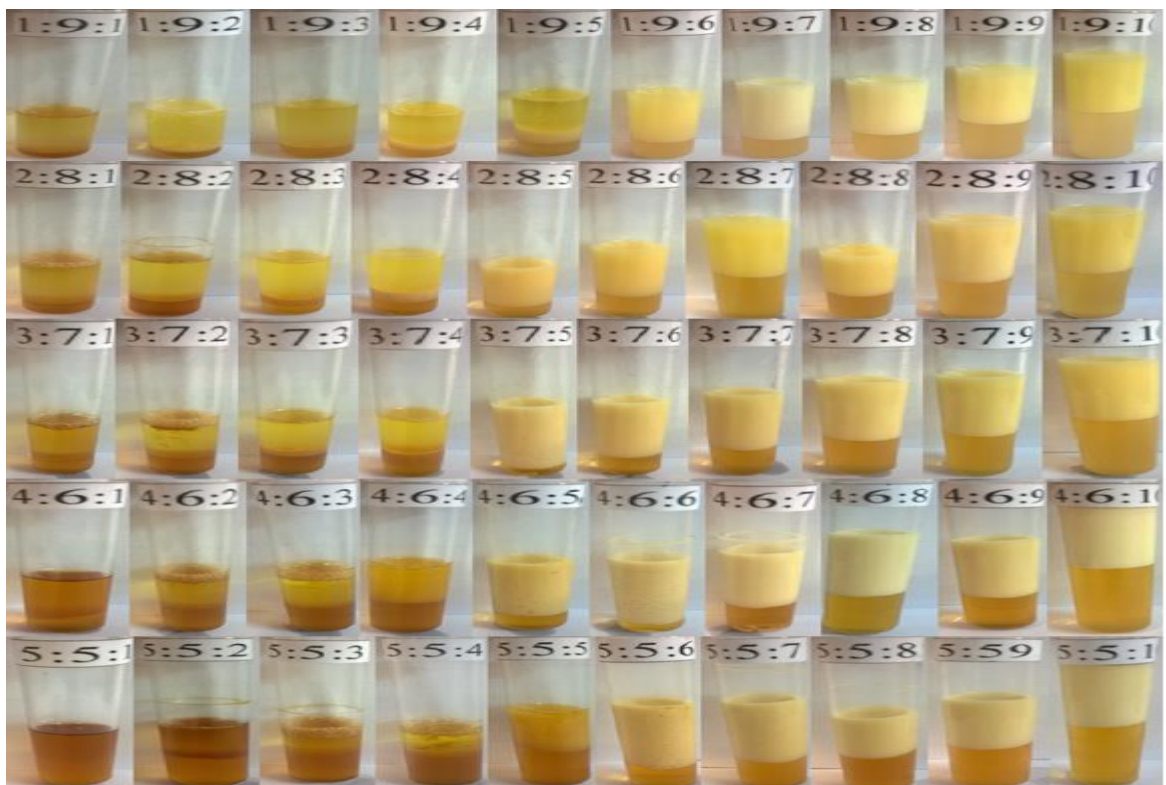


Figure 1 displays a series of 40 vials arranged in a 4x10 grid, showing the effect of increasing the ratio of 1:9 on the color of the mixture. The vials are organized into four rows, each representing a different ratio of 1:9 (1:9, 2:8, 3:7, and 4:6). The columns represent increasing values of the second number in the ratio (1 to 10). The color of the mixture transitions from yellow to white as the ratio increases.



FIGURA K. Tween 80:Span 80:Etanol:OS:água.Surfactante: Co-surfactante (1:1)



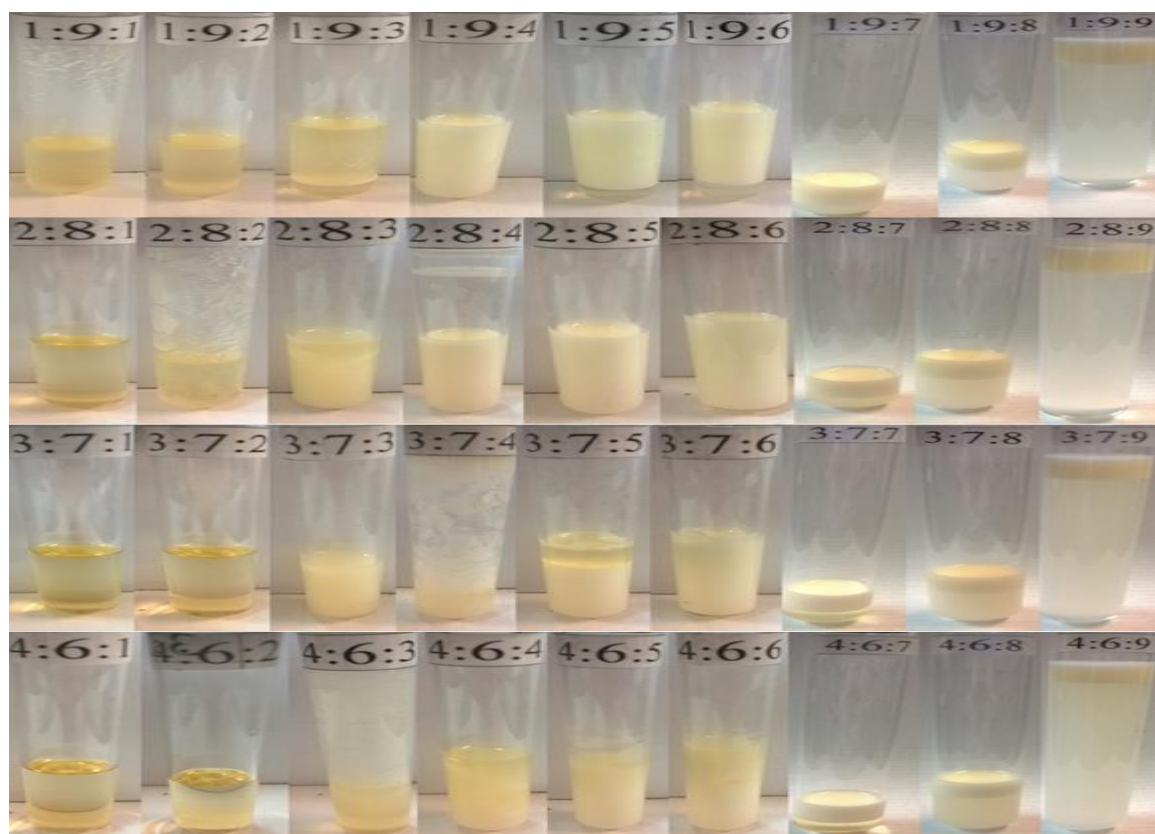


FIGURA L. Tween 80:Span 80:Etanol:OS:água. Surfactante: Co-surfactante (1:1)





FIGURA M. Tween 80:Span 80:PG:OS:Água





APÊNDICE III

Tabela A. Características físicas do diagrama de fases parcial de PGPR:OS:(água + betalaína). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase média. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

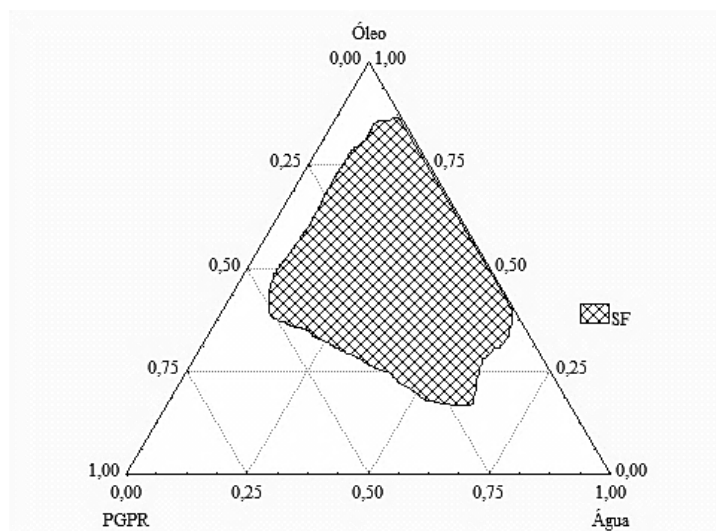
Os diagramas de fases parciais foram construídos na área de 1:9 até 5:5 (surfactante:óleo) com linhas de diluição a partir de 10% até 55% de água, de acordo com a metodologia descrita no item 3.2.1. Na Tabela A e Figura A.1 são descritas as características encontradas na construção do diagrama parcial da mistura de PGPR:OS:(água + betalaína).

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase opaca Fi: EL	2,89	0,48	17,2
1:9:2	Fs: fase opaca Fi: EL	3,08	0,58	19,6
1:9:3	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	3,10	0,85	28,2
1:9:4	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	3,35	1,16	34,6
1:9:5	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	3,59	1,53	41,7
1:9:6	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	3,72	1,80	47,9
1:9:7	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	4,09	2,45	59,4
1:9:8	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	4,39	2,79	62,6
1:9:9	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	5,59	3,57	62,7
1:9:10	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	6,08	4,01	65,6
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	2,88	0,57	19,79
2:8:2	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	3,11	0,65	20,90
2:8:3	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor marrom	3,24	0,84	25,93
2:8:4	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor marrom	3,44	1,09	31,69
2:8:5	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	3,60	1,33	36,94
2:8:6	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	3,90	1,57	40,78
2:8:7	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,16	2,05	48,69
2:8:8	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,47	2,52	55,38
2:8:9	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,92	3,04	62,30
2:8:10	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	5,41	3,70	68,39
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	2,86	0,36	12,59
3:7:2	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	3,01	0,57	18,81
3:7:3	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	3,16	0,65	21,52
3:7:4	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	3,32	1,19	35,84
3:7:5	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,56	1,55	43,54
3:7:6	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	3,78	1,87	49,47
3:7:7	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,05	2,08	50,49
3:7:8	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,19	2,56	62,14
3:7:9	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	4,74	4,25	92,39
3:7:10	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	5,03	4,76	92,86
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)

4:6:1	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	2,93	0,52	17,93
4:6:2	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor bege	3,04	0,76	25,68
4:6:3	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,19	1,18	36,99
4:6:4	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,48	1,58	45,40
4:6:5	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,58	1,87	52,09
4:6:6	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,69	2,15	58,77
4:6:7	Fs: fase opaca Fi: EL cor bege	3,91	2,48	61,74
4:6:8	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	4,33	3,12	71,23
4:6:9	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	4,72	3,77	79,24
4:6:10	Fs: fase opacaFi: EL cor vermelho	5,22	4,55	86,10
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
5:5:1	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor marrom	2,77	0,43	15,52
5:5:2	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor marrom	2,95	0,73	24,75
5:5:3	Fs: fase opaca Fi: sedimento cor marrom	3,10	0,87	27,80
5:5:4	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	3,30	1,12	34,24
5:5:5	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	3,55	1,51	42,18
5:5:6	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	3,86	1,81	46,77
5:5:7	Fs: fase opaca Fi: EL cor marrom	4,12	2,43	60,00
5:5:8	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	4,45	3,53	80,23
5:5:9	Fs: fase opaca Fi: EL cor rosa	4,80	4,06	85,42
5:5:10	Fs: fase opaca Fi: EL cor vermelho	5,19	4,66	89,79

Em todas as proporções foi evidenciada separação de fases e, em algumas delas, formação de emulsão leitosa; a desestabilização do sistema foi através do mecanismo de sedimentação. A tendência de aumento no índice de cremeação em função do aumento da concentração de água, medido após três dias da preparação dos sistemas, pode ser observada na Tabela A.1, Figuras A.1, A.2.

Figura A.1. Diagrama de fases parcial de PGPR:OS:(água + betalaína). SF: Separação de Fases.



A falta de estabilidade nas emulsões formadas pode estar relacionada ao tamanho das gotas, já que, embora o PGPR seja conhecido por sua boa capacidade emulsificante, as condições de preparação das amostras não forneceram a energia necessária para que os sistemas de emulsão formados permanecessem estáveis, o que levou à separação das fases tal como se observa na Figura A do Apêndice I, comportamento similar ao encontrado por Pawlik et al. (2010), os quais fizeram testes para a preparação de emulsões W/O com PGPR como emulsificante com a presença ou não de NaCl e observaram que os sistemas sem sal apresentaram separação depois de 4 semanas, ao mesmo tempo em que foi verificado que o modo de preparação das emulsões foi indiferente.

Figura A.2. Índice de cremeação (%) de PGPR:OS:(água + betalaína)

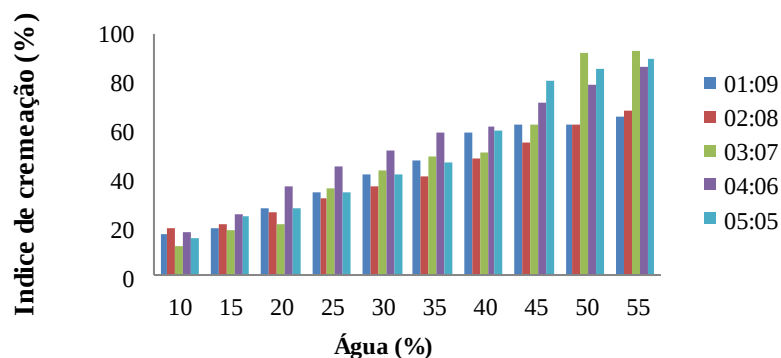


Tabela B. Características físicas do diagrama de fases parcial de PGPR:Etanol:OS:Água. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase média. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

As características do teste de PGPR:Etanol:OS:água (utilizando uma relação de surfactante:co-surfactante igual a 1:1), tiveram formação de emulsão leitosa similar ao teste de PGPR sem etanol, mas com separação de fase aquosa na parte inferior dos tubos, exceto para as proporções de surfactante:OS 4:6 e 5:5 com porcentagem de água de 10 e 15%, as quais apresentaram separação de fase mas com aspecto opaco (Tabela B, Figura B.1 e B.2 e Figura B do Apêndice I).

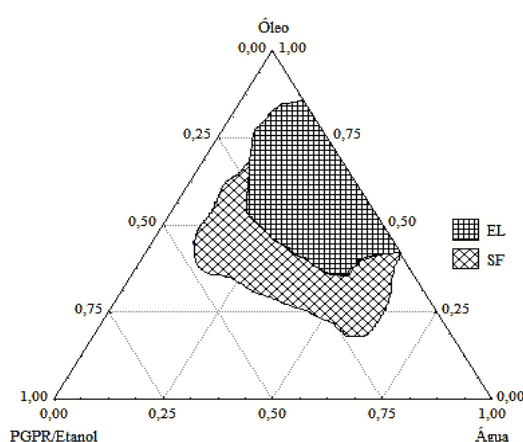
Proporção*	Características	H_0	H	IC (%)
0,5:0,5:9:1	EL	3,31	0,00	0,00
0,5:0,5:9:2	EL	3,07	0,00	0,00
0,5:0,5:9:3	EL	3,42	0,00	0,00
0,5:0,5:9:4	EL	3,89	0,00	0,00

0,5:0,5:9:5	EL	4,26	0,00	0,00
0,5:0,5:9:6	EL	4,54	0,00	0,00
0,5:0,5:9:7	EL	4,70	0,00	0,00
0,5:0,5:9:8	EL	5,20	0,00	0,00
0,5:0,5:9:9	EL	5,69	0,00	0,00
0,5:0,5:9:10	Fs: EL Fi: Fase aquosa	6,41	0,65	10,14
Proporção*	Características	H₀	H	IC (%)
1:1:8:1	EL	3,42	0,00	0,00
1:1:8:2	EL	3,10	0,00	0,00
1:1:8:3	EL	3,24	0,00	0,00
1:1:8:4	EL	4,03	0,00	0,00
1:1:8:5	EL	3,72	0,00	0,00
1:1:8:6	EL	4,49	0,00	0,00
1:1:8:7	EL	4,84	0,00	0,00
1:1:8:8	EL	4,64	0,00	0,00
1:1:8:9	Fs:EL,Fi:Fase aquosa	5,89	0,93	15,78
1:1:8:10	Fs:EL, Fi:Fase aquosa opaca	6,59	2,45	37,17
Proporção*	Características	H₀	H	IC (%)
1,5:1,5:7:1	Fs: Etanol, Fi: Fase opaca cor amarela	2,94	2,40	81,63
1,5:1,5:7:2	EL	3,55	0,00	0,00
1,5:1,5:7:3	EL	3,73	0,00	0,00
1,5:1,5:7:4	EL	3,66	0,00	0,00
1,5:1,5:7:5	EL	3,85	0,00	0,00
1,5:1,5:7:6	EL	4,29	0,00	0,00
1,5:1,5:7:7	EL	4,87	0,00	0,00
1,5:1,5:7:8	EL	5,09	0,00	0,00
1,5:1,5:7:9	Fs: EL, Fi: Fase aquosa opaca	5,60	0,60	10,71
1,5:1,5:7:10	Fs: EL, Fi: Fase aquosa opaca	6,30	1,44	22,85
Proporção*	Características	H₀	H	IC (%)
2,0:2,0:6:1	Fs: Etanol, Fi: Fase opaca	3,00	2,70	90,00
2,0:2,0:6:2	Fs: Etanol, Fi: Fase opaca	3,20	2,10	65,63
2,0:2,0:6:3	Fs: anel de óleo, Fm: EL, Fi: fase aquosa, R: EL	3,50	2,70	77,14
2,0:2,0:6:4	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,80	0,30	7,89
2,0:2,0:6:5	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	4,00	0,30	7,50
2,0:2,0:6:6	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	4,20	0,30	7,14
2,0:2,0:6:7	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,80	0,30	7,89
2,0:2,0:6:8	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	5,50	0,50	9,09
2,0:2,0:6:9	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	6,20	1,00	16,13
2,0:2,0:6:10	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	8,00	1,50	18,75
Proporção*	Características	H₀	H	IC (%)
2,5:2,5:5:1	Fs: Etanol, Fi: opaca	5,20	1,20	23,07
2,5:2,5:5:2	Fs: Etanol, Fi: opaca	4,80	0,90	18,75
2,5:2,5:5:3	Fs: anel de óleo, Fm: EL Fi: fase aquosa, R: EL	4,20	0,40	9,52
2,5:2,5:5:4	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	4,20	0,30	7,12
2,5:2,5:5:5	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,80	0,20	5,26

2,5:2,5:5:6	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	4,10	0,10	2,44
2,5:2,5:5:7	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,80	1,50	39,47
2,5:2,5:5:8	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,70	2,00	54,05
2,5:2,5:5:9	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	3,40	2,50	73,53
2,5:2,5:5:10	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa, R: EL	2,8	2,00	71,43

*De acordo com a codificação das amostras, o primeiro e o segundo número correspondem à proporção de surfactante:co-surfactante, o terceiro número indica a proporção de óleo e o quarto número indica os incrementos de água (1 corresponde a 10% de água, enquanto 10 indica 55% de água).

Figura B.1. Diagrama de fases parcial de PGPR:Etanol:OS:Água. **SF**: Separação de Fases. **EL**: Emulsão Leitosa.



Em geral as amostras apresentaram o mesmo índice de cremação em todas as proporções de água, exceto a amostra de proporção 3:7, a qual começou com um índice de 81.63% e teve uma queda a 15% de água e a amostra 5:5 a qual teve um aumento significativo na separação das fases a partir de 35% de água.

Figura B.2. Índice de cremação (%) de PGPR:etanol:OS:água

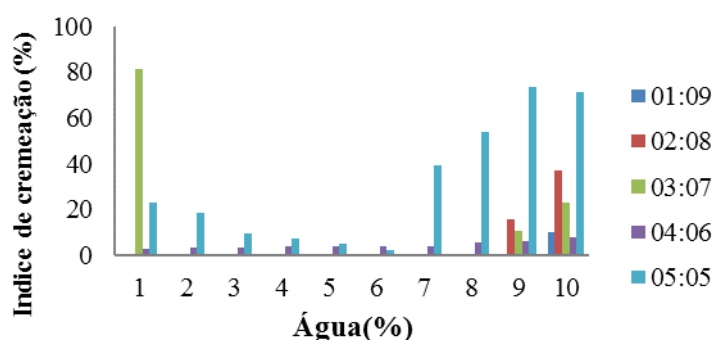


Tabela C. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80:Etanol:OS:Água.

EL: Emulsão Leitosa. **Fs**: Fase Superior. **Fm**: Fase meia. **Fi**: Fase inferior. **R**: Resíduo.

Os diagramas de fases parciais construídos para as misturas Span 80:etanol:OS:água (Figura C.1) com proporção Span 80:etanol de 1:1, Span 80:PGPR:OS:água com proporção de Span 80:PGPR de 2:1 (Figura D.1), e Span 80:PGPR:etanol:OS:água com proporção 1:1:3 (Figura E.1), tiveram características físicas similares: separação de até três fases, algumas das fases com aparência opaca ou turva, ou aparência de coágulo-leitoso, ou emulsão leitosa. As imagens dos sistemas podem ser observados no Apêndice I nas Figuras D, E e F.

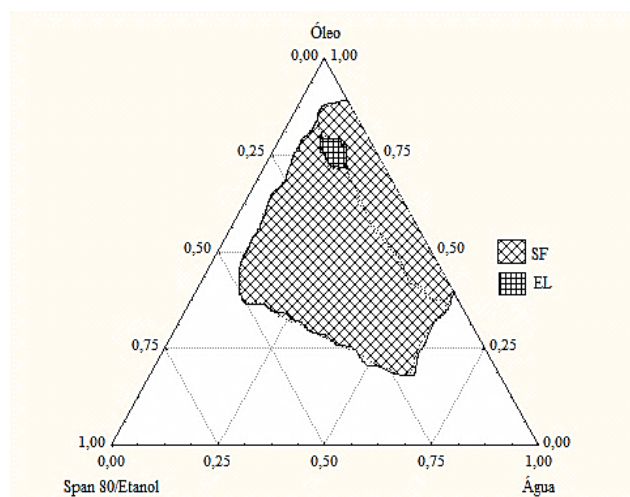
Márquez et al. (2007) encontraram resultados similares com emulsões preparadas com diferentes tipos de Span, entre eles o Span 80, porém sem adição de etanol. Esses autores concluíram que com esses surfactantes e com o método de homogeneização empregado não é possível a formação de microemulsões W/O com conteúdo de água maior que 20%.

Proporção*	Características	H ₀	H	IC (%)
0,5:0,5:9:1	Fs: fase opaca Fi: Branco	3,24	0,50	15,40
0,5:0,5:9:2	EL	3,41	0,00	0,00
0,5:0,5:9:3	Três fases: Fs: fase opaca de cor amarela, Fm: 0,5cm EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,78	0,66	17,46
0,5:0,5:9:4	Fs: EL Fi: fase aquosa menor de 0,5cm	4,01	0,48	12,09
0,5:0,5:9:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,13	0,72	17,55
0,5:0,5:9:6	Fs: EL Fi: fase aquosa opaca	4,60	1,13	24,67
0,5:0,5:9:7	Fs: EL Fi: fase aquosa opaca	4,82	1,61	33,47
0,5:0,5:9:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,95	1,94	32,60
0,5:0,5:9:9	Fs: EL Fi: fase aquosa opaca	5,48	2,31	42,11
0,5:0,5:9:10	Fs: EL Fi: fase aquosa	6,02	2,88	47,84
Proporção*	Características	H ₀	H	IC (%)
1:1:8:1	Fs: fase opaca, Fi: fase aquosa	3,30	0,68	20,60
1:1:8:2	Fs: fase opaca, Fi: EL	3,56	0,86	24,15
1:1:8:3	Três fases: Fs: oleosa, Fm: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada,	3,10	1,75	56,45
1:1:8:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,29	0,69	20,97
1:1:8:5	Três fases: Fs: anel de óleo menor de 0,5cm, Fm: EL amarela, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,10	1,26	30,73
1:1:8:6	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,21	0,97	23,04
1:1:8:7	Fs: EL amarela, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,00	1,36	34,00
1:1:8:8	Fs: EL amarela, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,41	1,70	38,54
1:1:8:9	Fs: EL amarela, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,50	2,32	42,18
1:1:8:10	Fs: EL amarela, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,28	2,46	46,59
Proporção*	Características	H ₀	H	IC (%)
1,5:1,5:7:1	Fs: Etanol, Fi: fase opaca	2,94	2,54	86,39
1,5:1,5:7:2	Fs: fase opaca, Fi: fase aquosa transparente	3,03	0,90	29,70
1,5:1,5:7:3	EL	3,70	0,00	0,00
1,5:1,5:7:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,97	0,31	7,80
1,5:1,5:7:5	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,07	0,62	15,23
1,5:1,5:7:6	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,60	1,06	23,04

1,5:1,5:7:7	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,93	1,48	30,02
1,5:1,5:7:8	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,15	1,92	37,28
1,5:1,5:7:9	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,52	2,40	43,47
1,5:1,5:7:10	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,17	3,00	48,62
Proporção*	Características	H0	H	IC(%)
2,0:2,0:6:1	Fs: Etanol, Fi: fase opaca amarela	2,92	2,18	74,65
2,0:2,0:6:2	Fs: fase opaca amarela, Fi: fase aquosa	3,50	0,88	25,14
2,0:2,0:6:3	Fs: fase medianamente opaca, Fi: fase aquosa	3,74	1,12	29,94
2,0:2,0:6:4	Três fases: Fs: Óleo, Fm: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,93	1,39	35,37
2,0:2,0:6:5	Três fases: Fs: fase oleosa, Fm: fase aquosa esbranquiçada Fi: EL	3,90	2,18	55,90
2,0:2,0:6:6	Quatro fases: Fs: fase oleosa, Fm: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada, R: EL	4,31	1,8	41,76
2,0:2,0:6:7	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,69	3,82	81,45
2,0:2,0:6:8	Fs: Emulsão leitosa-óleo, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,01	4,38	87,42
2,0:2,0:6:9	Três fases: Fs: Fase Oleosa, Fm: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,10	5,07	99,41
2,0:2,0:6:10	Três fases: Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,15	2,15	34,96
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2,5:2,5:5:1	Fs: Etanol, Fi: fase medianamente opaca	3,38	2,31	68,34
2,5:2,5:5:2	Fs: Etanol, Fi: fase opaca	3,03	2,08	68,65
2,5:2,5:5:3	Fs: Etanol, Fi: fase transparente	4,48	2,17	48,44
2,5:2,5:5:4	Fs: EL Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,97	0,96	24,18
2,5:2,5:5:5	Três fases: Fs: EL Fm: fase aquosa esbranquiçada, Fi: EL	4,12	1,71	41,50
2,5:2,5:5:6	Três fases: Fs: óleo, Fm: EL Fi: fase aquosa branca	4,36	2,17	49,77
2,5:2,5:5:7	Três fases: Fs: Etanol, Fm: EL Fi: fase aquosa branca	4,06	1,96	48,28
2,5:2,5:5:8	Três fases: Fs: fase oleosa, Fm: EL Fi: fase aquosa branca	4,40	2,34	53,18
2,5:2,5:5:9	Três fases: Fs: fase oleosa, Fm: fase leitosa menor 0,5 cm, Fi: fase aquosa branca	4,74	3,10	65,40
2,5:2,5:5:10	Três fases: Fs: EL Fm: fase oleosa, Fi: fase aquosa branca	5,22	3,11	59,58

*De acordo com a codificação dos tubos primeiro e segundo número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, terceiro número ao óleo e o quarto número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 10% e 10 para 55%.

Figura C.1. Diagrama de fases parcial de Span 80:etanol:OS:água. SF: Separação de Fases. EL: Emulsão Leitosa.



A Figura C.2 mostra a variação do índice de cremeação. A proporção 2:2:6 (Span 80:etanol:OS) foi a que sofreu uma maior separação (99,41%) para concentração de água de 50%, sendo que as demais proporções ficaram com um comportamento similar com respeito à concentração de água, partindo de um índice de cremeação de 20% até 60% para uma concentração de água de 55%.

Figura C.2. Índice de cremeação (%) de Span 80:etanol:OS:Água

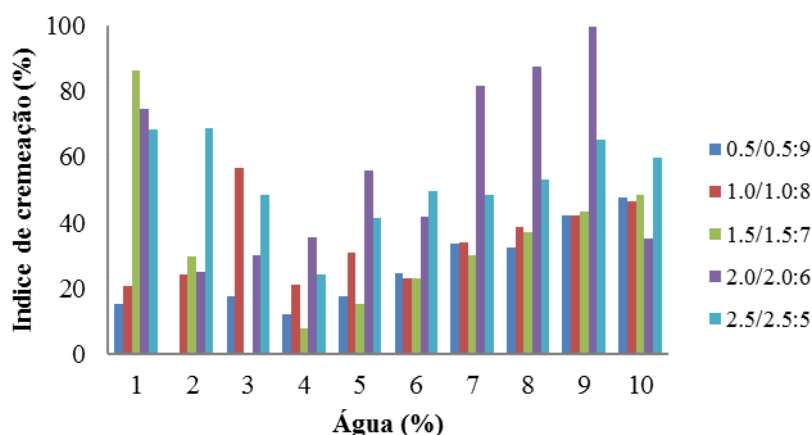


Tabela D. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80: PGPR:OS:Água.

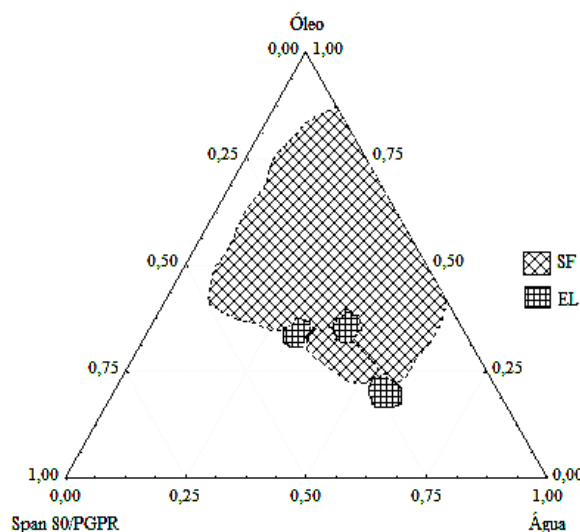
EL: Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase meia. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2:1:9:1	Fs: fase opaca. Fi: EL	2,84	0,46	16,20
2:1:9:2	Fs: fase opaca. Fi: EL	3,02	1,51	50,00
2:1:9:3	Fs: fase opaca. Fi: EL	3,16	1,59	50,31
2:1:9:4	Fs: fase leitosa branca. Fi: Coágulo branco	4,5	3,58	79,55
2:1:9:5	EL	4,63	3,12	67,39
2:1:9:6	Fs: fase opaca. Fi: fase leitosa branca	3,74	2,34	62,56
2:1:9:7	Fs: fase turva branca. Fi: fase leitosa branca	4,07	2,74	67,32
2:1:9:8	Fs: Opaca branca. Fi: fase leitosa branca	5,53	1,62	29,29
2:1:9:9	Fs: fase leitosa branca. Fi: fase turva branca	5,66	1,60	28,27
2:1:9:10	Fs: fase leitosa branca. Fi: fase turva branca	5,23	1,69	32,31
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2:1:8:1	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	3,28	0,51	15,55
2:1:8:2	Leitoso- coágulo	3,49	0,62	17,76
2:1:8:3	Fs: Leitoso- coágulo. Fm: fase amarela opaca. Fi: Leitoso-coágulo	3,3	1,59	48,18
2:1:8:4	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	5,26	3,3	62,74
2:1:8:5	Fs: Leitoso- coágulo. Fi: fase amarela turva	3,5	1,17	33,43
2:1:8:6	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	4,51	2,45	54,32
2:1:8:7	Fs: fase opaca. Fi: Leitoso- coágulo	5,37	1,1	20,48
2:1:8:8	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	4,37	3,17	72,54
2:1:8:9	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	4,62	3,83	82,90
2:1:8:10	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso- coágulo	5,04	3,98	78,97

Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2:1:7:1	Fs: fase amarela turva. Fi: fase amarela transparente	3,34	0,38	11,37
2:1:7:2	Fs: fase amarela turva. Fi: branca turva	3,09	0,57	18,45
2:1:7:3	Fs: Leitosa- coágulo Fi: fase amarela opaca	3,59	0,83	23,12
2:1:7:4	Leitoso-coágulo	4,05	1,91	47,16
2:1:7:5	Fs: Leitosa-coágulo. Fi: fase amarela transparente	3,60	0,73	20,28
2:1:7:6	Fs: fase amarela transparente. Fi: Leitoso-coágulo	4,28	3,45	80,61
2:1:7:7	Fs: fase amarela turva. Leitosa-coágulo	4,02	2,77	68,91
2:1:7:8	Leitoso-coágulo	4,2	3,58	85,24
2:1:7:9	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso-coágulo	5,52	4,05	73,37
2:1:7:10	Fs: fase amarela turva. Fi: Leitoso-coágulo	5,07	4,30	84,81
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2:1:6:1	Fs: fase amarela turva. Fi: fase amarela transparente	3,22	0,42	13,04
2:1:6:2	Fs: fase amarela turva. Fi: fase branca turva	2,93	0,55	18,77
2:1:6:3	Fs: Leitosa-coágulo. Fi: fase amarela turva	3,17	0,75	23,66
2:1:6:4	Leitoso-coágulo	3,27	0,86	26,30
2:1:6:5	Leitoso-coágulo	3,42	0,00	0,00
2:1:6:6	Leitoso-coágulo	4,45	1,12	25,17
2:1:6:7	EL	4,80	0,00	0,00
2:1:6:8	Leitoso-coágulo	4,2	2,78	66,19
2:1:6:9	Leitosa-coágulo	4,42	4,04	91,40
2:1:6:10	Leitosa-coágulo	4,29	0,00	0,00
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
2:1:5:1	Fs: fase amarela turva. Fi: fase amarela transparente	2,83	0,33	11,66
2:1:5:2	Fs: fase amarela turva. Fm: Leitosa-coágulo. Fi: fase amarela transparente	3,00	0,50	16,66
2:1:5:3	Fs: Leitosa-coágulo. Fi: fase amarela turva	3,13	0,72	23,00
2:1:5:4	Fs: Leitosa-coágulo. Fi: fase amarela turva	3,26	0,87	26,69
2:1:5:5	Fs: fase amarela opaca. Fi: Leitosa-coágulo	4,00	2,80	70,00
2:1:5:6	EL	4,65	0,00	0,00
2:1:5:7	Leitosa-coágulo	4,49	3,74	83,30
2:1:5:8	Leitosa-coágulo	4,77	4,18	87,63
2:1:5:9	Leitosa-coágulo	4,36	0,00	0,00
2:1:5:10	EL	6,15	5,70	92,68

*De acordo com a codificação dos tubos primeiro e segundo número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, terceiro número ao óleo e o quarto número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 10% e 10 para 55%.

Figura D.1. Diagrama de fases parcial de Span 80:PGPR:OS:água proporção 2:1 para Span 80 e PGPR. **SF:** Separação de Fases. **EL:** Emulsão Leitosa.



O índice de cremeação para a mistura de PGPR:Span 80:OS:água (Figura D.2) apresentou oscilação em todas as proporções, exceto para a proporção surfactante:óleo 1:9, a qual teve um aumento até uma concentração de água de 25% e depois o índice decresceu com o aumento da concentração de água. Talvez fosse necessário mais tempo para a completa definição das fases. Como se pode observar na Figura E do Apêndice I, o PGPR confere alta viscosidade às misturas, dificultando a difusão entre as fases e o equilíbrio dos sistemas.

Figura D.2. Índice de cremeação (%) de PGPR:Span 80:OS:água com proporção 2:1 para Span 80:PGPR.

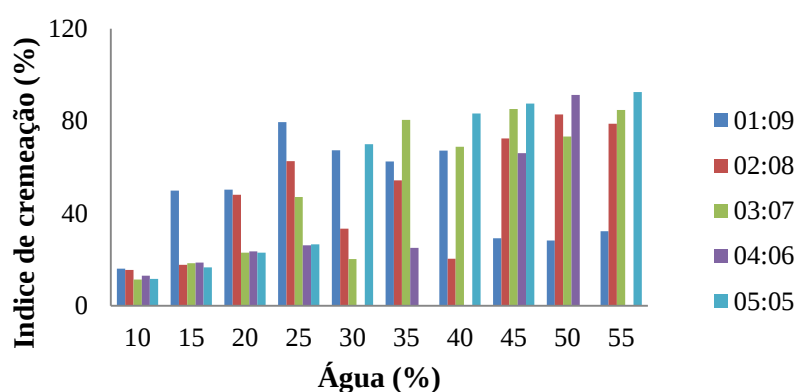


Tabela E. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80:PGPR:Etanol:OS:Água. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase meia. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
0,33:0,33:0,33:9:1	EL	3,38	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:2	EL	3,50	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:3	EL	3,74	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:4	EL	3,99	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:5	EL	4,16	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:6	EL	4,42	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:9:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,80	0,86	17,92
0,33:0,33:0,33:9:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,29	1,07	20,23
0,33:0,33:0,33:9:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,50	1,48	26,91
0,33:0,33:0,33:9:10	Fs: EL Fi: fase aquosa	6,30	2,30	36,51
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
0,33:0,33:0,33:8:1	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase leitosa	3,32	0,67	20,18
0,33:0,33:0,33:8:2	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,46	0,55	15,90
0,33:0,33:0,33:8:3	EL	3,73	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:8:4	EL	3,85	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:8:5	EL	4,20	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:8:6	EL	4,46	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:8:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,77	0,83	17,40
0,33:0,33:0,33:8:8	EL	5,29	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:8:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,70	0,68	11,93
0,33:0,33:0,33:8:10	Fs: EL. Fi: fase aquosa	6,42	1,11	17,29
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
0,33:0,33:0,33:7:1	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa transparente	3,27	0,68	20,80
0,33:0,33:0,33:7:2	Três fases: Fs: Fase oleosa. Fm: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,50	0,89	25,43
0,33:0,33:0,33:7:3	EL	3,60	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:7:4	EL	3,94	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:7:5	EL	4,12	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:7:6	EL	4,57	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:7:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,80	0,55	11,46
0,33:0,33:0,33:7:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,24	0,79	15,08
0,33:0,33:0,33:7:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,46	1,08	19,78
0,33:0,33:0,33:7:10	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,29	1,63	25,91
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
0,33:0,33:0,33:6:1	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa transparente	3,30	0,61	18,48
0,33:0,33:0,33:6:2	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa transparente	3,32	0,94	28,31
0,33:0,33:0,33:6:3	Fs: fase oleosa. Fi: Emulsão leitosa	3,67	0,90	24,52
0,33:0,33:0,33:6:4	Fs: EL. Fm: anel de óleo. Fi: aquosa esbranquiçada	3,94	0,85	21,57
0,33:0,33:0,33:6:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,15	0,66	15,90
0,33:0,33:0,33:6:6	EL	4,43	0,00	0,00

0,33:0,33:0,33:6:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,89	0,42	8,59
0,33:0,33:0,33:6:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,17	0,62	11,99
0,33:0,33:0,33:6:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,73	0,75	13,09
0,33:0,33:0,33:6:10	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,03	0,94	15,59
Proporção*	Características	H0	H	IC (%)
0,33:0,33:0,33:5:1	Fs: Etanol. Fi: fase opaca amarela	3,32	0,66	19,88
0,33:0,33:0,33:5:2	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa transparente	3,48	0,97	27,87
0,33:0,33:0,33:5:3	Fs: fase opaca amarela. Fi: fase aquosa transparente	3,65	1,17	32,05
0,33:0,33:0,33:5:4	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,87	0,57	14,73
0,33:0,33:0,33:5:5	Fs: EL. Fm: Anel de óleo. Fi: EL	4,05	0,00	0,00
0,33:0,33:0,33:5:6	Fs: EL. Fm: anel de óleo. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,42	0,85	19,23
0,33:0,33:0,33:5:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,75	0,67	14,11
0,33:0,33:0,33:5:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,26	0,51	9,70
0,33:0,33:0,33:5:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,60	0,59	10,54
0,33:0,33:0,33:5:10	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,11	0,83	13,58

*De acordo com a codificação os três primeiros números correspondem a proporção de surfactante:co-surfactante, quarto número ao óleo e o quinto número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 10% e 10 para 55%.

Figura E.1. Diagrama de fases parcial de PGPR:Span 80:etanol:OS:água; com proporção de PGPR:Span 80:etanol de 1:1:3. **SF**: Separação de Fases. **EL**: Emulsão Leitosa.

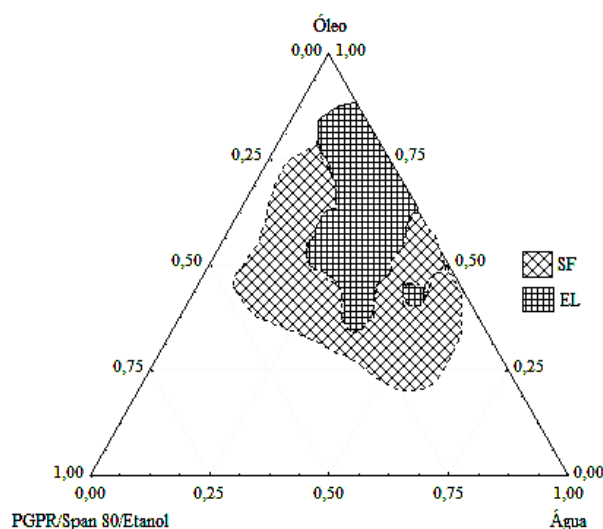


Figura E.2 Índice de cremeação (%) de PGPR:Span 80:etanol:OS:água; com proporção de PGPR:Span 80:etanol de 1:1:3.

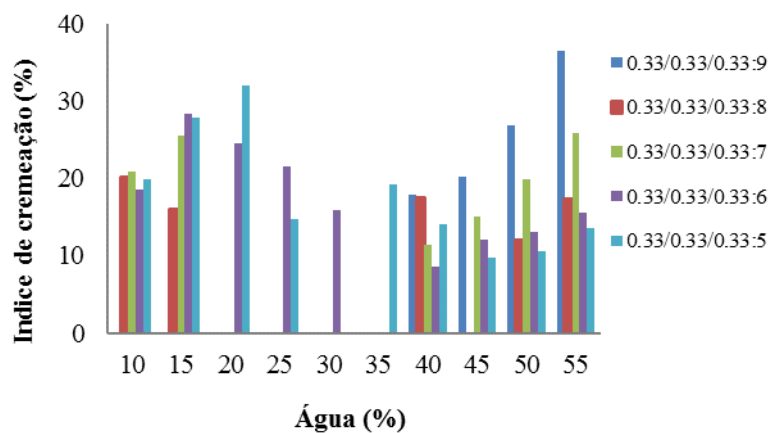


Tabela D. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80:Tween 80:Propilenoglicol:OS:Água. Surfactante: Co-surfactante (1:1). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fi:** Fase inferior.

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,01	0,40	19,90
1:9:2	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,10	1,37	65,24
1:9:3	EL	1,97	0,00	0,00
1:9:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,21	0,56	25,34
1:9:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,00	0,98	32,66
1:9:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,54	1,49	42,09
1:9:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,22	2,28	54,03
1:9:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,56	3,54	63,67
1:9:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,28	6,36	76,81
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela. Fi: fase leitosa	1,64	0,45	27,44
2:8:2	EL	2,10	0,00	0,00
2:8:3	EL	2,12	0,00	0,00
2:8:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,36	0,78	33,05
2:8:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,92	1,09	37,33
2:8:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,44	1,7	49,42
2:8:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,09	2,29	55,99
2:8:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,65	3,06	65,81
2:8:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	6,87	5,13	74,67
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase opaca. Fi: fase amarela transparente	2,00	0,60	30,0
3:7:2	Fs: fase amarela Fi: EL	2,09	1,29	61,72
3:7:3	EL	2,3	0,00	0,00
3:7:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,27	0,60	26,43
3:7:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,06	1,27	41,50
3:7:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,49	1,73	49,57
3:7:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,19	2,63	62,77

3:7:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,55	3,97	71,53
3:7:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,05	6,12	76,02
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	1,70	0,72	42,35
4:6:2	Fase composta por EL com separação de fase aquosa	2,17	0,00	0,00
4:6:3	EL	2,34	0,00	0,00
4:6:4	EL	2,5	0,00	0,00
4:6:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,93	1,49	50,85
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,47	1,8	51,87
4:6:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,3	2,69	62,56
4:6:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,52	4,02	72,83
4:6:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,13	6,49	79,83
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase opaca, Fi: fase amarela transparente	1,90	0,90	47,37
5:5:2	Fase opaca esbranquiçada	2,07	0,00	0,00
5:5:3	Amostra nas paredes do tubo com apariencia leitosa	1,50	0,00	0,00
5:5:4	EL	2,55	0,00	0,00
5:5:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa	3,00	0,88	29,33
5:5:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa	3,92	1,77	45,15
5:5:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa	4,19	2,61	62,29
5:5:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa	5,41	4,00	73,94
5:5:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa	8,13	6,41	78,84
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,99	1,10	55,28
6:4:2	Fs:Fase opaca.Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,07	1,16	56,04
6:4:3	Fs: opaca. Fi:EL	2,23	1,90	85,20
6:4:4	EL	2,52	0,00	0,00
6:4:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa	2,85	0,54	18,9
6:4:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,49	1,75	50,14
6:4:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,25	2,79	65,65
6:4:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,51	4,19	76,04
6:4:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	6,92	5,49	79,33
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	1,98	1,34	67,67
7:3:2	Fs:Fase opaca. Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,21	1,00	45,25
7:3:3	Fase opaca	1,31	0,00	0,00
7:3:4	Fs: EL. Fi: fase aquosa	1,5	0,30	20,00
7:3:5	EL	2,76	0,00	0,00
7:3:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,38	1,51	44,67
7:3:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,11	2,77	67,39
7:3:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,44	3,95	72,61
7:3:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,05	6,58	81,74
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
8:2:1	ME	1,72	0,00	0,00
8:2:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	2,00	1,59	79,50
8:2:3	Fs:Fase opaca. Fi: fase opaca	2,28	1,77	77,63

8:2:4	Fs: oleosa. Fi:EL	2,49	2,34	93,97
8:2:5	EL com amostra nas paredes	2,49	0,00	0,00
8:2:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,29	1,31	39,82
8:2:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,29	2,69	62,70
8:2:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,51	4,14	75,14
8:2:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,61	6,47	85,02
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
9:1:1	ME	1,60	0,00	0,00
9:1:2	ME	1,74	0,00	0,00
9:1:3	Fs: Transparente. Fi: presença de gotículas amarelas claras	2,09	1,66	79,43
9:1:4	Fs: EL. Fi: EL com presença de bolhas pequenas	2,05	1,03	50,24
9:1:5	Fs: EL. Fi: aquosa leitosa	2,78	1,14	41,01
9:1:6	EL	3,29	0,00	0,00
9:1:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,24	2,55	60,14
9:1:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,47	4,07	74,41
9:1:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,97	7,10	89,08

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 10 para 90%.

Tabela F. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80 :etanol:OS:água. **ME:** Microemulsão. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase média. **Fi:** Fase inferior. **R:**Resíduo.

A partir dos resultados obtidos com os surfactantes testados anteriormente, foi decidido construir um diagrama de fases parcial com Tween 80:Span 80 proporção 2:1 para os surfactantes e 3:1 proporção surfactante:co-surfactante, e Tween 80:Lecitina de soja proporção 1:1 para os surfactantes e 2:1 para a proporção surfactante:co-surfactante (Tabela G). O etanol foi usado como co-surfactante em ambos os diagramas, com a finalidade de determinar se a misturas deles tem potencial na formação de microemulsões W/O. Na primeira mistura foi encontrado um sistema com as características típicas de microemulsão (Tabela F, Figura F.1, Figura G do Apêndice I), ou seja, sem separação de fases e aparência oleosa transparente. Isso foi observado para a proporção 1:9 e com uma porcentagem de água de 10%. As demais proporções apresentaram separação de fases e formação de emulsão leitosa. Características similares de separação de fases e formação de emulsão foram encontradas na segunda mistura (Tabela G, Figura G.1 e Figura G.2 e Figura H do Apêndice I).

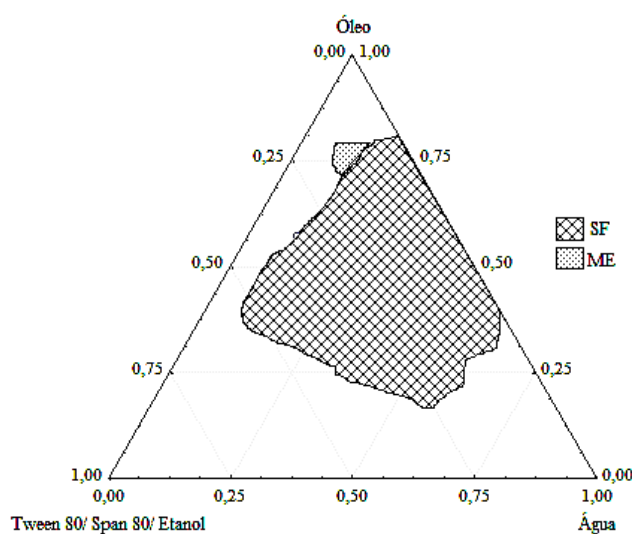
Li et al. (2014) obtiveram sistemas identificados como microemulsão com misturas de Tween 80 e Span 80 e etanol como co-surfactante com um EHL da mistura ≤ 8 , enquanto que o EHL da mistura testada aqui foi de 11,59, maior que o EHL onde se costuma encontrar

microemulsão W/O (Walstra, 2005). Sendo assim, seria importante avaliar outras proporções de ambos surfactantes (Tween 80:Span 80) e etanol como co-surfactante em um EHL da mistura menor que o que já foi testado e em valores de EHL < 7 , que é a faixa na qual podem se obter microemulsões W/O.

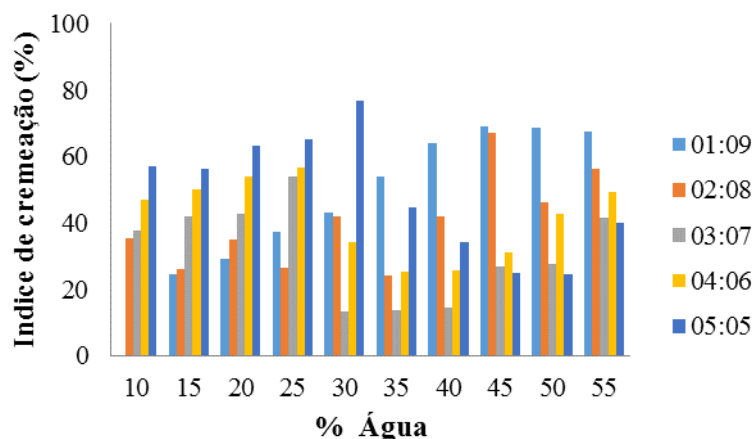
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	ME	2,83	0,00	0,00
1:9:2	Turvo	3,34	0,82	24,50
1:9:3	Fs: fase amarela, Fi: fase aquosa	3,70	1,08	29,18
1:9:4	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	4,00	1,49	37,25
1:9:5	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	4,14	1,78	42,99
1:9:6	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	4,57	2,46	53,82
1:9:7	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	4,75	3,03	63,78
1:9:8	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	4,85	3,34	68,86
1:9:9	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	5,67	3,88	68,43
1:9:10	Fs: fase amarela, Fm: EL, Fi: fase aquosa branca	6,05	4,07	67,27
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela, Fi: fase opaca	2,12	0,75	35,37
2:8:2	Fs: fase amarela, Fi: fase aquosa	2,9	0,76	26,20
2:8:3	Fs: fase amarela, Fm: anel leitoso, Fi: fase aquosa	3,26	1,14	34,97
2:8:4	Fs: fase amarela, Fm: anel leitoso, Fi: fase aquosa	3,25	0,86	26,46
2:8:5	Fs: fase amarela, Fm: anel leitoso, Fi: fase aquosa	3,54	1,48	41,81
2:8:6	Fs: anel de óleo, Fi: fase aquosa	3,76	0,9	23,94
2:8:7	Fs: anel de óleo, Fm: anel leitoso, Fi: fase aquosa	4,42	1,86	42,08
2:8:8	Fs: fase amarela, Fm: anel leitoso, Fi: fase aquosa	4,51	3,03	67,18
2:8:9	Fs: fase leitosa, Fi: fase aquosa	5,04	2,32	46,03
2:8:10	Fs: fase leitosa, Fi: fase aquosa	6,35	3,57	56,22
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase amarela etanol, Fi: fase oleosa	3,60	1,36	37,77
3:7:2	Fs: fase amarela etanol, Fi: fase oleosa	3,73	1,57	42,09
3:7:3	Fs: fase amarela etanol, Fi: fase oleosa	3,82	1,63	42,67
3:7:4	Fs: fase amarela etanol, Fm: fase EL, Fi: fase opaca	4,08	2,20	53,92
3:7:5	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,47	0,60	13,42
3:7:6	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,70	0,64	13,62
3:7:7	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	5,17	0,74	14,31
3:7:8	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	5,70	1,53	26,84
3:7:9	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	5,86	1,61	27,47
3:7:10	Fs: fase EL, Fi: fase opaca	6,69	2,79	41,70
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase amarela, Fi: fase oleosa opaca	3,78	1,77	46,82
4:6:2	Fs: fase amarela, Fi: fase oleosa opaca	3,83	1,91	49,87
4:6:3	Fs: fase amarela, Fi: fase oleosa opaca	4,02	2,16	53,73
4:6:4	Fs: fase amarela, Fi: fase oleosa opaca	4,14	2,35	56,76
4:6:5	Fs: fase EL, Fi: fase oleosa	4,51	1,54	34,15
4:6:6	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,72	1,2	25,42

4:6:7	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,39	1,12	25,51
4:6:8	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,87	1,52	31,21
4:6:9	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	6,25	2,67	42,72
4:6:10	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	5,84	2,87	49,14
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
5:5:1	Fs: fase etanol, Fi: fase oleosa	3,06	1,74	56,86
5:5:2	Fs: fase opaca etanol, Fi: fase oleosa	3,83	2,16	56,40
5:5:3	Fs: fase etanol, Fi: fase oleosa	3,37	2,13	63,20
5:5:4	Fs: fase etanol, Fi: fase opaca	4,22	2,75	65,16
5:5:5	Fs: fase etanol, Fm: EL, Fi: fase aquosa	4,53	3,48	76,82
5:5:6	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,78	2,14	44,77
5:5:7	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,50	1,54	34,22
5:5:8	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,95	1,24	25,05
5:5:9	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	4,57	1,11	24,28
5:5:10	Fs: fase EL, Fi: fase aquosa	5,95	2,37	39,83

Figura F.1. Diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:etanol:OS:água. **SF:** Separação de Fases. **ME:** Microemulsão.



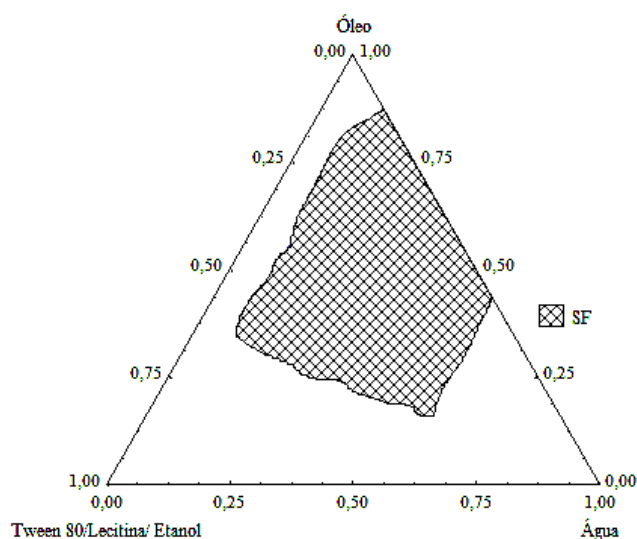
As proporções 1:9 e 2:8 tiveram um aumento no índice de cremeação com respeito à concentração de água, enquanto as demais proporções tiveram um leve aumento no IC% e depois um decréscimo a partir de uma concentração de 25-30% de água (Figura F.2).

Figura F.2. Índice de cremeação (%) de Tween 80: Span 80:etanol:OS:água.**Tabela G.** Características físicas construção diagrama de fases parcial de Tween 80:lecitina:etanol:OS:água. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase média. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase opaca, Fi: fase laranja opaca	3,40	0,76	22,35
1:9:2	Fs: fase amarela viscosa e turva, Fm: fase de cor creme leitosa, Fi: fase de cor laranja opaca	3,56	1,13	31,74
1:9:3	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase de cor laranja viscosa e opaca	3,68	1,14	30,98
1:9:4	Fs: fase amarela turva, Fm: fase de cor creme leitosa, Fi: fase laranja translúcida	3,49	1,33	38,11
1:9:5	Fs: fase amarela opaca, Fm: fase de cor creme leitosa, Fi: fase laranja translúcida	4,29	2,29	53,38
1:9:6	Fs: fase de cor creme e leitosa, Fi: fase amarela turva	4,56	1,63	35,75
1:9:7	Fs: fase de cor creme e leitosa, Fi: fase amarela turva	4,83	1,69	34,99
1:9:8	Fs: fase de cor creme e leitosa, Fi: fase amarela turva	5,17	2,17	41,97
1:9:9	Fs: fase de cor creme e leitosa, Fi: fase amarela turva	5,65	2,81	49,73
1:9:10	Fs: fase de cor creme e leitosa, Fi: fase amarela turva	6,49	3,58	55,16
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase laranja opaca	3,61	1,00	27,70
2:8:2	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase laranja opaca	3,79	1,36	35,88
2:8:3	Fs: fase amarela opaca, Fm: fase marrom, Fi: fase laranja opaca,	3,99	1,59	39,85
2:8:4	Fs: fase amarela viscosa e turva, Fm: fase de cor creme leitosa, Fi: fase de cor laranja opaca	4,16	2,04	49,04
2:8:5	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela translúcida	3,58	1,15	32,12
2:8:6	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela translúcida	4,62	1,8	38,96
2:8:7	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	5,99	3,23	53,92
2:8:8	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	4,66	2,26	48,50
2:8:9	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	6,00	3,15	52,50
2:8:10	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	6,53	3,86	59,11
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase amarela escura opaca, Fi: fase laranja opaca	3,70	1,3	35,14

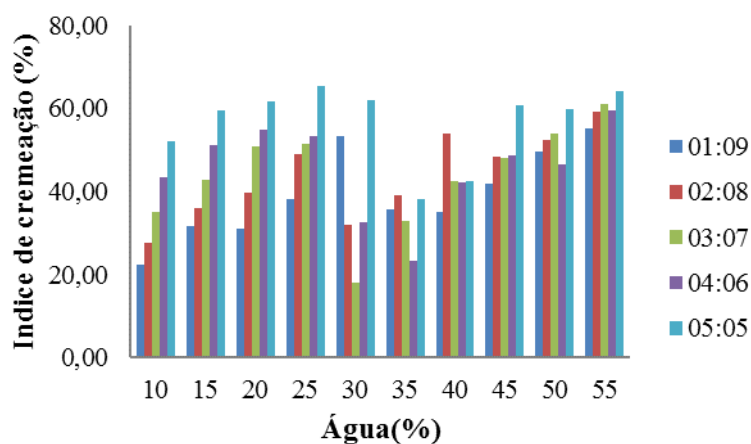
3:7:2	Fs: fase amarela escura opaca, Fi: fase laranja opaca	3,60	1,54	42,78
3:7:3	Fs: fase amarela escura turva, Fm: fase de cor marrom, Fi: fase laranja opaca	3,98	2,03	51,01
3:7:4	Fs: fase amarela escura turva, Fm: fase de cor marrom, Fi: fase laranja opaca	4,36	2,24	51,38
3:7:5	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela translucida	4,55	0,82	18,02
3:7:6	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela translucida	5,00	1,65	33,00
3:7:7	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela translucida	5,34	2,27	42,51
3:7:8	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	5,70	2,74	48,07
3:7:9	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	6,18	3,33	53,88
3:7:10	Fs: fase de cor creme leitosa, Fi: amarela turva	6,75	4,13	61,19
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase amarela escura opaca, Fm: marrom, Fi: fase laranja opaca	3,86	1,68	43,52
4:6:2	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase laranja opaca	3,85	1,97	51,17
4:6:3	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase laranja opaca	3,83	2,1	54,83
4:6:4	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase laranja opaca	4,47	2,38	53,24
4:6:5	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela translucida	4,76	1,55	32,56
4:6:6	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela translucida com resíduos da fase leitosa	5,05	1,18	23,37
4:6:7	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela translucida com resíduos da fase leitosa	5,47	2,31	42,23
4:6:8	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	6,08	2,96	48,68
4:6:9	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela translucida	5,84	2,71	46,40
4:6:10	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	7,70	4,59	59,61
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
5:5:1	Fase laranja opaca	4,00	2,09	52,25
5:5:2	Fs: fase laranja opaca, Fm: marrom, Fi: fase laranja opaca	4,06	2,42	59,61
5:5:3	Fs: fase amarela turva, Fi: fase laranja opaca com resíduo de lecitina	3,47	2,14	61,67
5:5:4	Fs: fase amarela turva com residuo de lecitina, Fm: marrom, Fi: fase laranja turva	3,74	2,45	65,51
5:5:5	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: laranja opaca	4,72	2,92	61,86
5:5:6	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela translucida com resíduos da fase leitosa	5,30	2,03	38,30
5:5:7	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	5,66	2,40	42,40
5:5:8	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	5,11	3,10	60,67
5:5:9	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	5,81	3,48	59,90
5:5:10	Fs: fase cor creme leitosa, Fi: amarela opaca	7,43	4,76	64,06

Figura G.1. Diagrama de fases parcial de Tween 80:lecitina:etanol:OS:água na proporção 1:1 para os surfactantes e 2:1 para a proporção surfactante:co-surfactante. **SF**: Separação de Fases.



Com respeito à outra mistura de Tween 80 com lecitina, todas as proporções apresentaram aumento no índice de cremeação com um decréscimo entre 25 e 30% de água para todas as proporções.

Figura G.2. Índice de cremeação (%) de Tween 80:lecitina:etanol:OS:água na proporção 1:1 para os surfactantes e 2:1 para a proporção surfactante:co-surfactante.



De acordo com Ushikubo e Cunha (2014), uma razão para a baixa estabilidade de emulsões de lecitina é o fato da lecitina testada não ter a sua concentração de fosfolipídios padronizada, além da molécula de lecitina só ter um grupo hidroxila na sua fórmula, o que não é suficiente para interagir com a água adicionada na solução. Isso exige a mistura de um co-surfactante para ajudar a formar sistemas que sejam mais estáveis, os quais dependem do pH adequado, temperatura, e razão de óleo:água. Já a lecitina enriquecida em fosfatidilcolina é melhor para emulsões O/W, enquanto a lecitina com maior concentração de

fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol é mais apropriada para a produção de emulsões de W/O (Xu *et al.*, 2011).

Tabela H. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80: PG :OS:água. Surfactante: Co-surfactante (3:1). **ME:** Microemulsão. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase média. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Devido aos resultados obtidos anteriormente foi decidido tentar reproduzir um sistema já reportado na literatura e que já tivesse resultado em região de microemulsão W/O, com o objetivo de verificar se a metodologia que vinha sendo usada em nosso trabalho estava apropriada. Assim, foi preparado o sistema apresentado por Fan *et al.* (2011), constituído de Tween 80:Span 80:PG com proporção de 3:1 da mistura surfactante:co-surfactante. Foram encontrados sistemas identificados como microemulsão a baixas concentrações de água a partir de 2,5 até 10% e com alta proporção surfactantes:óleo (Figura H.1, e Figura I do Apêndice I).

Embora tenham sido encontradas algumas proporções nas quais houve formação de microemulsão, isto poderia ser devido a que o propilenoglicol contém um grupo hidroxila a mais do que o etanol, o que poderia ter influenciado na formação das microemulsões. Uma possibilidade de exploração futura seria avaliar misturas de Tween 80:Span 80:etanol com um EHL mais baixo, bem como avaliar a adição de diferentes concentrações de sal, o que poderia ajudar a ampliar a área de microemulsão.

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
1:9:1	Fs: opaca, Fi: EL	3,68	0,67	18,20
1:9:2	Fs: opaca, Fi: EL	4,01	1,77	44,13
1:9:3	EL	4,14	0,00	0,00
1:9:4	Fs: EL, Fi: fase aquosa	4,49	0,30	6,68
1:9:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa	4,65	0,77	16,55
1:9:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,15	1,06	25,54
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase transparente amarela, Fm: EL, Fi:transparente amarela	3,61	1,54	42,65
2:8:2	Fs: transparente, Fi: EL	3,76	1,7	45,21
2:8:3	EL	4,17	0,00	0,00
2:8:4	EL	4,31	0,00	0,00
2:8:5	Fs: EL , Fi: fase aquosa	4,53	0,35	7,72
2:8:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,94	0,82	16,59
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase opaca, Fi: fase amarela opaca	3,63	0,12	3,31
3:7:2	Fs: fase transparente, Fi: EL	3,7	2,09	56,49

3:7:3	Fs: fase transparente, Fm: EL, Fi: fase amarela transparente	4,09	2,3	56,23
3:7:4	EL	3,76	0,00	0,00
3:7:5	EL	4,43	0,00	0,00
3:7:6	EL	4,83	0,00	0,00
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,13	1,29	41,21
4:6:2	Fs: fase opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,30	1,46	44,24
4:6:3	Fs: fase transparente, Fm: EL, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,98	3,08	77,39
4:6:4	EL	4,18	0,00	0,00
4:6:5	EL	4,60	0,00	0,00
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa transparente,	4,91	0,42	8,55
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase opaca Fi: fase amarela transparente	3,12	1,61	51,60
5:5:2	Fs:Fase opaca Fi: fase amarela transparente	3,74	2,08	55,61
5:5:3	Fs:EL Fi: fase amarela opaca	3,39	1,12	33,04
5:5:4	EL	4,15	0,00	0,00
5:5:5	EL	4,50	0,00	0,00
5:5:6	Fs: EL, Fi: amarela transparente,	4,13	0,64	15,50
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,6	2,3	64,30
6:4:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,9	2,6	66,50
6:4:3	Fs:E, Fi: fase amarela transparente,	3,8	2,20	59,00
6:4:4	Fs:EL, Fi: amarela transparente,	3,5	0,60	17,50
6:4:5	EL	4,3	0,00	0,00
6:4:6	EL	4,8	0,00	0,00
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs: amarela transparente, Fi: amarela transparente	3,4	2,80	81,90
7:3:2	Fs: amarela transparente, Fi: amarela transparente	3,7	2,90	79,80
7:3:3	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fm: mistura Fi: fase opaca	3,3	2,70	81,30
7:3:4	Fs: EL, Fi: fase amarela transparente	4,0	1,20	29,80
7:3:5	EL	4,3	0,00	0,00
7:3:6	EL	4,6	0,00	0,00
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
8:2:1	ME	3,4	0,00	0,00
8:2:2	ME	3,6	0,00	0,00
8:2:3	Fase opaca,	3,6	0,00	0,00
8:2:4	Fs: Mistura de óleo e água, Fi: amarela transparente	3,8	1,60	41,20
8:2:5	Fs: Emulsão, Fi: aquosa	4,2	0,40	9,30
8:2:6	EL	4,6	0,00	0,00
Proporção	Características	H₀	H	IC(%)
9:1:1	ME	3,33	0,00	0,00
9:1:2	ME	3,57	0,00	0,00
9:1:3	Opaca	3,42	0,00	0,00
9:1:4	EL	3,88	0,00	0,00
9:1:5	EL	4,28	0,00	0,00
9:1:6	EL	3,89	0,00	0,00

Figura H.1. Diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:PG:OS:Água. **SF:** Separação de Fases. **ME:** Microemulsão.

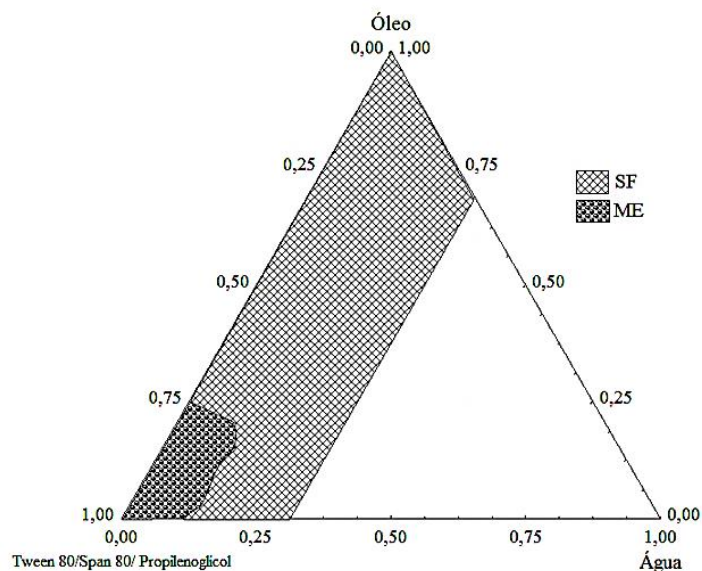


Tabela I. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80:Tween 80:Propilenoglicol:OS:Água. Proporções surfactante:co-surfactante (1:1). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fi:** Fase inferior.

Foram construídos diagramas de fases com duas proporções de surfactante:co-surfactante diferentes (1:1) e (2:1), onde foram obtidos resultados similares, com a formação de ME nas proporções 9:1 e 8:2 com 5 e 10% de água. Nas demais proporções foi evidenciado separação de fases ou formação de emulsão leitosa. As características físicas, assim como o índice de cremação podem ser observados nas Tabelas I e J e Figura J do Apêndice I. Na Figura I.1 pode ser observada a localização dos sistemas encontrados no diagrama de fases.

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,01	0,40	19,90
1:9:2	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,1	1,37	65,24
1:9:3	EL	1,97	0,00	0,00
1:9:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,21	0,56	25,34
1:9:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,00	0,98	32,66
1:9:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,54	1,49	42,09
1:9:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,22	2,28	54,03
1:9:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,56	3,54	63,67

1:9:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,28	6,36	76,81
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela. Fi: fase leitosa	1,64	0,45	27,44
2:8:2	EL	2,10	0,00	0,00
2:8:3	EL	2,12	0,00	0,00
2:8:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,36	0,78	33,05
2:8:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,92	1,09	37,33
2:8:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,44	1,70	49,42
2:8:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,09	2,29	55,99
2:8:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,65	3006	64,64
2:8:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	6,87	5,13	74,67
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase opaca. Fi: fase amarela transparente	2,00	0,60	30,00
3:7:2	Fs: fase amarela Fi: EL	2,09	1,29	61,72
3:7:3	EL	2,30	0,00	0,00
3:7:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,27	0,60	26,43
3:7:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,06	1,27	41,50
3:7:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,49	1,73	49,57
3:7:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,19	2,63	62,77
3:7:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,55	3,97	71,53
3:7:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,05	6,12	76,02
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	1,70	0,72	42,35
4:6:2	Fase composta por EL com separação de fase aquosa	2,17	0,00	0,00
4:6:3	EL	2,34	0,00	0,00
4:6:4	EL	2,50	0,00	0,00
4:6:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,93	1,49	50,85
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,47	1,80	51,87
4:6:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,30	2,69	62,56
4:6:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,52	4,02	72,83
4:6:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,13	6,49	79,83
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase opaca. Fi: fase amarela transparente	1,90	0,90	47,37
5:5:2	Fase opaca esbranquiçada	2,07	0,00	0,00
5:5:3	Amostra nas paredes do tubo com aparência leitosa	1,50	0,00	0,00
5:5:4	EL	2,55	0,00	0,00
5:5:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,00	0,88	29,33
5:5:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,92	1,77	45,15
5:5:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,19	2,61	62,29
5:5:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,41	4,00	73,94
5:5:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	8,13	6,41	78,84
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	1,99	1,10	55,28
6:4:2	Fs:Fase opaca.Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,07	1,16	56,04
6:4:3	Fs: opaca. Fi:EL	2,23	1,90	85,20
6:4:4	EL	2,52	0,00	0,00

6:4:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa	2,85	0,54	18,95
6:4:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,49	1,75	50,14
6:4:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,25	2,79	65,65
6:4:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,51	4,19	76,04
6:4:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	6,92	5,49	79,34
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	1,98	1,34	67,68
7:3:2	Fs:Fase opaca. Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,21	1,00	45,25
7:3:3	Fase opaca	1,31	0,00	0,00
7:3:4	Fs: EL. Fi: fase aquosa	1,50	0,30	20,00
7:3:5	EL	2,19	1,20	54,79
7:3:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,38	1,51	44,67
7:3:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,11	2,77	67,40
7:3:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,44	3,95	72,61
7:3:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,05	6,58	81,74
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
8:2:1	ME	1,72	0,00	0,00
8:2:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	2,00	1,59	79,5
8:2:3	Fs:Fase opaca. Fi: fase opaca	2,28	1,77	77,63
8:2:4	Fs: oleosa. Fi:EL	2,49	2,34	93,989
8:2:5	EL com amostra nas paredes	2,49	0,00	0,00
8:2:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,29	1,31	39,82
8:2:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,29	2,69	62,70
8:2:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,51	4,14	75,14
8:2:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,61	6,47	85,02
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
9:1:1	ME	1,60	0,00	0,00
9:1:2	ME	1,74	0,00	0,00
9:1:3	Fs: Transparente. Fi: presença de gotículas amarelas claras	2,09	1,66	79,42
9:1:4	Fs: EL. Fi: EL com presença de bolhas pequenas	2,05	1,03	50,24
9:1:5	Fs: EL. Fi: aquosa leitosa	2,78	1,14	41,01
9:1:6	EL	3,29	0,00	0,00
9:1:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,24	2,55	60,14
9:1:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,47	4,07	74,40
9:1:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,97	7,10	89,08

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 10 para 90%.

Tabela J. Características físicas do diagrama de fases parcial de Span 80:Tween 80:Propilenoglicol:OS:Água. Surfactante: Co-surfactante (2:1). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fi:** Fase inferior.

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,01	0,40	19,90
1:9:2	Fs: fase amarela Fi: fase leitosa	2,1	1,37	65,24
1:9:3	EL	1,97	0,00	0,00
1:9:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,21	0,56	25,34

1:9:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,00	0,98	32,66
1:9:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,54	1,49	42,09
1:9:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,22	2,28	54,03
1:9:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,56	3,54	63,67
1:9:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,28	6,36	76,81
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela. Fi: fase leitosa	1,64	0,45	27,44
2:8:2	EL	2,10	0,00	0,00
2:8:3	EL	2,12	0,00	0,00
2:8:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,36	0,78	33,05
2:8:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,92	1,09	37,33
2:8:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,44	1,70	49,42
2:8:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,09	2,29	55,99
2:8:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,65	3,06	64,64
2:8:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	6,87	5,13	74,67
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase opaca. Fi: fase amarela transparente	2,00	0,60	30,00
3:7:2	Fs: fase amarela Fi: EL	2,09	1,29	61,72
3:7:3	EL	2,30	0,00	0,00
3:7:4	Fs: EL Fi: fase aquosa	2,27	0,60	26,43
3:7:5	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,06	1,27	41,50
3:7:6	Fs: EL Fi: fase aquosa	3,49	1,73	49,57
3:7:7	Fs: EL Fi: fase aquosa	4,19	2,63	62,77
3:7:8	Fs: EL Fi: fase aquosa	5,55	3,97	71,53
3:7:9	Fs: EL Fi: fase aquosa	8,05	6,12	76,02
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	1,70	0,72	42,35
4:6:2	Fase composta por EL com separação de fase aquosa	2,17	0,00	0,00
4:6:3	EL	2,34	0,00	0,00
4:6:4	EL	2,50	0,00	0,00
4:6:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,93	1,49	50,85
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,47	1,80	51,87
4:6:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,30	2,69	62,56
4:6:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,52	4,02	72,83
4:6:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,13	6,49	79,83
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase opaca. Fi: fase amarela transparente	1,90	0,90	47,37
5:5:2	Fase opaca esbranquiçada	2,07	0,00	0,00
5:5:3	Amostra nas paredes do tubo com aparência leitosa	1,50	0,00	0,00
5:5:4	EL	2,55	0,00	0,00
5:5:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,00	0,88	29,33
5:5:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,92	1,77	45,15
5:5:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,19	2,61	62,29
5:5:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,41	4,00	73,94
5:5:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	8,13	6,41	78,84
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)

6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	1,99	1,10	55,28
6:4:2	Fs:Fase opaca.Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,07	1,16	56,04
6:4:3	Fs: opaca. Fi:EL	2,23	1,90	85,20
6:4:4	EL	2,52	0,00	0,00
6:4:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa	2,85	0,54	18,95
6:4:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa	3,49	1,75	50,14
6:4:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa	4,25	2,79	65,65
6:4:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa	5,51	4,19	76,04
6:4:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa	6,92	5,49	79,34
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	1,98	1,34	67,68
7:3:2	Fs:Fase opaca. Fm: transparente. Fi: fase opaca	2,21	1,00	45,25
7:3:3	Fase opaca	1,31	0,00	0,00
7:3:4	Fs: EL. Fi: fase aquosa	1,50	0,30	20,00
7:3:5	EL	2,19	1,20	54,79
7:3:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,38	1,51	44,67
7:3:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,11	2,77	67,40
7:3:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,44	3,95	72,61
7:3:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	8,05	6,58	81,74
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
8:2:1	ME	1,72	0,00	0,00
8:2:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente. Fi: fase amarela transparente	2,00	1,59	79,5
8:2:3	Fs:Fase opaca. Fi: fase opaca	2,28	1,77	77,63
8:2:4	Fs: oleosa. Fi:EL	2,49	2,34	93,989
8:2:5	EL com amostra nas paredes	2,49	0,00	0,00
8:2:6	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,29	1,31	39,82
8:2:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,29	2,69	62,70
8:2:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,51	4,14	75,14
8:2:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,61	6,47	85,02
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
9:1:1	ME	1,60	0,00	0,00
9:1:2	ME	1,74	0,00	0,00
9:1:3	Fs: Transparente. Fi: presença de gotículas amarelas claras	2,09	1,66	79,42
9:1:4	Fs: EL. Fi: EL com presença de bolhas pequenas	2,05	1,03	50,24
9:1:5	Fs: EL. Fi: aquosa leitosa	2,78	1,14	41,01
9:1:6	EL	3,29	0,00	0,00
9:1:7	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,24	2,55	60,14
9:1:8	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,47	4,07	74,40
9:1:9	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,97	7,1	89,08

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 10 para 90%.

Figura I.1 Diagrama de fases de Tween 80:Span 80:PG:OS:Água. **SF**: Separação de Fases. **ME**: Microemulsão. Proporções surfactante: co-surfactante (1:1) e (2:1).

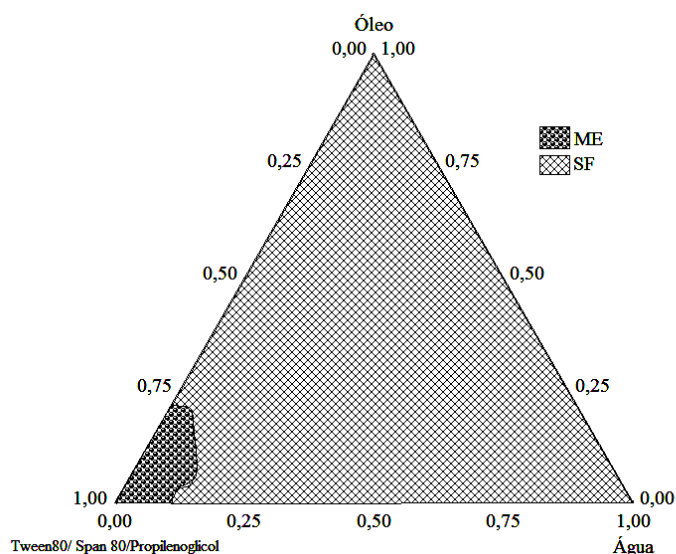


Tabela K. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:Etanol:OS:Água. Proporção surfactantes (1:1) **EL**: Emulsão Leitosa. **Fs**: Fase Superior. **Fm**: Fase meia. **Fi**: Fase inferior. **R**: Resíduo.

Foram testados também outras proporções com o etanol como co-surfactante e o resultado foi similar nos três sistemas, com separação de fases em todas as regiões do diagrama. A descrição das características e as imagens dos sistemas podem ser encontradas nas (Tabela K, L e M) e no Apêndice I (Figuras K e L).

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase opaca, Fi: fase transparente	1,74	0,38	21,84
1:9:2	Fs: fase opaca, Fi: fase transparente	2,24	0,59	26,34
1:9:3	Fase esbranquiçada leitosa	2,54	2,54	100
1:9:4	Fs: Fase leitosa, Fi: fase transparente	2,89	0,52	17,99
1:9:5	Fs: Fase leitosa, Fi: fase transparente	2,78	0,98	35,25
1:9:6	Fs: Fase leitosa, Fi: fase transparente	3,73	1,59	42,63
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela opaca, Fi:transparente	2,24	0,64	28,57
2:8:2	Fs: fase amarela transparente, Fi:transparente	2,00	0,68	34,00
2:8:3	Fs: fase opaca, Fi:transparente	2,14	0,86	40,19
2:8:4	Fs: EL, Fi: transparente	2,45	0,89	36,33
2:8:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,18	1,37	43,08
2:8:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,61	1,87	51,80
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase amarela opaca com gotículas de óleo, Fi: fase amarela transparente	2,17	0,72	33,18
3:7:2	Fs: fase amarela opaca com gotículas de óleo, Fi: fase amarela transparente	2,32	1,09	46,98
3:7:3	Fs: fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,55	1,13	44,31

3:7:4	Fs: amarela opaca, Fi: transparente com gotículas de óleo	2,47	1,28	51,82
3:7:5	Fs: amarela opaca, Fi: fase transparente	3,24	1,77	54,63
3:7:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa	3,72	2,18	58,60
3:7:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa	2,17	0,72	33,18
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase oleosa amarela transparente	2,99	1,74	58,19
4:6:2	Fs: amarela opaca com gotículas de óleo, Fi: amarela transparente	2,29	1,04	45,41
4:6:3	Fs: amarela transparente, Fi: transparente com gotículas de óleo	2,25	1,21	53,78
4:6:4	Fs: amarela opaca, Fi: transparente com gotículas de óleo.	2,33	1,34	57,51
4:6:5	Fs: amarela opaca, Fi: transparente com gotículas de óleo	3,18	2,01	63,21
4:6:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,76	2,43	64,63
4:6:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,99	1,74	58,19
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,23	1,11	49,77
5:5:2	Fs:Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,32	1,29	55,60
5:5:3	Fs:Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,53	1,50	59,29
5:5:4	Fs:Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,83	1,24	43,82
5:5:5	Fs: branca opaca, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,23	2,14	66,25
5:5:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,66	2,61	71,31
5:5:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,23	1,11	49,78
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,18	1,42	65,14
6:4:2	Fs:Fase amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,31	1,37	59,31
6:4:3	Fs:Fase amarela e opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,51	1,64	65,34
6:4:4	Fs:Fase amarela e opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,74	1,9	69,34
6:4:5	Fs:Fase branca opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	3,12	2,15	68,91
6:4:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,63	2,23	61,43
6:4:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,18	1,42	65,14
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente com gotículas de óleo, Fi: fase amarela opaca	2,26	1,34	59,29
7:3:2	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,32	1,00	43,10
7:3:3	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,5	0,00	0,00
7:3:4	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,87	0,30	10,45
7:3:5	Fs:EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada opaca	3,17	1,20	37,85
7:3:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,69	1,51	40,92
7:3:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,26	1,34	59,29
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
8:2:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,97	0,88	44,67
8:2:2	Fs:Fase amarela transparente com gotículas de óleo, Fi: fase opaca	2,32	0,91	39,22
8:2:3	Fs:Fase oleosa amarela transparente, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,51	1,92	76,49
8:2:4	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,89	2,2	76,12
8:2:5	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	3,09	2,5	80,91
8:2:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,68	3,12	84,78
8:2:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	1,97	0,88	44,67
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)

9:1:1	Fs:fase amarela transparente com gotículas de óleo, Fi: Fase oleosa amarela opaca	2,16	0,70	32,41
9:1:2	Fs:fase amarela transparente com gotículas de óleo, Fi: Fase oleosa amarela opaca	2,32	0,91	39,22
9:1:3	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,55	2,08	81,57
9:1:4	Fs: amarela opaca, Fi: amarela opaca.	2,50	2,05	82,00
9:1:5	Fs:Fase oleosa amarela opaca, Fi: fase amarela opaca com gotículas de óleo	3,12	2,70	86,54
9:1:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,17	2,83	89,27
9:1:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,16	0,70	32,41

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 9 para 90%.

Tabela L. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:Etanol:OS:Água.Proporção surfactante (1:2). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase meia. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase transparente	2,34	0,41	17,52
1:9:2	Fs: fase amarela opaca om anel leitoso, Fi: fase opaca	2,36	1,46	61,86
1:9:3	Fase opaca	2,65	0,00	0,00
1:9:4	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	2,96	0,64	21,62
1:9:5	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	3,36	1,01	30,06
1:9:6	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	3,91	1,67	42,71
1:9:7	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	4,78	2,41	50,42
1:9:8	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	5,25	3,25	61,90
1:9:9	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	8,94	6,55	73,26
1:9:10	Fs: Fase leitosa, Fi: fase branca opaca	9,06	7,67	84,66
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela opaca com gotículas de oleo, Fi: fase amarela transparente	2,39	0,64	26,78
2:8:2	Fs: fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,30	0,91	39,56
2:8:3	Fs: fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	2,63	0,97	36,88
2:8:4	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	2,54	0,46	18,11
2:8:5	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	3,37	1,15	34,12
2:8:6	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	3,94	1,81	45,93
2:8:7	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	4,7	2,63	55,95
2:8:8	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	6,00	3,91	65,16
2:8:9	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	8,89	6,64	74,69
2:8:10	Fs: Fase leitosa. Fi: fase branca opaca	8,81	7,47	84,79
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase amarela opaca com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,22	0,73	32,88
3:7:2	Fs: fase amarela opaca com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,37	0,92	38,82
3:7:3	Fs: fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	2,61	1,18	45,21
3:7:4	Fs: fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	2,94	1,41	47,96
3:7:5	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	3,27	1,01	30,89
3:7:6	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	3,86	2,12	54,92
3:7:7	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	4,55	2,83	62,20
3:7:8	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	6,14	4,41	71,82
3:7:9	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	8,89	6,62	74,46
3:7:10	Fs:EL. Fi: fase branca opaca	9,06	7,84	86,53

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase oleosa amarela transparente. Fi: fase amarela opaca com gotículas de óleo	2,35	1,85	78,72
4:6:2	Fs: fase amarela opaca com gotículas de óleo. Fi: fase oleosa amarela transparente	2,48	1,05	42,34
4:6:3	Fs: fase oleosa amarela transparente. Fi: fase amarela opaca com gotículas de óleo	2,60	1,29	49,61
4:6:4	Fs: amarela opaca. Fi: amarela transparente	3,02	1,64	54,30
4:6:5	Fs: amarela opaca. Fi: branca opaca	3,25	2,00	61,54
4:6:6	Fs: EL. Fi: fase opaca	3,42	2,01	58,77
4:6:7	Fs: EL. Fi: fase opaca	4,63	3,17	68,47
4:6:8	Fs: EL. Fi: fase opaca	6,14	4,61	75,08
4:6:9	Fs: EL. Fi: fase opaca	8,67	6,70	77,28
4:6:10	Fs: EL. Fi: fase opaca	8,27	7,30	88,27
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs: fase amarela transparente Fi: fase amarela transparente	2,35	1,59	67,65
5:5:2	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,11	1,12	53,08
5:5:3	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,55	1,4	54,90
5:5:4	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente	3,01	1,77	58,80
5:5:5	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente	3,43	2,20	64,13
5:5:6	Fs: EL. Fi: fase opaca	3,84	1,73	45,05
5:5:7	Fs: EL Fi: fase opaca	4,73	2,95	62,36
5:5:8	Fs: EL. Fi: fase opaca	6,01	4,45	74,04
5:5:9	Fs: EL. Fi: fase opaca	8,68	7,08	81,56
5:5:10	Fs: EL. Fi: fase opaca	9,07	8,25	90,95
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs: Fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,12	1,41	66,51
6:4:2	Fs: Fase amarela e opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,19	1,49	68,04
6:4:3	Fs: Fase amarela e opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,76	1,66	60,14
6:4:4	Fs: Fase amarela e opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,9	1,92	66,21
6:4:5	Fs: Fase amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	3,34	2,31	69,16
6:4:6	Branca leitosa	3,87	0,00	0,00
6:4:7	Fs: EL. Fi: fase opaca	4,69	3,21	68,44
6:4:8	Fs: EL. Fi: fase opaca	6,09	4,61	75,70
6:4:9	Fs: EL. Fi: fase opaca	7,55	6,27	83,04
6:4:10	Fs: EL. Fi: fase opaca	9,11	8,26	90,67
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs: Fase oleosa amarela e transparente com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,33	1,29	55,36
7:3:2	Fs: Fase oleosa amarela opaca. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,39	1,30	54,39
7:3:3	Fs: Fase oleosa amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	2,65	1,81	68,30
7:3:4	Fs: Fase oleosa amarela opaca. Fi: fase amarela transparente	2,95	2,13	72,20
7:3:5	Fs: EL. Fi: fase aquosa esbranquiçada opaca	3,35	2,45	73,13
7:3:6	EL	3,88	0,00	0,00
7:3:7	Fs: EL. Fi: fase opaca	4,77	3,14	65,82
7:3:8	Fs: EL. Fi: fase opaca	5,99	462	77,12
7:3:9	Fs: EL. Fi: fase opaca	8,96	7,38	82,36
7:3:10	Fs: EL. Fi: fase opaca	9,13	8,36	91,56
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)

8:2:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,38	1,17	49,16
8:2:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,47	1,22	49,39
8:2:3	Fs:Fase oleosa amarela transparente. Fi: fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,63	2,09	79,47
8:2:4	Fs:Fase oleosa amarela e transparente com gotículas de óleo. Fi: fase amarela transparente	2,91	2,21	75,94
8:2:5	Fs:Fase oleosa amarela transparente. Fi: fase amarela transparente	3,33	2,62	78,68
8:2:6	EL	3,79	0,00	0,00
8:2:7	EL	4,12	0,00	0,00
8:2:8	Fs: EL Fi: fase opaca	5,98	5,11	85,45
8:2:9	Fs: EL. Fi: fase opaca	9,01	7,59	84,24
8:2:10	Fs: EL. Fi: fase opaca	6,55	6,14	93,74

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
9:1:1	Fs: Fase oleosa amarela transparente. Fi: fase amarela transparente	2,31	0,98	42,42
9:1:2	Fs: fase amarela transparente com gotículas de óleo. Fi: Fase oleosa amarela transparente	2,17	0,92	42,40
9:1:3	Fs: fase amarela transparente com gotículas de óleo. Fi: Fase oleosa amarela transparente	2,63	0,94	35,74
9:1:4	Fs: Fase oleosa amarela transparente. Fi:fase amarela transparente com gotículas de óleo	2,59	2,07	79,92
9:1:5	Fs: Fase oleosa amarela opaca. Fi: fase amarela opaca com gotículas de óleo	2,77	2,32	83,75
9:1:6	Fs: amarela transparente. Fi:turva com óleo no fundo	3,76	2,43	64,63
9:1:7	EL	4,67	0,00	0,00
9:1:8	EL	6,13	0,00	0,00
9:1:9	EL	8,65	0,00	0,00
9:1:10	EL	9,08	0,00	0,00

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 10 para 90%.

Tabela M. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:Etanol:OS:Água. Proporção surfactantes(1:8). **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase meia. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
1:9:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase aquosa transparente.	2,12	0,33	15,57
1:9:2	Fs: fase amarela opaca, Fi: EL	2,24	0,52	23,21
1:9:3	EL	2,34	0,00	0,00
1:9:4	Fs: EL, Fi: fase aquosa	2,58	0,53	20,54
1:9:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa	2,56	0,76	29,69
1:9:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa	3,49	1,32	37,82
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase aquosa transparente	2,03	0,36	17,73
2:8:2	Fs: fase amarela opaca, Fi: EL	1,89	0,46	24,34
2:8:3	EL	2,15	0,00	0,00
2:8:4	EL	2,65	0,00	0,00
2:8:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,02	0,99	32,78
2:8:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,42	1,37	40,06

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase aquosa transparente	2,04	0,52	25,4
3:7:2	Fs: fase amarela opaca, Fi: fase aquosa transparente	2,10	0,57	27,14
3:7:3	Fs: fase amarela opaca, Fi: EL	2,36	0,82	34,74
3:7:4	EL	2,56	0,00	0,00
3:7:5	EL	2,79	0,00	0,00
3:7:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,32	1,42	42,77
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase opaca amarela, Fi: fase transparente amarela	1,98	0,46	23,23
4:6:2	Fs: fase opaca amarela, Fi: fase transparente amarela	2,06	0,62	30,09
4:6:3	Fs: fase opaca amarela, Fi: EL	2,21	0,89	40,27
4:6:4	Fs: fase opaca amarela, Fi: EL	2,44	1,26	51,64
4:6:5	Fs: fase alcoolica, Fi: EL	2,82	2,46	87,23
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	3,37	0,58	17,21
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs: Fase amarela transparente Fi: fase amarela transparente	1,71	0,53	30,99
5:5:2	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente	1,96	0,7	35,71
5:5:3	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente	2,20	0,9	40,90
5:5:4	Fs: Fase amarela opaca Fi: bolha de óleo	2,42	1,23	50,82
5:5:5	Fs: Fase amarela opaca, Fm: EL, Fi: fase aquosa transparente	2,33	1,84	78,96
5:5:6	EL	3,27	0,00	0,00
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente	1,88	0,63	33,51
6:4:2	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente	1,92	0,64	33,33
6:4:3	Fs: Fase amarela opaca Fi: fase amarela transparente	2,12	0,99	46,69
6:4:4	Fs: Fase transparente amarela, Fi: mistura óleo-agua-etanol	2,31	1,34	58,00
6:4:5	Fs: Fase opaca amarela, Fi: mistura óleo-agua-etanol	2,34	1,39	59,40
6:4:6	Mistura óleo-agua-etanol	3,29	0,00	0,00
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,65	0,58	35,15
7:3:2	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,68	0,73	43,45
7:3:3	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	2,02	1,00	49,50
7:3:4	Fs: Fase amarela transparente, Fi: mistura óleo-agua-etanol	2,26	1,42	62,83
7:3:5	Fs: Fase opaca, Fi: mistura óleo-agua-etanol	3,03	2,45	80,85
7:3:6	Fase opaca	3,43	0,00	0,00
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
8:2:1	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,82	0,52	28,57
8:2:2	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	1,94	0,80	41,23
8:2:3	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	2,03	1,08	53,20
8:2:4	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase opaca	2,28	1,35	59,21
8:2:5	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase aquosa transparente com bolhas de óleo	2,57	1,63	63,42
8:2:6	Fs: Fase amarela e transparente, Fi: fase aquosa transparente com bolhas de óleo	3,03	2,07	68,31
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
9:1:1	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente	1,79	1,41	78,77
9:1:2	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente	1,87	1,20	64,17

9:1:3	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase amarela transparente	1,99	1,10	55,27
9:1:4	Fs: Fase amarela transparente, Fi: fase opaca aquosa	2,17	1,33	61,29
9:1:5	Fs: Fase amarela transparente, Fi: mistura óleo-agua-etanol	2,50	1,69	67,60
9:1:6	Fs: Fase amarela transparente, Fi: mistura óleo-agua-etanol	2,86	2,08	72,72

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 6 para 50%.

Tabela I. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:PG:OS:Água.EHL:9.70. EL: Emulsão Leitosa. Fs: Fase Superior. Fm: Fase meia. Fi: Fase inferior. R: Resíduo.

Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
1:9:1	Fase transparente com partículas brancas	2,98	0,00	0,00
1:9:2	Fs: opaca, Fi: EL	3,30	0,89	26,97
1:9:3	Fs: opaca, Fm: EL anel, Fi: aquosa opaca	4,07	1,17	28,75
1:9:4	Fs: EL, Fi: fase aquosa transparente	4,36	0,28	6,42
1:9:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,61	1,10	23,86
1:9:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa transparente	5,00	1,27	25,40
1:9:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,73	1,17	42,86
1:9:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,22	2,59	61,37
1:9:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,64	10,06	86,43
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase opaca amarela, Fi: opaca amarela	3,68	0,92	25,00
2:8:2	Fase transparente com partículas brancas	2,89	0,00	0,00
2:8:3	Fs: opaca, Fi: EL	4,15	3,47	83,61
2:8:4	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,38	0,34	7,76
2:8:5	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,66	0,35	7,51
2:8:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa transparente	4,83	0,58	12,01
2:8:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	2,68	1,28	47,76
2:8:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,23	2,69	63,59
2:8:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,74	10,25	87,31
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase transparente, Fi: fase amarela opaca	3,73	1,38	37,00
3:7:2	Fs: fase opaca, Fi: fase amarela opaca	3,72	1,41	37,90
3:7:3	EL	3,48	0,00	0,00
3:7:4	Amostra espalhada pelo tubo	0,00	0,00	0,00
3:7:5	Fs: transparente, Fm: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,37	3,44	78,72
3:7:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa transparente	4,66	0,46	9,87
3:7:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	2,77	1,40	50,54
3:7:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,28	2,90	67,76
3:7:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,67	10,34	88,60
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase transparente, Fi: fase oleosa amarela transparente.	3,56	1,66	46,63
4:6:2	Fs: EL, Fm: fase aquosa opaca, Fi: fase oleosa amarela opaca.	3,30	1,65	50,00

4:6:3	Fs: fase transparente, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,07	1,37	44,63
4:6:4	Fs: transparente, Fi:EL	4,17	3,7	88,73
4:6:5	Fs: anel transparente, Fi: EL	4,19	3,72	88,78
4:6:6	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,81	0,41	8,52
4:6:7	Fs: EL, Fi: fase transparente amarela	2,58	1,28	49,61
4:6:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	4,11	2,97	72,26
4:6:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	12,11	10,57	87,28
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
5:5:1	Fs:Fase transparente Fi: fase amarela transparente	3,58	2,06	57,54
5:5:2	Fs:Fase transparente Fi: fase amarela transparente	3,63	2,17	59,78
5:5:3	Fs:Fase transparente Fi: fase amarela transparente	3,37	2,2	65,28
5:5:4	Fs:EL, Fi: opaca amarela	3,18	0,84	26,42
5:5:5	Fs:EL, Fi: opaca amarela	4,39	0,67	15,26
5:5:6	EL	4,02	0,00	0,00
5:5:7	Fs: EL, Fi: fase transparente amarela	2,66	1,37	51,50
5:5:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,16	3,22	77,40
5:5:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,18	10,23	91,50
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,33	2,37	71,17
6:4:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,70	2,65	71,62
6:4:3	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,77	2,73	72,41
6:4:4	Fs:EL, Fi: amarela transparente	3,03	1,88	62,05
6:4:5	Fs: EL, Fi: fase opaca amarela	2,92	1,72	58,90
6:4:6	Fs: EL, Fi: fase opaca	3,63	0,30	8,26
6:4:7	Fs: EL, Fi: fase transparente amarela	2,79	1,18	42,29
6:4:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,18	3,09	73,92
6:4:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,56	10,6	91,70
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
7:3:1	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,42	2,81	82,16
7:3:2	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,69	3,09	83,74
7:3:3	Fs: Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,77	3,24	85,94
7:3:4	Fs: EL, Fi: fase opaca amarela	3,49	2,93	83,95
7:3:5	Fs: EL, Fi: fase opaca amarela	2,93	2,31	78,84
7:3:6	Fs: EL, Fi: fase opaca amarela	2,00	1,45	72,50
7:3:7	Fs: EL, Fi: fase transparente amarela	2,58	1,15	44,57
7:3:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,22	3,27	77,49
7:3:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	11,78	10,85	92,11
Proporção	Características	H_0	H	IC (%)
8:2:1	ME	3,39	0,00	0,00
8:2:2	ME	3,53	0,00	0,00
8:2:3	ME	3,80	0,00	0,00
8:2:4	ME	3,44	0,00	0,00
8:2:5	Anel EL, Fi: fase opaca	4,15	3,88	93,49
8:2:6	Fs: EL, Fi: fase opaca	3,39	0,00	0,00
8:2:7	Fs: EL, Fi: fase transparente amarela	2,64	0,59	22,35
8:2:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	4,06	3,29	81,03

8:2:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada.	11,58	10,93	94,39
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
9:1:1	ME	3,44	0,00	0,00
9:1:2	ME	3,11	0,00	0,00
9:1:3	ME	3,84	0,00	0,00
9:1:4	Opaca	4,01	0,00	0,00
9:1:5	Opaca	3,67	0,00	0,00
9:1:6	Opaca	3,84	0,00	0,00
9:1:7	EL	1,51	0,00	0,00
9:1:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa opaca	2,27	1,87	82,38
9:1:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,91	5,71	96,62

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 9 para 80%.

Tabela N. Características físicas do diagrama de fases parcial de Tween 80:Span 80:PG:OS:Água. Sistema com sal. **EL:** Emulsão Leitosa. **Fs:** Fase Superior. **Fm:** Fase meia. **Fi:** Fase inferior. **R:** Resíduo.

Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
1:9:1	Fase transparente com partículas gel	2,77	0,00	0,00
1:9:2	Fs: opaca, Fi: EL	3,82	1,19	31,15
1:9:3	Fs: amarela, Fm: EL, Fi: transparente	4,10	1,89	46,10
1:9:4	Fs: amarela, Fm: EL, Fi: transparente	4,34	3,03	69,82
1:9:5	Fs: EL, Fi: fase transparente	4,52	1,03	22,79
1:9:6	Fs: EL, Fi: fase transparente	4,07	1,18	28,99
1:9:7	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	6,53	3,05	46,71
1:9:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,21	3,47	66,60
1:9:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,34	6,32	86,10
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
2:8:1	Fs: fase transparente, Fi: opaca amarela	3,70	1,04	28,11
2:8:2	Fase gel	3,65	0,00	0,00
2:8:3	Mistura gel -óleo	3,40	0,00	0,00
2:8:4	EL	3,61	0,00	0,00
2:8:5	Fs: EL, Fi: fase transparente	3,88	0,43	11,08
2:8:6	Fs: EL, Fi: fase transparente	4,86	0,71	14,61
2:8:7	Fs: EL, Fi: fase transparente	6,33	3,14	49,61
2:8:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,07	3,48	68,64
2:8:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,67	6,66	86,83
Proporção	Características	H ₀	H	IC (%)
3:7:1	Fs: fase transparente, Fi: fase amarela transparente	3,61	1,34	37,12
3:7:2	Fs: fase transparente, Fm:gel, Fi: fase amarela transparente	3,79	2,08	54,88
3:7:3	Fs: transparente, Fi:EL	3,82	2,95	77,23
3:7:4	Fs: transparente, Fi:EL	2,94	1,58	53,74
3:7:5	EL	3,94	0,00	0,00
3:7:6	Fs: EL, Fi: fase opaca	4,73	0,42	8,88

3:7:7	Fs: EL, Fi: fase transparente	6,30	3,31	52,54
3:7:8	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	5,15	3,67	71,26
3:7:9	Fs: EL, Fi: fase aquosa esbranquiçada	7,52	6,69	88,96
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
4:6:1	Fs: fase transparente, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,60	1,69	46,94
4:6:2	Fs: fase transparente, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,70	1,88	50,81
4:6:3	Fs: fase transparente, Fi: fase oleosa amarela transparente	3,93	2,00	50,89
4:6:4	Fs: EL, Fi: opaca	3,42	1,62	47,37
4:6:5	Fs: opaca, Fi: EL	3,47	2,18	62,82
4:6:6	Fs: anel de óleo, Fi: EL	4,67	4,38	93,79
4:6:7	Fs: EL, Fi: transparente	5,31	3,14	59,13
4:6:8	Fs: EL, Fi: aquosa esbranquiçada	5,00	3,75	75,00
4:6:9	Fs: EL, Fi: aquosa esbranquiçada	6,28	5,52	87,90
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
5:5:1	Fs: Fase transparente Fi: fase amarela transparente	3,58	2,06	57,54
5:5:2	Fs: Fase transparente Fi: fase amarela transparente	3,63	2,17	59,78
5:5:3	Fs: Fase transparente, Fm:gel, Fi: fase amarela transparente	3,84	2,08	54,17
5:5:4	Fs: Fase transparente, Fm:gel, Fi: fase amarela transparente	4,00	1,29	32,25
5:5:5	Fs: transparente, Fi: EL	4,60	4,04	87,83
5:5:6	Fs: EL,Fi:transparente	3,50	0,85	24,29
5:5:7	Fs: EL,Fi:transparente	5,49	3,30	60,11
5:5:8	Fs: EL,Fi:transparente	5,80	4,75	81,90
5:5:9	Fs: EL,Fi:aquosa esbranquiçada	7,18	6,74	93,87
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
6:4:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,48	2,50	71,84
6:4:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,63	2,73	75,21
6:4:3	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,75	2,86	76,27
6:4:4	Fs:gel, Fi: opaca	4,04	2,74	67,82
6:4:5	Fs:gel, Fi: amarela transparente	3,87	2,36	60,98
6:4:6	Fs: EL, Fi: fase opaca	4,39	1,17	26,65
6:4:7	Fs: EL,Fi: transparente	6,24	4,24	67,95
6:4:8	Fs: EL,Fi:aquosa transparente	5,14	4,01	78,02
6:4:9	Fs: EL,Fi: aquosa esbranquiçada	6,24	5,72	91,67
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
7:3:1	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,45	3,04	88,12
7:3:2	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,65	3,23	88,49
7:3:3	Fs:Fase oleosa amarela e transparente, Fi: fase amarela transparente	3,74	3,4	90,91
7:3:4	Fs: Fase oleosa transparente, Fi: fase amarela transparente	4,04	3,54	87,62
7:3:5	Fs: mistura oleosa, Fi: amarela transparente	4,13	3,46	83,78
7:3:6	Fs: amarela transparente, Fm: gel,Fi:opaca	4,43	3,69	83,30
7:3:7	Fs: EL,Fi: transparente	5,07	3,89	76,73

7:3:8	Fs: EL,Fi: transparente	4,9	3,69	75,31
7:3:9	Fs: EL,Fi: aquosa esbranquiçada	7,21	6,63	91,96
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
8:2:1	ME	9,42	0,00	0,00
8:2:2	ME	10,15	0,00	0,00
8:2:3	ME	10,44	0,00	0,00
8:2:4	Opaca	10,56	0,00	0,00
8:2:5	Opaca	4,10	0,00	0,00
8:2:6	Opaca	4,50	0,00	0,00
8:2:7	Fs: EL, Fi: aquosa opaca	6,09	5,57	91,46
8:2:8	Fs: EL, Fi: aquosa opaca	5,22	4,24	81,2
8:2:9	Fs: EL, Fi: aquosa opaca	7,32	6,55	89,48
Proporção	Características	H₀	H	IC (%)
9:1:1	ME	9,4	0,00	0,00
9:1:2	ME	9,86	0,00	0,00
9:1:3	Opaca	10,35	0,00	0,00
9:1:4	Opaca	10,65	0,00	0,00
9:1:5	Opaca	3,89	0,00	0,00
9:1:6	Fs: opaca, Fi: transparente	4,17	0,00	0,00
9:1:7	Opaca	3,73	1,99	53,35
9:1:8	Opaca	6,04	0,00	0,00
9:1:9	Fs:EL, Fi: aquosa opaca	5,06	3,82	75,49

*De acordo com a codificação o primeiro número corresponde a proporção de surfactante:co-surfactante, segundo número ao óleo e o terceiro número ao aumento do teor de água, assim 1 corresponde para 5% e 9 para 80%.

TERMO DE REPRODUÇÃO XEROGRÁFICA

Autorizo a reprodução xerográfica do presente Trabalho de Conclusão, na íntegra ou em partes, para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 31, 03, 2017

Deiana Camo Higueras
Assinatura do autor